

ВАСКУЛОГЕННАЯ МИМИКРИЯ ПРИ МЕЛАНОМЕ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Д.Л. Ротин¹, К.С. Титов², А.М. Казаков³

¹Государственная Израильская больница «ШИБА» (Тель ха-Шомер); Израиль, 52621 Рамат-Ган, Дорога ШИБА, 2;

²ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова» Департамента здравоохранения г. Москвы;
Россия, 111123 Москва, ш. Энтузиастов, 86;

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24

Контакты: Алексей Михайлович Казаков hordavii@yandex.ru

Концепция васкулогенной мимикрии (ВМ) была введена для описания уникальной способности высокоагрессивных опухолевых клеток формировать капиллярно-подобные структуры и богатую матрицами структурированную сеть в трехмерной культуре, которая имитирует эмбриональную васкулогенную сеть. Сообщалось о ВМ в нескольких агрессивных опухолях, включая рак яичников, молочной железы, печени, легких, саркому, глиобластому. Следует отметить, что ВМ в меланоцитарных опухолях наиболее распространена и является наиболее изученной. Хотя большое внимание уделялось факторам, которые стимулируют или подавляют образование сосудистых каналов опухолевыми клетками, молекулярные механизмы, лежащие в основе этого явления, остаются загадочными. Этот обзор будет посвящен молекулярным детерминантам и ключевым сигнальным путям, участвующим в опухолевой ВМ. Исследование лекарственных препаратов, нацеленных на молекулярные сигнальные пути в ВМ, является областью проблем и надежд. Исследования на ВМ увеличат наши знания о молекулярных событиях, дающих агрессивным опухолевым клеткам пластичность, что приводит к их способности имитировать сосудистую систему. На сегодняшний день существует мало функциональных данных, которые показывают, как каналы, связанные с опухолевыми клетками, способствуют общей выживаемости опухоли. Однако даже среди исследователей, которые поставили под сомнение концепцию ВМ как важнейшей системы кровообращения, в целом существует консенсус о том, что прогностическое значение PAS-положительных паттернов важно.

Ключевые слова: васкулогенная мимикрия, меланома, прогностическая роль

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-1-16-24

VASCULOGENIC MIMICRY IN MELANOMA: MOLECULAR MECHANISMS AND CLINICAL SIGNIFICANCE

D.L. Rotin¹, K.S. Titov², A.M. Kazakov³

¹Sheba State Hospital of Israel (Tel HaShomer); 2 Derech Sheba, Ramat Gan 52621, Israel;

²A.S. Loginov Moscow Clinical and Scientific Center, Moscow Healthcare Department;
86 Shosse Entuziastov, Moscow 111123, Russia;

³N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;
24 Kashyrskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

The concept of vasculogenic mimicry (VM) was introduced to describe the unique ability of highly aggressive tumor cells to form capillary-like structures and matrix-rich patterned network in three-dimensional culture that mimic embryonic vasculogenic network. VM has been reported in several aggressive tumors including ovaries, breast, liver, lung cancer, sarcoma, glioblastoma. It is worth to note, that VM in melanocyte-originated tumors is the most studied. Although much attention has been focused on factors that stimulate or suppress vascular channel formation by tumor cells, the molecular mechanisms underlying this phenomenon remain enigmatic. This review will focus on molecular determinants and key signaling pathways involved in tumor VM. The exploration of drugs targeted at molecular signaling pathways in VM is a field of challenges and hopes. The research on VM will increase our knowledge of the molecular events causing aggressive tumor cells to gain plasticity resulting in their ability to mimic vasculature. To date, little functional data exist that show how tumor cell-lined channels contribute to the overall survival of the tumor. However, even among researches who have questioned the concept of VM as a crucial circulatory system, there is generally a consensus that the prognostic significance of PAS-positive patterns is valid.

Key words: vasculogenic mimicry, melanoma, prognostic

Васкулогенная мимикрия и другие типы альтернативного неоангиогенеза

Феномен васкулогенной мимикрии (ВМ) заключается в формировании капиллярно-подобных структур в некоторых опухолях, в том числе в меланоме, и является одним из факторов, делающих опухоль более агрессивной [1–3]. Ангиогенез (от греч. «ангио» — сосуд, «генезис» — рождение) — физиологический процесс формирования новых сосудов на основе эндотелиальных клеток посткапиллярных венул. Васкулогенез — процесс формирования *in situ* новых микрососудов из ангиобластов, клеток-предшественниц эндотелиальных клеток. Образование сосудов путем ангиогенеза — важный жизненный компонент многих физиологических и некоторых патологических процессов [4]. Неоваскуляризация необходима для роста, выживания и метастазирования злокачественных солидных опухолей. Работы по изучению опухолевого ангиогенеза посвящены преимущественно злокачественным новообразованиям, хотя имеются отдельные исследования и в доброкачественных опухолях [5]. Следует понимать, что некоторые из этих «доброкачественных» вариантов могут представлять собой «предзлокачественные» процессы, например аденоматозный колоректальный полип. Для роста доброкачественных пролиферативных процессов также требуется наличие новообразованных сосудов. Долгие годы существовало мнение, что единственным механизмом неоваскуляризации является развитие сосудов из прорастающих эндотелиоцитов. Данный процесс служит главным ангиогенным механизмом при нормальном росте и развитии, а также при заживлении ран и ожогов. На сегодняшний день выявлено 5 моделей опухолевого неоангиогенеза:

- 1) прямое прорастание эндотелия;
- 2) «сосудистая непроходимость» (сосудистое расщепление);
- 3) вариант с предсуществующей васкуляризацией;
- 4) постнатальный васкулогенез из предшественников эндотелиоцитов;
- 5) ВМ [6].

Для удобства термин «ангиогенез» используется для обозначения всех вышеперечисленных типов образования кровеносных сосудов в опухоли. Тем не менее минимум 2 из этих 5 типов в действительности представляют собой васкулогенез.

Васкулогенная мимикрия. Определение

ВМ — формирование васкулярных каналов *de novo*, осуществляется высокоагрессивными или метастатическими опухолевыми клетками. Строго говоря, ВМ не считается «васкулогенным процессом», ведущим к формированию *de novo* кровеносных сосудов, высланных эндотелием. Впервые данный феномен

был описан в 1999 г. А. J. Maniotis и соавт. Этими же авторами был предложен и термин «ВМ» для сформированных *de novo* сосудистых структур, отличных от истинного васкулогенеза [7]. При ВМ на гистологических срезах первичной и метастатической увеальной меланомы человека наблюдались солидные и полые ШИК (ШИК-реакция, выявление в тканях гликопротеидов, мукополисахаридов, гликолипидов) — позитивные элементы микроваскулярной (микроциркуляторной) сети, соединенные между собой петлями внеклеточного матрикса [7]. Отмечено, что до 45 % кровоснабжения увеальных меланом осуществляется через каналы ВМ. С использованием световой, электронной микроскопии и иммуногистохимии (меланоцитарные и эндотелиальные маркеры) обнаружено, что похожие на капилляры структуры (сети ВМ) состоят из внеклеточного матрикса, а снаружи высланы клетками меланомы. В то же время эндотелиальные клетки отсутствуют в сети ВМ, хотя в просветах полостей обнаруживаются эритроциты. Внутренний слой микроваскулярных структур, высланных снаружи клетками меланомы, состоит из белков внеклеточного матрикса, как то: ламинин, коллаген IV и VI типов, протеогликан гепарин-сульфат. Клетки агрессивной увеальной и кожной меланомы способны воспроизвести солидные и полые матриксные каналы *in vitro* при отсутствии эндотелиальных клеток, фибробластов или растворимых факторов роста в 3-мерных культурах, содержащих Matrigel или растворимый коллаген I типа [7–10].

«Золотым стандартом» для характеристики и изучения клеток ВМ стала гистохимическая окраска ШИК, а также отсутствие экспрессии CD31 и CD34 по данным иммуногистохимии. CD31 — молекула адгезии эндотелиоцитов и тромбоцитов (PECAM1). Каналы ВМ позитивны по окраске ШИК, но негативны для CD31 (и CD34). Сеть ВМ определяется примерно в 34 % случаев первичных увеальной и кожной меланом [7, 11]. Можно выделить 4 главных характеристики сети при ВМ:

- 1) сосудистая сеть, высланная опухолевыми клетками;
- 2) экспрессия примитивного фенотипа опухолевых клеток с преобладанием маркеров эндотелиальных и стволовых клеток;
- 3) функциональная связь ВМ-сети с сосудами, высланными эндотелием;
- 4) существование противотромботических агентов, которые содействуют кровотоку сквозь данную сеть, делая ее функциональной и важной для снабжения опухоли кислородом и другими питательными веществами.

На сегодняшний день ВМ обнаружена и изучена в целом ряде различных злокачественных опухолей, но меланома (увеальная и кожная) — преобладающий

тип опухоли в большинстве работ. В связи с этим мы приводим обзор исследований ВМ в меланоме и доброкачественных меланоцитарных опухолях.

Функциональная важность васкулогенной мимикрии

Ведутся дискуссии о том, является ли сеть при ВМ функционирующей или представляет собой артефакт из опухолевых клеток, помещенных рядом с кровеносными сосудами, или же это вообще процесс замещения эндотелиоцитов опухолевыми клетками, инвазирующими кровеносные сосуды.

В колоректальном раке обнаружены мозаичные сосуды, выстланные 2 типами клеток — эндотелием и опухолевыми. Предполагают, что опухолевые клетки выстилают просвет, наползая и замещая эндотелий, либо эндотелиальные клетки просто теряют способность к экспрессии CD31 [12, 13]. Концепция мозаичных сосудов не противоречит существованию ВМ. Наличие 2 типов сосудов — выстланных эндотелиальными и опухолевыми клетками, возможно, представляет 2 крайности, между которыми данные типы клеток присутствуют в сосудистой выстилке в различных процентных соотношениях. Вероятно, ВМ преобладает в ранней фазе опухоли, сосуды с эндотелием — в период, когда опухоль быстро увеличивается в размерах, а мозаичные сосуды — на промежуточной стадии опухолевого роста. На самой ранней стадии роста опухоли (≤ 2 мм) васкуляризация не нужна, а питательные вещества и кислород проникают в нее из окружающей нормальной ткани путем простой диффузии [14].

Показана возможность переноса жидкости в культурах агрессивной увеальной меланомы *in vivo* [7, 15] и в мышинной модели человеческой меланомы кожи [9, 16] сетью ВМ. Также показано, что ВМ у пациентов с увеальной меланомой способна к переносу и циркуляции индоцианового зеленого *in vivo* [10, 17]. Это доказывает, что ВМ-сеть является функциональной, представляя собой альтернативный путь для питания опухоли. Допплеровское ультразвуковое исследование *in vivo* на мышинной модели человеческой меланомы кожи показывает функциональную связь и перфузию крови между мышинными сосудами с эндотелием и участками ВМ в меланоме человека [18].

Модели исследования васкулогенной мимикрии

Феномен ВМ был впервые обнаружен M.J. Hendrix и соавт., которые внесли большой вклад в изучение сигнальных путей, контролирующих этот процесс. Множество исследований ВМ проведено *in vitro*. В *in vitro* моделях ВМ часто используется культивирование клеток в 3D-культуре на коллагене I типа (в качестве субстрата) [19]. Реже применяется трехмерный гель Matrigel [7]. Самыми частыми клеточными линиями для изучения ВМ являются челове-

ческие линии меланомы кожи C8161 (агрессивная) и C81–61 (низкоагрессивная) и человеческие линии увеальной меланомы MUM-2B, C918 (обе агрессивные) и MUM-2C (низкоагрессивная). Также применяются экспериментальные модели — для исследования ВМ у иммунодефицитных мышей NOD/SCID, иммунокомпетентных мышей C57BL/6 и мышей-альбиносов BALB/c. На этих животных используют обычно алло- и ксенотрансплантаты. Для модели с аллотрансплантатом используют клетки мышинной меланомы B16F10, а для моделей с ксенотрансплантатом — вышеперечисленные клеточные линии меланомы человека [3, 7, 10, 15].

Характеристика клеток васкулогенной мимикрии меланомы

Существуют 2 главные теории онтогенеза сети при ВМ. Первая теория утверждает, что каналы выстланы опухолевыми клетками, подвергшимися дедифференцировке, т.е. клетками примитивного типа, с характеристиками разных типов клеток (эндотелий, опухолевые, стволовые и т.п.). Вторая теория говорит, что формирование сети ВМ происходит из стволовых опухолевых клеток [20–22].

Клетки каналов ВМ при меланоме напоминают недифференцированные примитивные стволовые клетки эмбрионального типа со схожей экспрессией генов и молекулярными механизмами [20]. Характерной чертой в этом случае является экспрессия генов множества клеточных линий (эндотелиальные, эпителиальные и гемопоэтические клетки, а также нейроны и миоциты) [23]. Более того, они экспрессируют некоторые гены эмбриональных стволовых клеток, например NODAL [24, 25]. Клетки меланомы с экспрессией АТФ-связывающего белка ABCB5 предположительно являются «стволовыми клетками меланомы» или «злокачественными иницирующими меланому клетками», они также склонны к формированию ВМ [26, 27]. Суперсемейство ABC состоит из активных мембранных транспортеров, экспрессирующихся на стволовых/примитивных клетках. С ними связана мультилекарственная резистентность. CD133 (human prominin 1), трансмембранный гликопротеин, обнаружен в стволовых клетках вместе с ABCB5 и васкулярным эндотелиальным кадхерином (синонимы: кадхерин-5, CD144) [28]. Клетки увеальной меланомы, способные к формированию каналов ВМ, экспрессируют другой маркер стволовых клеток — CD271 (синонимы: фактор роста нервов (NGFR), p75NTR). Клетки увеальной меланомы, не участвующие в формировании ВМ-каналов, не экспрессируют CD271 [29].

Молекулярный анализ более 30 клеточных линий человеческих меланом кожи выявил, что ряд генов, включенных в ангиогенез/васкулогенез, кодирующих

VE-кадхерин, тирозинкиназу с доменами 1 EGFR и фибронектин-1, и множество эпителий-ассоциированных генов, например рецептор 2 эфрина тип А (EphA2), экспрессируются в клетках агрессивных меланом при сравнении с менее агрессивными клетками [23]. Более того, обнаружено, что гены, связанные с ангиогенезом, EphA и VEGF, имеют уровень экспрессии выше в очагах сети ВМ по сравнению с другими участками культур клеток агрессивной кожной и увеальной меланомы [30].

Молекулярные изменения в васкулогенной мимикрии меланомы и экспериментальные попытки ее ингибирования

EphA2/VE-кадхерин/FAK (фокальная киназа адгезии). Сосудистые сигнальные пути преобладают в образовании ВМ-сети. Среди молекул, вовлеченных в эти пути, — EphA2 и VE-кадхерин, определяющие некоторые свойства ВМ. Рецепторы эфрина представляют собой большое семейство тирозинкиназ — мембранных протеинов, участвующих в эмбриональном васкулогенезе и взрослом ангиогенезе. Клетки агрессивной меланомы экспрессируют различные эфринные рецепторы и лиганды, включая EphA2 и его лиганд — Ephrin-A1 [23, 30, 31]. EphA2 экспрессируется эпителиальными клетками и важен для ангиогенеза взрослых и неоваскуляризации опухоли [32]. Он гиперэкспрессируется и фосфорилируется в агрессивных ВМ-формирующих опухолевых клетках увеальной меланомы *in vitro*, нарушение его регуляции предотвращает образование ВМ [19]. Ингибирование EphA2 в агрессивных клетках меланомы *in vitro* ведет к нарушению их способности формировать ВМ [33].

VE-кадхерин — трансмембранный протеин, молекула адгезии, специфичная для эндотелиоцитов и важная для эмбрионального васкулогенеза. Он гиперэкспрессируется *in vitro* в ВМ-формирующих клетках кожных и увеальных меланом, а его нокаут предотвращает формирование ВМ [34]. Генистеин — растительный эстроген, ингибитор ВМ в клетках увеальной меланомы *in vitro* и в мышинной ксеномодели увеальной меланомы (нарушает регуляцию VE-кадхерина) [35]. Подобно этому, ликорина гидрохлорид, активный компонент традиционной китайской медицины (*Lycoris radiata*), ингибирует формирование ВМ в культурах клеток кожной меланомы человека на примере мышинной ксеномодели, нарушая регуляцию экспрессии VE-кадхерина [36].

Оба фактора — EphA2 и VE-кадхерин — обнаруживаются в межклеточных контактах в культурах кожной и увеальной меланомы человека, а также на срезах ткани увеальной меланомы. Нокаут экспрессии VE-кадхерина ведет к перераспределению EphA2 на мембране и потере EphA2 из межклеточных

контактов с одновременным появлением его в цитоплазме [37]. Напротив, нокаут гена EphA2 не меняет локализации VE-кадхерина.

Действие EphA2 и VE-кадхерина опосредуется цитоплазматическими ферментами — FAK и фосфоинозитид-3-киназой (PI3K). Эти киназы подвергаются фосфорилированию в культурах клеток агрессивных меланом, а в клетках менее агрессивных меланом и нормальных меланоцитах — нет. Фермент FRNK прерывает сигнальный путь FAK, ингибирует развитие ВМ в агрессивной меланоме *in vitro*, нарушая регуляцию экстрацеллюлярных сигнальных киназ 1 и 2 (ERK1/2) и урокиназную активность. При этом FRNK не воздействует на матриксные металлопротеазы (MT1-MMP и MMP2). Прямое ингибирование ERK1/2 приводит к снижению активности MT1-MMP и MMP2, указывая на существование альтернативных сигнальных путей, не зависящих от FAK, например сигнальный путь MAPK/ERK [38, 39]. Этот сигнальный путь связан с действием форсколина — ингибитора ВМ в клетках агрессивных меланом *in vitro* [40]. Форсколин продуцируется растением Indian Coleus и ингибирует ВМ за счет воздействия на PI3K. Также форсколин может активироваться протеином Ерас/Rap1 [40]. Куркумин — природный фенол, ингибирует ВМ в мышинной алломоделе через нарушение регуляции EphA2, PI3K и MMP2 [41].

Внеклеточный матрикс и металлопротеазы. Нарушение регуляции EphA2 и VE-кадхерина изменяет активность металлопротеаз и ведет к расщеплению ламинина с перестройкой специфического опухолевого микроокружения. Ламинины — гликопротеины базальной мембраны.

Компоненты внеклеточного матрикса, связанные с клеточной мембраной через рецепторы интегринов, способны модулировать клеточную адгезию и дифференцировку. Часто наблюдается и обратный эффект. Например, клетки слабоагрессивной меланомы кожи, выращенные на матриксе из коллагена I типа, обработанном агрессивными (формирующими ВМ) клетками, экспрессируют панели генов, характерные для агрессивных клеток [42, 43]. Матриксные металлопротеазы — Zn-зависимые эндопептидазы, участвующие в деградации белков внеклеточного матрикса, и как результат этого вовлеченные во множество других функций: клеточную миграцию, пролиферацию, дифференцировку.

Обнаружено, что содержание MT1-MMP (синоним — MMP14), MMP2 и γ^2 -цепей ламинина 5 повышено в клетках агрессивных кожных и увеальных меланом *in vitro*, и эти протеины локализуются в зонах ВМ, в то время как в клетках слабоагрессивных кожных и увеальных меланом их экспрессия снижена. Ингибирование MT1-MMP, MMP2 или γ^2 -цепей

ламнина 5 препятствует развитию ВМ [42]. Было показано, что ингибирование PI3K ведет к снижению активности MT1-MMP (а также MMP2) и блокирует расщепление γ^2 -цепей ламинина 5, т.е. блокирует становление ВМ в меланоме [44]. Талидомид ингибирует ВМ в мышинной алломодели *in vivo*, нарушая регуляцию MMP2 и VEGF [45]. Доксидиллин также снижает экспрессию MMP2, предотвращая развитие ВМ в мышинной алломодели меланомы [46]. Тетрациклин-3 (синонимы: CMT-3, COL-3) ингибирует экспрессию MMP2 и VE-кадгерина *in vitro* в клетках агрессивной меланомы, блокируя ВМ [47]. Вадимезан (синонимы: DMXAA, AS1404), разрывающая сосуды молекула, ингибирует экспрессию MMP2 в культурах клеток агрессивной меланомы, однако последующее добавление SB203 580 (селективного ингибитора p38 MAPK) восстанавливает ВМ без влияния на экспрессию MMP2 [48].

Эмбриональные молекулы стволовых клеток.

Как отмечалось выше, в опухолевых клетках, участвующих в ВМ, гиперэкспрессированы некоторые маркеры стволовых клеток. Наиважнейшие из этих молекул — Nodal и Notch. Nodal — регулятор стволовых клеток, экспрессируется в эмбриогенезе и принадлежит к семейству трансформирующего фактора роста бета (TGF β). Семейство рецептора Notch также важно для эмбриональных стволовых клеток, в нем выделяют 4 трансмембранных рецептора (Notch1–4) и 5 связанных с мембраной лигандов. Notch4 экспрессируется в эндотелиальных клетках, участвуя в развитии и перестройке сосудов, включая опухолевый ангиогенез. В клетках агрессивной меланомы экспрессируется только Notch4. Нарушение регуляции Notch4 снижает экспрессию Nodal в клеточных линиях агрессивной меланомы и нарушает формирование ВМ в клетках агрессивной меланомы. Добавление экзогенного Nodal к этим клеткам восстанавливает ВМ, а также экспрессию Nodal и VE-кадгерина. Очевидно, Notch4 запускает ВМ и способствует ей через нарушения регуляции экспрессии протеина Nodal [24, 49]. Воздействие на клетки агрессивной меланомы кожи человека антителами к Nodal ведет к снижению способности формировать ВМ [50].

Гипоксия, индуцирующий гипоксию фактор 1 альфа (HIF1 α), реактивные виды кислорода (ROS) и VEGF. Гипоксия тканей играет важную роль в формировании сети ВМ в опухоли. Гипоксия стабилизирует фактор HIF1 α , который активирует экспрессию ряда генов (VEGF и др.), запуская процесс выживания при низком содержании кислорода. Гипоксия индуцирует экспрессию HIF1 α , MMP2 и VEGF, содействуя формированию ВМ *in vivo*. При инокуляции мышинных меланомных клеток в ишемизированные конечности мыши при неишемизированном контроле развиваются меланомы примерно равных разме-

ров в обоих типах конечностей, хотя начальный рост существенно быстрее при ишемии конечностей [51].

Онкоген BCL2 также участвует в индукции ВМ при гипоксии в культурах клеток меланомы [52]. В агрессивной меланоме при гипоксии повышается уровень ROS и HIF1 α , что усиливает способность клеток к формированию сети ВМ, в то время как ингибирование HIF1 α нарушает образование ВМ-сети *in vitro* и *in vivo* в алломодели. Также ингибирование ROS блокирует развитие сети ВМ в мышинной алломодели [53]. Все это частично объясняет низкую эффективность (нередко — метастатический эффект) антиангиогенной терапии, которая индуцирует гипоксию опухоли [54–56]. Антиоксиданты снижают уровень ROS, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, нарушая формирование ВМ в клетках кожной меланомы *in vitro* и в мышинной алломодели [57].

Ингибиторы ангиогенеза — ангикс, TNP-470 и эндостатин — не препятствуют формированию ВМ в клеточных культурах меланомы [58].

Внутриклеточный домен трансмембранного рецептора VEGFR-A — VEGFR1 обладает тирозинкиназной активностью и играет важную роль в физиологическом ангиогенезе. VEGFR1 гиперэкспрессируется в субпопуляции ABCB5-позитивных меланома-иницирующих клеток, связанных с ВМ. Нокдаун VEGFR1 ингибирует ВМ в мышинной ксеномодели [26]. Трансмембранный рецептор VEGFR-C и VEGFR-D VEGFR3 также обладает тирозин-протеинкиназной активностью, играя важную роль в лимфангиогенезе. VEGFR3 участвует в формировании сети ВМ *in vitro* в культуре меланомы кожи [59]. Эндотелиновый рецептор В принимает участие во взаимодействии клеток меланомы и ее стромы, обеспечивая рост опухоли, неоваскуляризацию, лимфангиогенез и метастазирование. Существуют перекрестные связи между эндотелиновым рецептором В и VEGFR3 [59]. Эндотелин-1 в комбинации с VEGFC усиливает развитие сети ВМ по сравнению с их одиночным воздействием [59]. Отметим, что увеальные меланомы метастазируют гематогенным путем, а для диссеминации меланомы кожи важна также лимфатическая система.

Другие молекулы и сигнальные пути трансдукции. Облегчение кровотока для функционирования ВМ-каналов частично достигается нарушением свертывания крови. Регуляция тканевого фактора (TF), ингибиторов 1 и 2 TF-пути (TFPI1 и TFPI2) нарушена в агрессивных кожной и увеальной меланомах *in vitro* по сравнению с менее агрессивными. TF — поверхностный рецептор в каскаде коагуляции (внешний путь коагуляции), кофактор для фактора VIIa. Его активность в клетках меланомы регулируется TFPI1, облегчая циркуляцию жидкости в сети ВМ. Формирование ВМ может идти и альтернативным путем — через TFPI2 (коагуляция-независимый механизм).

Выключение TFPI2 подавляет активность MMP2, полностью блокируя формирование сети BM в агрессивных меланоммах *in vitro* [18].

Дополнительные молекулы включают экстрацеллюлярные секретирующиеся протеины, например пигментный эпителиальный фактор, костный морфогенетический протеин 4, и интрацеллюлярные молекулы, например ингибитор связывания ДНК/дифференцировки протеин 2 и каспаза-3; все они, по современным литературным данным, принимают участие в формировании BM-каналов.

Пигментный эпителиальный фактор — гликопротеин суперсемейства ингибиторов сериновых протеаз. Он связывается с поверхностными рецепторами, его нокдаун в кожной меланоме тормозит BM *in vitro* [60].

Другой внеклеточный белок — BMP4 — запускает образование сети BM. BMP4 — секретирующийся фактор роста суперсемейства TGF β . Он контролирует пролиферацию, дифференцировку, хемотаксис, подвижность и клеточную гибель. Соответственно, он связан с прогрессированием опухоли. Ингибирование BMP4 приводит к нарушению регуляции EphA2 и экспрессии VE-кадгерина — нарушает развитие BM в кожной меланоме *in vitro* [61, 62].

Каспаза-3 — еще один внутриклеточный белок, связанный с построением BM-сети. Каспазы — семейство цистеиновых протеаз, участвующих в апоптозе и ряде других процессов (пролиферация, дифференцировка, миграция). Высокий уровень каспазы-3 определяется в клетках сетей BM меланомы *in situ* по сравнению с другими клетками опухоли. Каспаза-3 способствует развитию BM за счет расщепления про-MMP2 с продукцией MMP2 [63]. Активная каспаза-3 запускает формирование сети BM. Апоптотический индекс всегда выше в агрессивных BM-формирующих меланоммах *in vitro*, чем в слабоагрессивных, не формирующих BM [57]. Блокирование активности каспазы-3 разными ингибиторами блокирует и формирование сети BM [64].

Галектин-3 — β -галактозид-связывающий протеин семейства лектинов, участвующий в прогрессировании опухоли и метастазировании. Нокаут галектина-3 снижает экспрессию VE-кадгерина и фибронектина, блокирует формирование BM в агрессивной меланоме кожи *in vitro* и снижает

экспрессию VE-кадгерина и MMP2 в мышинной ксеномодели [65].

Перспективы терапевтического воздействия на васкулогенную мимикрию

Становление BM — сложный биологический процесс, в котором задействовано несколько сигнальных путей. Тот факт, что BM встречается в различных типах агрессивных опухолей (при раке молочной железы, простаты, яичника, легкого, почки, саркоме мягких тканей), свидетельствует о том, что мы имеем дело с новой характеристикой агрессивной опухоли. Накапливается все больше экспериментальных данных, указывающих на высокую статистическую корреляцию между способностью опухоли к BM и частотой метастазирования. Так, у пациентов с кожной и увеальной меланомой с участками BM прогноз хуже, чем у пациентов без BM в опухоли [9, 11, 66–69]. Возможно, это положение также справедливо и для других злокачественных новообразований [69].

К сожалению, в доброкачественных опухолях ангиогенез недостаточно изучен. Часто в качестве индекса для оценки распространенности ангиогенеза в опухолях используется микрососудистая плотность. Этот показатель выше в меланоме кожи по сравнению с невусами [70], что указывает на меньшую неоваскуляризацию доброкачественных образований. «Псевдоваскулярные пространства», выстланные меланоцитами, отмечены в 3 пигментных невусах [71] и в 3 меланоцитарных [72]. Кроме того, показано, что инъекция анестетика не вызывает развитие сосудистых пространств, что доказывает, что это не артефакт от инъекции [73]. Необходимы дальнейшие исследования невусов, особенно диспластических, чтобы выяснить связь между BM и риском малигнизации [74]. Идентификация BM в опухоли в перспективе поможет контролировать течение болезни в кожной и увеальной меланоммах, а также и в других типах опухолей [75–77].

Очевидно, необходимы дальнейшие исследования BM, ее молекулярных детерминант и сигнальных путей. Обнаружение лекарственных препаратов, эффективно блокирующих BM, позволит обосновать новый подход к лечению агрессивной опухоли, что в итоге должно улучшить эффективность современных методов лечения злокачественных новообразований.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Jain R.K., Carmeliet P. SnpShot: Tumor angiogenesis. *Cell* 2012;149(6):1408–1408.e1. DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.025. PMID: 22682256.
2. Hilen F., Griffioen A.W. Tumour vascularization: sprouting angiogenesis and beyond. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26(3–4):489–502. DOI: 10.1007/s10555-007-9094-7. PMID: 17717633.
3. Seftor R.E., Hess A.R., Seftor E.A. et al. Tumor cell vasculogenic mimicry: from controversy to therapeutic promise. *Am J Pathol* 2012;181(4):1115–25. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.07.013. PMID: 22944600.
4. Kirschmann D.A., Seftor E.A., Hardy K.M. et al. Molecular pathways: vasculogenic mimicry in tumor cells: diagnostic and therapeutic implications. *Clin Cancer Res* 2012;18(10):2726–32. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-3237. PMID: 22474319.
5. Qiao L., Liang N., Zhang J. et al. Advanced research on vasculogenic mimicry in cancer. *J Cell Mol Med* 2015;19(2):315–26. DOI: 10.1111/jcmm.12496. PMID: 25598425.
6. Chung H.J., Mahalingam M. Angiogenesis, vasculogenic mimicry and vascular invasion in cutaneous malignant melanoma – implications for therapeutic strategies and targeted therapies. *Expert Rev Anticancer Ther* 2014;14(5):621–39. DOI: 10.1586/14737140.2014.883281. PMID: 24506089.
7. Maniotis A.J., Folberg R., Hess A. et al. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry. *Am J Pathol* 1999;155(3):739–52. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65173-5. PMID: 10487832.
8. Folberg R., Hendrix M.J., Maniotis A.J. Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am J Pathol* 2000;156(2):361–81. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64739-6. PMID: 10666364.
9. Clarijs R., van Dijk M., Ruiter D.J., de Waal R.M. Functional and morphologic analysis of the fluid-conducting meshwork in xenografted cutaneous and primary uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;46(9):3013–20. DOI: 10.1167/iiov.04-0876. PMID: 16123395.
10. Frenkel S., Barzel I., Levy J. et al. Demonstrating circulation in vasculogenic mimicry patterns of uveal melanoma by confocal indocyanine green angiography. *Eye (Lond)* 2008;22(7):948–52. DOI: 10.1038/sj.eye.6702783. PMID: 17363922.
11. van Beurden A., Schmitz R.F., van Dijk C.M., Baeten C.I. Periodic acid Schiff loops and blood lakes associated with metastasis in cutaneous melanoma. *Melanoma Res* 2012;22(6):424–9. DOI: 10.1097/CMR.0b013e328358b355. PMID: 23010821.
12. Chang Y.S., di Tomaso E., McDonald D.M. et al. Mosaic blood vessels in tumors: frequency of cancer cells in contact with flowing blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(26):14608–13. DOI: 10.1073/pnas.97.26.14608. PMID: 11121063.
13. di Tomaso E., Capen D., Haskell A. et al. Mosaic tumor vessels: cellular basis and ultrastructure of focal regions lacking endothelial cell markers. *Cancer Res* 2005;65(13):5740–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-4552. PMID: 15994949.
14. Chen L., Zhang S., Li X. et al. A pilot study of vasculogenic mimicry immunohistochemical expression in intraocular melanoma model. *Oncol Rep* 2009;21(4):989–99. PMID: 19287998.
15. Maniotis A.J., Chen X., Garcia C. et al. Control of melanoma morphogenesis, endothelial survival, and perfusion by extracellular matrix. *Lab Invest* 2012;82(8):1031–43. PMID: 12177242.
16. Clarijs R., Otte-Holler I., Ruiter D.J., de Waal R.M. Presence of a fluid-conducting meshwork in xenografted cutaneous and primary human uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(4):912–8. PMID: 11923228.
17. Mueller A.J., Bartsch D.U., Folberg R. et al. Imaging the microvasculature of choroidal melanomas with confocal indocyanine green scanning laser ophthalmoscopy. *Arch Ophthalmol* 1998;116(1):31–9. PMID: 9445206.
18. Ruf W., Seftor E.A., Petrovan R.J. et al. Differential role of tissue factor pathway inhibitors 1 and 2 in melanoma vasculogenic mimicry. *Cancer Res* 2003;63(17):5381–9. PMID: 14500372.
19. Hess A.R., Seftor E.A., Gardner L.M. et al. Molecular regulation of tumor cell vasculogenic mimicry by tyrosine phosphorylation: role of epithelial cell kinase (Eck/EphA2). *Cancer Res* 2001;61(8):3250–5. PMID: 11309274.
20. Girouard S.D., Murphy G.F. Melanoma stem cells: not rare, but well done. *Lab Invest* 2011;91(5):647–64. DOI: 10.1038/labinvest.2011.50. PMID: 21445060.
21. Sajithlal G.B., McGuire T.F., Lu J. et al. Endothelial-like cells derived directly from human tumor xenografts. *Int J Cancer* 2010;127(10):2268–78. DOI: 10.1002/ijc.25251. PMID: 20162569.
22. Dunleavy J.M., Dudley A.C. Vascular mimicry: concepts and implications for anti-angiogenic therapy. *Curr Angiogenesis* 2012;1(2):133–8. DOI: 10.2174/2211552811201020133. PMID: 24729954.
23. Seftor E.A., Meltzer P.S., Schattman G.C. et al. Expression of multiple molecular phenotypes by aggressive melanoma tumor cells: role in vasculogenic mimicry. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002;44(1):17–27. PMID: 12398997.
24. McAllister J.C., Zhan Q., Weishaupt C. et al. The embryonic morphogen, Nodal, is associated with channel-like structures in human malignant melanoma xenografts. *J Cutan Pathol* 2010;37(Suppl 1):19–25. DOI: 10.1111/j.1600-0560.2010.01503.x. PMID: 20482672.
25. Khalkhali-Ellis Z., Kirschmann D.A., Seftor E.A. et al. Divergence(s) in Nodal signaling between aggressive melanoma and embryonic stem cells. *Int J Cancer* 2015;136(5):E242–51. DOI: 10.1002/ijc.29198. PMID: 25204799.
26. Frank N.Y., Schatton T., Kim S. et al. VEGFR-1 expressed by malignant melanoma-initiating cells is required for tumor growth. *Cancer Res* 2011;71(4):1474–85. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1660. PMID: 21212411.
27. Murphy G.F., Wilson B.J., Girouard S.D. et al. Stem cells and targeted approaches to melanoma cure. *Mol Aspects Med* 2014;39:33–49. DOI: 10.1016/j.mam.2013.10.003. PMID: 24145241.
28. Lai C.Y., Schwartz B.E., Hsu M.Y. CD133+ melanoma subpopulations contribute to perivascular niche morphogenesis and tumorigenicity through vasculogenic mimicry. *Cancer Res* 2012;72(19):5111–8. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0624. PMID: 22865455.
29. Valyi-Nagy K., Kormos B., Ali M. et al. Stem cell marker CD271 is expressed by vasculogenic mimicry-forming uveal melanoma cells in three-dimensional cultures. *Mol Vis* 2012;18:588–92. PMID: 22419851.
30. Demou Z.N., Hendrix M.J. Microgenomics profile the endogenous

- angiogenic phenotype in subpopulations of aggressive melanoma. *J Cell Biochem* 2008;105(2):562–73. DOI: 10.1002/jcb.21855. PMID: 18655191.
31. Bittner M., Meltzer P., Chen Y. et al. Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. *Nature* 2000;406(6795): 536–40. DOI: 10.1038/35020115. PMID: 10952317.
 32. Hess A.R., Margaryan N.V., Seftor E.A., Hendrix M.J. Deciphering the signaling events that promote melanoma tumor cell vasculogenic mimicry and their link to embryonic vasculogenesis: role of the Eph receptors. *Dev Dyn* 2007;236(12):3283–96. DOI: 10.1002/dvdy.21190. PMID: 17557303.
 33. Margaryan N.V., Strizzi L., Abbott D.E. et al. EphA2 as a promoter of melanoma tumorigenicity. *Cancer Biol Ther* 2009;8(3):279–88. PMID: 19223760.
 34. Hendrix M.J., Seftor E.A., Meltzer P.S. et al. Expression and functional significance of VE-cadherin in aggressive human melanoma cells: role in vasculogenic mimicry. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(14):8018–23. DOI: 10.1073/pnas.131209798. PMID: 11416160.
 35. Cong R., Sun Q., Yang L. et al. Effect of Genistein on vasculogenic mimicry formation by human uveal melanoma cells. *J Exp Clin Cancer Res* 2009;28:124. DOI: 10.1186/1756-9966-28-124. PMID: 19735546.
 36. Liu R., Cao Z., Tu J. et al. Lycorine hydrochloride inhibits metastatic melanoma cell-dominant vasculogenic mimicry. *Pigment Cell Melanoma Res* 2012;25(5):630–8. DOI: 10.1111/j.1755-148X.2012.01036.x. PMID: 22781316.
 37. Hess A.R., Seftor E.A., Gruman L.M. et al. VE-cadherin regulates EphA2 in aggressive melanoma cells through a novel signaling pathway: implications. *Cancer Biol Ther* 2006;5(2):228–33. PMID: 16481735.
 38. Hess A.R., Postovit L.M., Margaryan N.V. et al. Focal adhesion kinase promotes the aggressive melanoma phenotype. *Cancer Res* 2005;65(21):9851–60. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2172. PMID: 16267008.
 39. Hess A.R., Hendrix M.J. Focal adhesion kinase signaling and the aggressive melanoma phenotype. *Cell Cycle* 2006;5(5):478–80. DOI: 10.4161/cc.5.5.2518. PMID: 16552181.
 40. Lissitzky J.C., Parriaux D., Ristorcelli E. et al. Cyclic AMP signaling as a mediator of vasculogenic mimicry in aggressive human melanoma cells in vitro. *Cancer Res* 2009;69(3):802–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2391. PMID: 19176384.
 41. Chen L.X., He Y.J., Zhao S.Z. et al. Inhibition of tumor growth and vasculogenic mimicry by curcumin through down-regulation of the EphA2/PI3K/MMP pathway in a murine choroidal melanoma model. *Cancer Biol Ther* 2011;11(2):229–35. PMID: 21084858.
 42. Seftor R.E., Seftor E.A., Koshikawa N. et al. Cooperative interactions of laminin 5 γ 2 chain, matrix metalloproteinase-2, and membrane type-1-matrix/metalloproteinase are required for mimicry of embryonic vasculogenesis by aggressive melanoma. *Cancer Res* 2011;71(17):6322–7. PMID: 21522618.
 43. Seftor E.A., Meltzer P.S., Kirschmann D.A. et al. The epigenetic reprogramming of poorly aggressive melanoma cells by a metastatic microenvironment. *J Cell Mol Med* 2006;10(1):174–96. PMID: 16563230.
 44. Hess A.R., Seftor E.A., Seftor R.E., Hendrix M.J. Phosphoinositide 3-kinase regulates membrane type 1-matrix metalloproteinase (MMP) and MMP-2 activity during melanoma cell vasculogenic mimicry. *Cancer Res* 2003;63(16):4757–62. PMID: 12941789.
 45. Zhang S., Li M., Gu Y. et al. Thalidomide influences growth and vasculogenic mimicry channel formation in melanoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;27:60. DOI: 10.1186/1756-9966-27-60. PMID: 18983651.
 46. Zhang S., Zhang D., Sun B. Vasculogenic mimicry: current status and future prospects. *Cancer Lett* 2007;254(2):157–64. DOI: 10.1016/j.canlet.2006.12.036. PMID: 17306454.
 47. Seftor R.E., Seftor E.A., Kirschman D.A., Hendrix M.J. Targeting the tumor microenvironment with chemically modified tetracyclines: inhibition of laminin 5 γ 2 chain promigratory fragments and vasculogenic mimicry. *Mol Cancer Ther* 2002;1(13): 1173–9. PMID: 12479698.
 48. Zhao L., Marshall E.S., Kelland L.R., Baguley B.C. Evidence for the involvement of p38 MAP kinase in the action of the vascular disrupting agent 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid (DMXAA). *Invest New Drugs* 2007;25(3):271–6. DOI: 10.1007/s10637-006-9029-0. PMID: 17203401.
 49. Hardy K.M., Kirschmann D.A., Seftor E.A. et al. Regulation of the embryonic morphogen Nodal by Notch4 facilitates manifestation of the aggressive melanoma phenotype. *Cancer Res* 2010;70(24):10340–50. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0705. PMID: 21159651.
 50. Strizzi L., Postovit L.M., Margaryan N.V. et al. Nodal as a biomarker for melanoma progression and a new therapeutic target for clinical intervention. *Expert Rev Dermatol* 2009;4(1):67–78. DOI: 10.1586/17469872.4.1.67. PMID: 19885369.
 51. Sun B., Zhang D., Zhang S. et al. Hypoxia influences vasculogenic mimicry channel formation and tumor invasion-related protein expression in melanoma. *Cancer Lett* 2007;249(2):188–97. DOI: 10.1016/j.canlet.2006.08.016. PMID: 16997457.
 52. Zhao N., Sun B.C., Sun T. et al. Hypoxia-induced vasculogenic mimicry formation via VE-cadherin regulation by Bcl-2. *Med Oncol* 2012;29(5):3599–607. DOI: 10.1007/s12032-012-0245-5. PMID: 22562824.
 53. Comito G., Calvani M., Giannoni E. et al. HIF-1 α stabilization by mitochondrial ROS promotes MET-dependent invasive growth and vasculogenic mimicry in melanoma cells. *Free Radic Biol Med* 2011;51(4):893–904. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.05.042. PMID: 21703345.
 54. Wu S., Singh R.K. Resistance to chemotherapy and molecularly targeted therapies: rationale for combination therapy in malignant melanoma. *Curr Mol Med* 2011;11(7):553–63. PMID: 21707515.
 55. Benazzi C., Al-Dissi A., Chau C.H. et al. Angiogenesis in spontaneous tumors and implications for comparative tumor biology. *Scientific World Journal* 2014;2014:919570. DOI: 10.1155/2014/919570. PMID: 24563633.
 56. Schneck C.I., Yang M.H., Ghosh S.K., Hsu M.Y. Induction of vasculogenic mimicry overrides VEGF-A silencing and enriches stem-like cancer cells in melanoma. *Cancer Res* 2015;75(8):1682–90. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1855. PMID: 25769726.
 57. Vartanian A.A., Burova O.S., Stepanova E.V. et al. Melanoma vasculogenic mimicry is strongly related to reactive oxygen species level. *Melanoma Res* 2007;17(6):370–9. DOI: 10.1097/CMR.0b013e3282f1d2ec. PMID: 17992120.
 58. van der Schaft D.W., Seftor R.E., Seftor E.A. et al. Effects of angiogenesis inhibitors on vascular network formation

- by human endothelial and melanoma cells. *J Natl Cancer Inst* 2004;96(19):1473–7. DOI: 10.1093/jnci/djh267. PMID: 15467037.
59. Spinella F., Caprara V., Di Castro V. et al. Endothelin-1 induces the transactivation of vascular endothelial growth factor receptor-3 and modulates cell migration and vasculogenic mimicry in melanoma cells. *J Mol Med (Berl)* 2013;91(3):395–405. DOI: 10.1007/s00109-012-0956-2. PMID: 22965194.
 60. Orgaz J.L., Ladhani O., Hoek K.S. et al. Loss of pigment epithelium derived factor enables migration, invasion and metastatic spread of human melanoma. *Oncogene* 2008;28(47):4147–61. DOI: 10.1038/ncr.2009.284. PMID: 19767774.
 61. Rothhammer T., Bataille F., Spruss T. et al. Functional implication of BMP4 expression on angiogenesis in malignant melanoma. *Oncogene* 2007;26(28):4158–70. DOI: 10.1038/sj.onc.1210182. PMID: 17173062.
 62. Su F., Li B., Wang J. et al. Molecular regulation of vasculogenic mimicry in human uveal melanoma cells: role of helix-loop-helix ID2. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247(3):411–9. DOI: 10.1007/s00417-008-1008-z. PMID: 19043732.
 63. Liu Y.R., Sun B., Zhao X.L. et al. Basal caspase-3 activity promotes migration, invasion, and vasculogenic mimicry formation of melanoma cells. *Melanoma Res* 2013;23(4):243–53. DOI: 10.1097/CMR.0b013e3283625498. PMID: 23695439.
 64. Vartanian A.A., Burova O.S., Stepanova E.V., Baryshnikov A.Y. The involvement of apoptosis in melanoma vasculogenic mimicry. *Melanoma Res* 2007;17(1):1–8. DOI: 10.1097/CMR.0b013e3280112b76. PMID: 17235236.
 65. Mourad-Zeidan A.A., Melnikova V.O., Wang H. et al. Expression profiling of galectin-3-depleted melanoma cells reveals its major role in melanoma cell plasticity and vasculogenic mimicry. *Am J Pathol* 2008;173(6):1839–52. DOI: 10.2353/ajpath.2008.080380. PMID: 18988806.
 66. Makitie T., Summanen P., Tarkkanen A., Kivela T. Microvascular loops and networks as prognostic indicators in choroidal and ciliary body melanomas. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(4):359–67. PMID: 10050870.
 67. Folberg R., Rummelt V., Parys-Van Ginderdeuren R. et al. The prognostic value of tumor blood vessel morphology in primary uveal melanoma. *Ophthalmology* 1993;100(9):1389–98. PMID: 8371929.
 68. Warso M.A., Maniotis A.J., Chen X. et al. Prognostic significance of periodic acid-Schiff-positive patterns in primary cutaneous melanoma. *Clin Cancer Res* 2001;7(3):473–7. PMID: 11297236.
 69. Cao Z., Bao M., Miele L. et al. Tumour vasculogenic mimicry is associated with poor prognosis of human cancer patients: a systemic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2013;49(18):3914–23. DOI: 10.1016/j.ejca.2013.07.148. PMID: 23992642.
 70. Einspahr J.G., Thomas T.L., Saboda K. et al. Expression of vascular endothelial growth factor in early cutaneous melanocytic lesion progression. *Cancer* 2007;110(11):2519–27. DOI: 10.1002/cncr.23076. PMID: 17932890.
 71. Modlin R.L., Gottlieb B., Taylor C., Rea T.H. Identification of cells lining pseudovascular spaces of benign pigmented nevi. *Am J Dermatopathol* 1984;6 Suppl:25–9. PMID: 6084957.
 72. Lee K.H., Han Y.W., Park C.J. Three cases of melanocytic nevi with pseudovascular spaces. *Korean J Dermatol* 2007;45(1):90–3.
 73. Demitsu T., Kakurai M., Yamada T. et al. The vascular space-like structure in melanocytic nevus is not an injection artifact: report of a case and an experimental study. *J Dermatol* 1998;25(3):143–9. PMID: 9575674.
 74. Goldstein A.M., Tucker M.A. Dysplastic nevi and melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(4):528–32. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-12-1346. PMID: 23549396.
 75. Coupland S.E., Lake S.L., Zeschnigk M., Damato B.E. Molecular pathology of uveal melanoma. *Eye* 2013;27(2):230–42. DOI: 10.1038/eye.2012.255. PMID: 23222563.
 76. Chang S.H., Worley L.A., Onken M.D., Harbour J.W. Prognostic biomarkers in uveal melanoma: evidence for a stem cell-like phenotype associated with metastasis. *Melanoma Res* 2008;18(3):191–200. DOI: 10.1097/CMR.0b013e3283005270. PMID: 18477893.
 77. Gould Rothberg B.E., Bracken M.B., Rimm D.L. Tissue biomarkers for prognosis in cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(7):452–74. DOI: 10.1093/jnci/djp038. PMID: 19318635.

ORCID авторов/ORCID of authors

A.M. Казаков/A.M. Kazakov: <https://orcid.org/0000-0002-9534-2729>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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