

# Maligní melanom léčený intenzivní chemoterapií, podobnost histologického obrazu maligního melanomu a nádorů měkkých tkání, kazuistika pacientky

## Malignant Melanoma Treated with Radical Chemotherapy, Resemblance Histology of Melanoma to Soft Tissue Sarcomas, Case Report

Bílek O.<sup>1</sup>, Tuček Š.<sup>1</sup>, Veselý K.<sup>2</sup>, Fabian P.<sup>3</sup>, Robešová B.<sup>4</sup>, Adámková Krákorová D.<sup>1</sup>, Lakomý R.<sup>1</sup>, Svoboda M.<sup>1</sup>, Jurečková A.<sup>1</sup>, Halámková J.<sup>1</sup>, Králová J.<sup>1</sup>, Šikulíncová L.<sup>1</sup>, Podhorec J.<sup>1</sup>, Tomášek J.<sup>1</sup>, Kiss I.<sup>1</sup>, Vyzula R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>2</sup> I. patologicko-anatomický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně

<sup>3</sup> Oddělení klinické a experimentální patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>4</sup> Interní hematologická a onkologická klinika, Centrum molekulární biologie a genové terapie LF MU a FN Brno

### Souhrn

**Východiska:** Maligní melanom je onemocnění považované za vysoce rezistentní k chemoterapii, radioterapii, hormonoterapii a standardně používané imunoterapii (interleukin 2 a interferon alfa). Klíčová je především chirurgická léčba omezená na počáteční stadia onemocnění. Ve světle nynějších pokroků na poli imunoterapie a cílené léčby vyvstává otázka postavení chemoterapie v současné léčbě pokročilých stadií melanomu. **Popis případu:** Předkládáme kazuistiku 44leté pacientky s rozsáhlým tumorem hrudní stěny včetně uzlinového postižení druhostranné axily. Na základě zobrazovacích metod, histologie a imunohistochemie byl hodnocen jako sarkom. Vzhledem k pozitivitě fúzního genu PAX7-FKHR v tumorové tkáni a kostní dřeni byl nález uzavřen jako rhabdomyosarkom. Pacientka podstoupila čtyři cykly chemoterapie ve složení ifosfamid, vinkristin, aktinomycin D a doxorubicin s efektem výrazné parciální regrese, která umožnila radikální chirurgickou resekci tumoru hrudní stěny. Dle histologického vyšetření bylo dosaženo 70% nekrózy tumoru. Následovala disekce axily, kde byly zachyceny dvě lymfatické uzliny infitrované melanomem, s pozitivitou imunohistochemických markerů: S100, HMB-45 a Melan A. Výsledek vedl k reklasifikaci tumoru hrudní stěny na metastázu melanomu. Přesvětření PET/CT bylo bez průkazu onemocnění. K masivnímu relapsu choroby dochází po pěti měsících. Vzhledem k pozitivitě B-RAF mutace byla plánována léčba vemurafenibem. **Závěr:** Případ demonstruje problematiku senzitivity a specifity imunohistochemických znaků melanomu a možnou podobnost se sarkomy měkkých tkání. Byla prokázána raritní pozitivita fúzního genu PAX7-FKHR specifického pro rhabdomyosarkom. Nestandardně pozitivní efekt chemoterapie spolu s chirurgickou resekci vedly k zlepšení kvality života a k prodloužení přežití srovnatelnému s moderními preparáty používanými v léčbě melanomu.

### Klíčová slova

maligní melanom – rhabdomyosarkom – imunohistochemie – cytogenetika – PAX7-FKHR – chemoterapie

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



MUDr. Ondřej Bílek  
Klinika komplexní onkologické péče  
Masarykův onkologický ústav  
Žlutý kopec 7  
656 53 Brno  
e-mail: bilek@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 7. 10. 2012

Přijato/Accepted: 4. 11. 2012

## Summary

**Background:** Malignant melanoma is considered to be highly resistant to chemotherapy, radiotherapy, hormonotherapy and standard immunotherapy (interleukin 2, interferon alpha). Radical surgery in the early stages of the disease is still the most efficient method. Since the development of immunotherapy and targeted therapy, the role of palliative chemotherapy for advanced disease may be changing. **Case:** A case report regarding 44-year-old woman with extensive tumor of the pectoral wall with contralateral axillary lymphadenopathy is presented. On the basis of imaging methods, histology and immunohistochemistry, the tumor was defined as a sarcoma. Due to PAX7-FKHR fusion gene positivity, rhabdomyosarcoma was the most probable classification. The patient was treated with radical chemotherapy including ifosphamide, vincristine, actinomycin D and doxorubicin with the effect of partial regression of the tumor. This enabled radical surgery of the chest wall tumor. Pathology proved 70% necrosis of the tumor. A contralateral axillary dissection was performed with a finding of two lymph nodes infiltrated with melanoma. The immunohistochemistry markers S100, HMB-45 and Melan A were positive. This resulted in a reclassification of the chest wall tumor to malignant melanoma. The following PET/CT scan was negative. A massive progression of the disease occurred after 5 months. B-RAF mutation leads to a plan of targeted therapy with vemurafenib. **Conclusion:** The case demonstrates the limits of the sensitivity and specificity of immunohistochemical markers of melanoma and the ability of this tumor to imitate various tumors including soft tissue sarcomas. A rare PAX7-FKHR fusion gene positivity considered specific for rhabdomyosarcoma was found. An extraordinary response to radical chemotherapy with surgical resection led to an improvement of the quality of life and to a prolonged survival comparable with the effect of new targeted treatment for malignant melanoma.

## Key words

malignant melanoma – rhabdomyosarcoma – immunohistochemistry – cytogenetics – PAX7-FKHR – chemotherapy

## Úvod

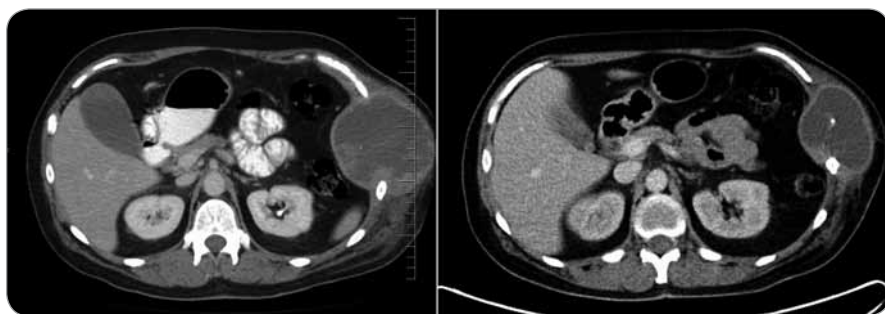
Základním cytostatikem v léčbě pokročilého melanomu je již po čtyři desetiletí dakarbazin (DTIC). Udávané procento léčebné odpovědi DTIC v monoterapii se pohybuje mezi 12 a 25 %, medián přežití u metastatických forem dosahuje

5–6 měsíců [1]. DTIC byl kombinován s řadou dalších cytostatik, např. s deriváty nitrosourey, platiny, vinca alkaloidy či taxany. Jsou zaznamenány i snahy o intenzifikaci cytostatické léčby včetně vysokodávkových režimů. Dle výsledků však kombinace cytostatik či vyšší dáv-

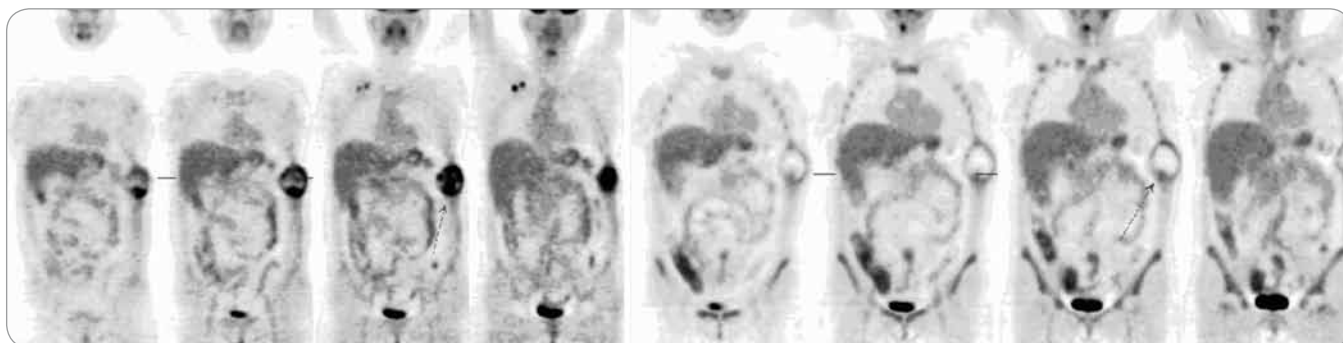
kování přineslo jen krátkodobou léčebnou odpověď a nebylo spojeno s prodloužením přežití pacientů ve srovnání s konvenčními léčebnými režimy [2]. V současné době jsou zaznamenány velké pokroky v léčbě imunoterapií a biologickou léčbou, studie s preparáty jako ipilimumab či vemurafenib zásadním způsobem mění standardy léčby melanomu [3,4]. Naše kazuistika se zabývá problematikou diagnostiky melanomu a otázkou postavení chemoterapie v současné léčbě.

## Popis případu

Předkládáme případ 44leté pacientky s výskytem kolorektálního karcinomu a neurčené gynekologické malignity v rodinné anamnéze. V lednu 2006 pacientka podstoupila resekci kožního tumoru v pravém hypochondriu, histo-



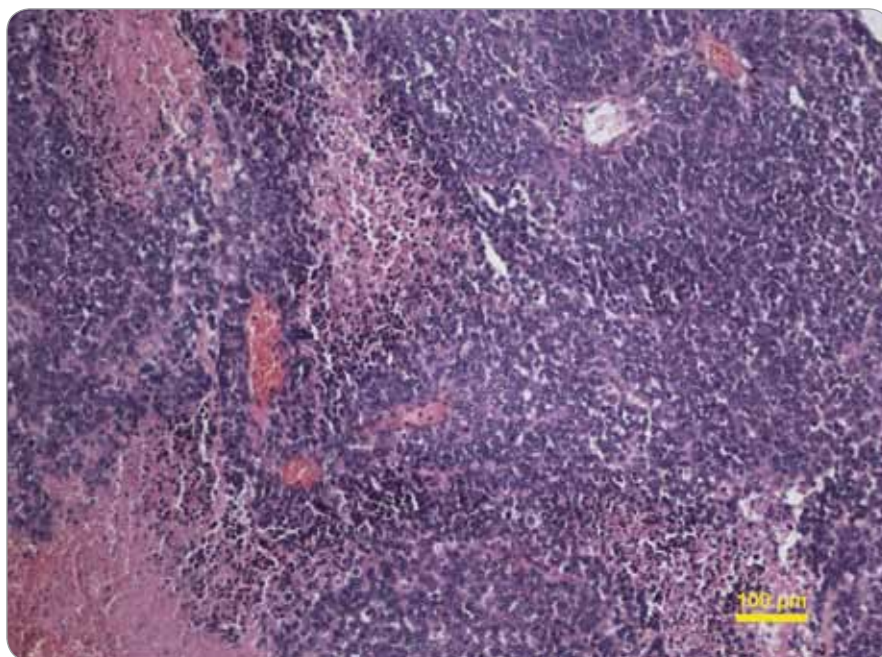
**Obr. 1.** Srovnání CT vyšetření z ledna 2012 (vlevo) a z dubna 2012 po aplikaci tří cyklů neoadjuvantní chemoterapie (vpravo). Je znatelné zmenšení tumoru hrudní stěny po léčbě.



**Obr. 2.** Srovnání PET vyšetření z ledna 2012 před zahájením léčby (vlevo) s vyšetřením z dubna 2012 po třech cyklech neoadjuvantní chemoterapie (vpravo). Je znatelný pokles aktivity tumoru hrudní stěny i pravostranné axilární lymfadenopatie.

logicky maligní melanom, pT1a, Breslow 1 mm, Clark III, bez ulcerace. Následovala reexcize, bez odstranění sentinelové uzliny. Koncem roku 2010 byla odeslána na naše pracoviště pro progredující bolestivou prominenci v levé části hrudníku. Dle CT popsán obraz expanzivně se chovající vaskularizované formace velikosti 14 × 13 cm (obr. 1), usurace 8. žebra, dále drobná lymfadenopatie v pravé axile. Doplněn PET, kde v korelaci s CT patologické ložisko hrudní stěny ( $SUV_{max}$  10) a dvě drobná aktivní ložiska v pravé axile ( $SUV_{max}$  6,82) (obr. 2). Dle scintigrafie skeletu kromě osteolýzy 8. žebra navíc drobné ložisko při dolním okraji sternu vlevo, bez CT korelátu. Vzhledem ke klinickému a rentgenovému obrazu onemocnění bylo vysloveno podezření spíše na sarkom než na metastatický proces primárního melanomu. Následovala punkční biopsie hrudní stěny silnou jehlou, zachycena high grade neoplazie z monomorfních buněk s hyperchromními excentrickými jádry a eozinofilní granulární cytoplazmou (obr. 3, 4). V imunohistochemii negativní S100, melan A, HMB-45, aktin, desmin, CKAE1/AE3, EMA, NSE, chromogranin, synaptophysin, LCA, CD20, CD79a, CD3, CD138. Přítomnost CD99 vzhledem k četným artefaktům nebyla hodnocena jako membránová pozitivita. Při dané morfologii a chudém imunofenotypu byl zvažován Ewingův sarkom či rhabdomyosarkom. Následovalo došetření chromozomálních aberací specifických pro dané sarkomy: EWS-FLI1, EWS-ERG, EWS-WT1, PAX3-FKHR, PAX7-FKHR. Na základě opakovaně prokázané positivity fúzního genu PAX7-FKHR v nativním bioptickém vzorku z tumoru hrudní stěny a v kostní dřeni byla diagnóza uzavřena jako rhabdomyosarkom.

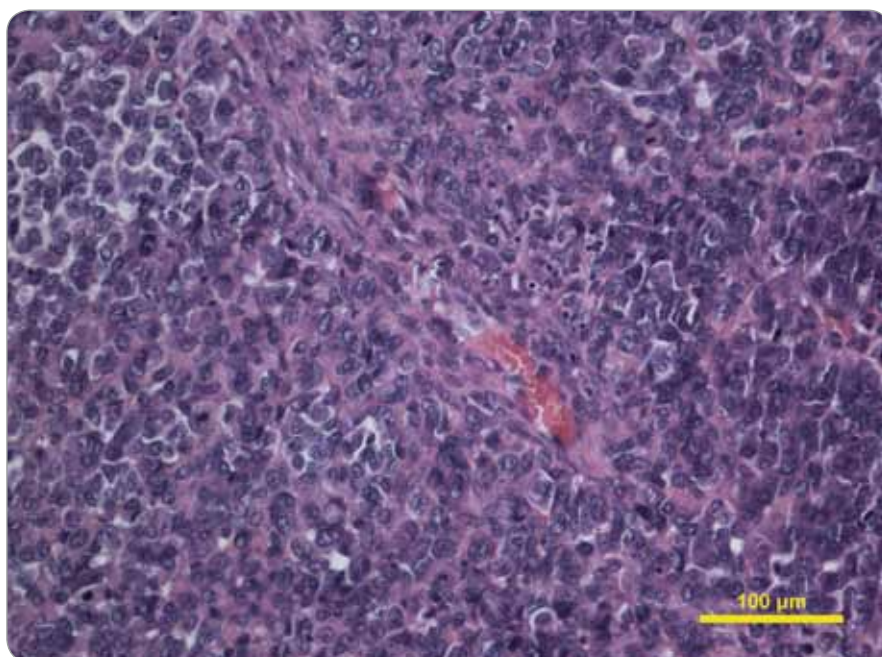
Z léčebných modalit se na prvním místě zvažovala možnost chirurgické resekability onemocnění, která se podle závěru multioborové komise pro hrudní tumory jevila proveditelná s jen malou pravděpodobností R0 výkonu. Vzhledem k rychlé klinické progresi onemocnění byla proto neprodleně zahájena neoadjuvantní chemoterapie dle protokolu EpSSG RMS 2005 (verze 1.2 – July 2008), režim IVADo – ifosfamid



**Obr. 3. Histologický obraz tumoru hrudní stěny z ledna 2011, barvení hematoxylin-eozin, původní zvětšení 100x.** Solidně rostoucí denzně celulární nádor ze středně velkých okrouhlých buněk imituje jiné nádory „z malých okrouhlých modrých buněk“, např. rhabdomyosarkom. V levé části snímku jsou patrné růžově zbarvené oblasti koagulačních nekrosů.

3 000 mg/m<sup>2</sup> den 1 + 2 s mesnou, vindristin 1,5 mg/m<sup>2</sup> den 1 + 8 + 15, aktinomycin D 1,5mg/m<sup>2</sup> den 1, doxorubi-

cin 30 mg/m<sup>2</sup> den 1 + 2. Pacientka léčbu subjektivně tolerovala uspokojivě, laboratorně byla asymptomatická neutrope-



**Obr. 4. Histologický obraz tumoru hrudní stěny z ledna 2011, barvení hematoxylin-eozin, původní zvětšení 200x.** Při vyšším zvětšení je místy patrné uspořádání v drobných vágních hnízdech, malé množství růžové eozinofilní cytoplazmy nádorových buněk. V centru snímku céva.

nie G4 s nutností profylaktické aplikace růstových faktorů granulopoézy, trombocytopenie G4 s potřebou substituce trombokonzentráty. Již po prvním cyklu chemoterapie se projevil zřetelné klinické známky regrese onemocnění ve smyslu změkčení, oploštění a ohraničení prominence hrudní stěny. Po třech cyklech léčby bylo provedeno přešetření PET/CT. V CT obraze sledované ložisko hrudní stěny změnilo svůj charakter ve smyslu cystoidu, rozměr 10 × 9 cm (obr. 1), regrese axilární lymfadenopatie. Dle PET pokles  $SUV_{max}$  tumoru hrudní stěny o 70 %. V pravé axile bylo zachyceno místo dvou ložisek jedno, pokles  $SUV_{max}$  o 50 % (obr. 2).

Po čtvrtém cyklu chemoterapie proběhla dne 21. 6. 2011 radikální resekce tumoru hrudní stěny s následnou plastikou a protrahovaným hojením per secundam. Patologem popsána 70% nekróza nádorových buněk. Resekát byl hodnocen jako sarkom měkkých tkání bez bližší specifikace. Zvažován maligní tumor periferní nervové pochvy, epiteloidní sarkom či maligní rhabdoidní tumor (obr. 3). Dne 9. 8. 2011 byla doplněna disekce uzlin postižené pravé axily, ve dvou lymfatických uzlinách z celkových dvanácti zachycen nádorový infiltrát difúzně S100 a Melan A pozitivní, rovněž zachycena fokální pozitivita HMB-45. Uzavřeno jako infiltrace maligním melanomem z nepigmento-

vaných buněk, bez transkapsulární invaze. Tumor hrudní stěny reklasifikován na metastázu maligního melanomu. Pacientka byla dále sledována. Kontrolní PET vyšetření v říjnu 2011 bylo bez průkazu přítomnosti nádorového onemocnění. Pacientka se po výkonu plně mobilizovala, zcela vymizely bolesti, navrátila se k běžným aktivitám včetně plného pracovního zatížení.

V lednu 2012 byla prokázána recidiva onemocnění v játrech a podkoží. Extirpací kožního ložiska z oblasti zad potvrzen melanom s fokální pozitivitou imunohistochemických markerů. Vzhledem k pozitivitě B-RAF mutace byla plánována cílená léčba vemurafenibem.

V březnu 2012 bylo prokázáno vícečetné metastatické postižení včetně centrální nervové soustavy, bez neurologické symptomatologie. Pacientka podstoupila paliativní radioterapii na oblast mozkovny a krčních lymfatických uzlin. V dubnu 2012 došlo ke zhoršení stavu a následně k úmrtí v důsledku progresu základního onemocnění.

### Diskuze

Případ demonstruje schopnost maligního melanomu imitovat histologicky prakticky jakýkoli nádorový histotyp včetně sarkomů, karcinomů, lymfomů i plazmocytomů a germinálních tumorů stejně jako problematiku senzitivity a specifity rutinně užívaných imuno-

histochemických znaků melanomu, které zahrnují S100 protein, HMB-45 a Melan A [5]. Definitivní diagnóza byla stanovena až na základě komparace morfoloických nálezů metastázy v lymfatické uzlině s jednoznačnou expresí melanocytárních markerů a tumoru hrudní stěny.

Vzhledem k primární diagnóze melanomu byla na prvním místě zvažována progresse tohoto onemocnění. Podezření na sarkom bylo vysloveno na základě klinického a rentgenového obrazu onemocnění, diagnózu podpořil i výsledek histologického vyšetření. V této souvislosti je nutno poukázat na limitovanou výpovědní hodnotu punkčních biopsií ve srovnání s histologickým vyšetřením kompletně odstraněného nádoru. Punkční biopsie je zatížena chybou „sampling error“, což zejména u heterogenních tumorů může být velmi limitující. Navíc jsou punkční biopsie zatíženy vznikem tlakových artefaktů při odběru. Z uvedeného vyplývá relativní nemožnost stanovení přesné diagnózy z punkční biopsie u mnoha afekcí, zejména u mízních uzlin či nádorů měkkých tkání.

Původní diagnóza rhabdomyosarkom byla stanovena také na základě molekulárně-biologického vyšetření, které je u rhabdomyosarkomu standardně prováděno z důvodů diagnostických i prognostických (tab. 1) [6]. Hodnocen byl nativní biopický vzorek z tumoru hrudní stěny, analýza fúzních transkriptů a následná přímá sekvenace opakovaně odpovídaly fúznímu transkriptu s rozhraním PAX7 exon 7 – FKHR exon 2. Analýzou vzorku kostní dřene byla rovněž potvrzena pozitivita se stejnými primery. Nálezy v tumorové tkáni i kostní dřeni byly hodnoceny jako jasně pozitivní pro fúzní gen PAX7-FKHR. Senzitivita vyšetření je vysoká, je uváděna schopnost detekovat jednu nádorovou buňku z buněčné linie na pozadí  $10^5$ – $10^6$  buněk normální kostní dřene [7,8]. Mutace PAX genů jsou spojeny s rozvojem rozličných malignit, podle některých prací byla pozorována zvýšená a aberantní exprese rodiny PAX genů i u melanomu, zejména PAX3 [9]. Translokace PAX3-FKHR t(1;13) a PAX7-FKHR t(1;13) jsou však specifické pro rhabdomyosarkom [6]. V souvislosti

Tab. 1. Přehled cytogenetických změn u sarkomů [6].

Typ sarkomu	Translokace	Chimer. produkt	Prevalence
alveolární RMS	t (2; 13) (q35; q14)	PAX3-FKHR	60–80 %
	t (1; 13) (p36; q14)	PAX7-FKHR	10–20 %
	t (X; 2) (q13; q24)	PAX3-AFX	vzácně
desmoplastický SRCT	t (11; 22) (p13; q12)	EWS-WT1	> 90 %
PNET/ES	t (11; 22) (q24; q12)	EWS-FLI1	85–90 %
	t (21; 22) (q22; q12)	EWS-ERG	5–10 %
	t (7; 22) (p22; q12)	EWS-ETV1	vzácně
synoviální sarkom	t (X; 18) (p11; q11)	SYT-SSX1	65 %
		SYT-SSX2	35 %
alveolar soft part sarkom	t (X; 17) (p11; q25)	ASPL-TFE3	> 90 %
clear cell sarkom	t (12; 22) (q13; q12)	EWS-ATF1	> 90 %
	t (2; 22) (q32; q12)	EWS-CREB1	vzácně
infantilní fibrosarkom	t (12; 15)	ETV6-NTRK3	80–90 %
myxoidní liposarkom	t (12; 16) (q13; q12)	TLS-CHOP	95 %
	t (12; 22) (q13; q12)	EWS-CHOP	vzácně

s melanomem nebyly tyto aberace dle našich znalostí dosud popsány.

Co se týká imunohistochemických vyšetření, některé markery standardně vyšetřované u melanomu mohou vykazovat pozitivitu i u sarkomů. Protein S100 může být pozitivní u více typů, v případě rhabdomyosarkomu až v 1/4 případů [10]. HMB-45 vykazuje vysokou specificitu pro melanom, může však reagovat i s některými vzácnými nádory podobné histogeneze jako pigmentovaný schwannom či světlobuněčný sarkom [11]. Melan A nebývá u sarkomů detekován vůbec.

V literatuře jsme zaznamenali pouze tři kazuistiky zabývající se podobnou problematikou. V roce 2002 Pasz-Walczak et al popsali případ melanomu s morfologickým fenotypem odpovídajícím rhabdomyosarkomu. Byla zachycena pozitivita S100 a HMB-45, k dispozici však nebylo stanovení Melan A ani možnost detekce PAX7-FKHR a PAX3-FKHR [12]. Podobnou kazuistiku rhabdoidního melanomu publikovali v roce 2011 Chung et al [13]. Jediný zaznamenaný případ, kde je popsána i léčba, a to výrazná regrese onemocnění po chemoterapii na bázi adriamycinu a ifosfamidu, publikovali v roce 2005 Signorelli et al [14].

### Závěr

V případě naší pacientky byl zaznamenán nestandardně velký efekt neoadjuvantní chemoterapie v léčbě pokročilého melanomu, patologem popsaná 70% nekróza buněk nádoru hrudní stěny a výrazná regrese axilární lymfadenopatie. Podobné případy složité diagnostiky melanomu a úspěšné léčby chemoterapií jsou zaznamenány i v literatuře [14]. Výsledku bylo dosaženo za cenu vyšší toxicity léčby, zejména hematologické. Po pěti měsících byla diagnostikována recidiva onemocnění. V tomto případě však intenzivní chemoterapie v kombinaci s radikální resekci vedla k významnému prodloužení přežití pacientky srovnatelnému s novými preparáty užívanými v léčbě melanomu. Především došlo k výraznému zlepšení kvality života, zejména ve smyslu ústupu bolesti s možností úplného vysazení opiátových analgetik a návratu do běžného života včetně pracovního procesu. Z pohledu nadále špatné prognózy pacientů s pokročilým maligním melanomem může intenzivní kombinovaná chemoterapie v některých případech stále představovat zajímavou léčebnou alternativu.

### Literatura

1. Serrone L, Zeuli M, Segal FM et al. Dacarbazine-based chemotherapy for metastatic melanoma: thirty-year ex-

perience overview. *J Exp Clin Cancer Res* 2000; 19(1): 21–34.

2. Lee SM, Betticher DC, Thatcher N. Melanoma: chemotherapy. *Br Med Bull* 1995; 51(3): 609–630.

3. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Eng J Med* 2010; 363: 711–723.

4. Chapman PB, Hauschild A, Robert C et al. BRIM-3 Study Group. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011; 364(26): 2507–2516.

5. Alonso S, Rodríguez-Peralto JL, Ballesterín C et al. Metastatic malignant melanoma with Homer-Wright rosettes mimicking a neuroblastic tumor. An unusual morphological manifestation. *Virchows Arch* 2003; 443(1): 108–110.

6. Bajčiová V, Štěrbá J, Tomášek J et al. Nádory adolescentů a mladých dospělých. *Grada*; 2011; 91–100.

7. Barr FG, Chatten J, D'Cruz CM et al. Molecular assays for chromosomal translocations in the diagnosis of pediatric soft tissue sarcomas. *JAMA* 1995; 273(7): 553–557.

8. Thomson B, Hawkins D, Felgenhauer J et al. RT-PCR evaluation of peripheral blood, bone marrow and peripheral blood stem cells in children and adolescents undergoing VACIME chemotherapy for Ewing's sarcoma and alveolar rhabdomyosarcoma. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24(5): 527–533.

9. Blake J, Ziman MR. Aberrant PAX3 and PAX7 expression. A link to the metastatic potential of embryonal rhabdomyosarcoma and cutaneous malignant melanoma? *Histol Histopathol* 2003; 18(2): 529–539.

10. Karamchandani JR, Nielsen TO, van de Rijn M et al. Sox10 and S100 in the diagnosis of soft-tissue neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012; 20(5): 445–450.

11. Mahmood MN, Lee MW, Linden MD et al. Diagnostic value of HMB-45 and anti-Melan A staining of sentinel lymph nodes with isolated positive cells. *Mod Pathol* 2002; 15(12): 1288–1293.

12. Pasz-Walczak G, Jesionek-Kupnicka D, Kubiak R et al. Rhabdomyosarcomatous (myoblastic?) phenotype of metastatic malignant melanoma. A case report. *Pol J Pathol* 2002; 53(2): 97–100.

13. Chung BY, Ahn IS, Cho SI et al. Primary malignant rhabdoid melanoma. *Ann Dermatol* 2011; 23 (Suppl 2): S155–S159.

14. Signorelli M, Lissoni AA, Garbi A et al. Primary malignant vaginal melanoma treated with adriamycin and ifosfamide: A case report and literature review. *Gynecol Oncol* 2005; 97(2): 700–703.