

# Diagnostika malígneho melanómu

MUDr. Martina Bobrovská<sup>1</sup>, MUDr. Eva Minariková, PhD.<sup>2</sup>, prof. MUDr. Lukáš Plank, CSc.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav patologickej anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty UK a MFN v Martine

<sup>2</sup> Kožná klinika Jesseniovej lekárskej fakulty UK a MFN v Martine

Celosvetový nárast incidencie malígneho melanómu každoročne o viac ako 4 % vyžaduje zlepšenie jeho diagnostiky. Tá pozostáva z tradične známeho klinického prístupu doplneného o aplikáciu moderných zobrazovacích metód. Zlatým štandardom bioptickej diagnostiky ostáva napriek heterogenite morfológie primárneho aj sekundárneho melanómu zhodnotenie jeho histologického obrazu. Pre odlišenie nádorov inej histogenézy a pre detekciu metastatického postihu uzlín je nevyhnutné použiť imunohistochemické vyšetrenia, z ktorých napriek pribúdaniu „nových“ markerov najsenzitívnejším dôkazom melanocytového pôvodu stále ostáva vyšetrenie S-100 proteínu. Naopak, v diferenciálnej diagnóze benígne verus malígne melanocytové neoplazmy, je prínos imunohistochemie limitovaný. Výnimkou je stanovenie proliferatívnej aktivity, ktorá býva vyššia v malígnych nádoroch. Dnes je k dispozícii aj nová metóda odlišenia benigných od malígnych melanocytových lézií pomocou fluorescenčnej in situ hybridizácie. Možno ju použiť aj na preparáty vo formole fixovaného a v parafíne zaliateho tkaniva a priamo tak korelovať genomické alterácie s morfológickými črtami.

**Kľúčové slová:** malígny melanóm, bioptická diagnostika, imunohistochemia, FISH.

## Diagnosis of melanoma

The worldwide documented increase of malignant melanoma's incidence by over 4% per year stimulates an improvement of its diagnosis. The diagnosis includes traditionally known clinical approaches, recently supplemented by implementation of modern visualizing methods. In spite of the broad morphological heterogeneity of both primary and secondary melanoma, the histopathological evaluation still represents the gold standard of its biopsy diagnostics. Immunohistochemistry has been the primary specific tool to distinguish melanoma from tumours of non-melanocytic origin and to detect metastatic involvement of the lymph nodes. Although many „new“ markers of melanocytic origin are now available, S100 protein detection remains the most sensitive marker of melanocytic lesions. However, with the exception of usually higher proliferation activity in malignant lesions, the contribution of immunohistochemistry to the differential diagnosis of benign versus malignant melanocytic tumors is limited. The fluorescence in-situ hybridization seems to become a new diagnostic method to discriminate between benign and malignant melanocytic lesions. It can be performed on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue specimens and allows directly to correlate genomic alterations with morphological features.

**Key words:** malignant melanoma, biopsy diagnosis, immunohistochemistry, FISH.

Onkológia (Bratisl.), 2009; roč. 4 (3): 144–148

## Úvod

Nárast incidencie malígneho melanómu (MM) celosvetovo každým rokom o viac ako 4 % a skutočnosť, že v Európe je ročne diagnostikovaných okolo 63 000 nových prípadov a 17 000 pacientov zomiera v dôsledku melanómu (1), predstavujú varovné signály. Najdôležitejším exogénnym rizikovým faktorom kožného melanómu (s výnimkou melanómu akrálnych častí) je intermitentná expozícia vysokým dávkam slnečného žiarenia v prvých rokoch života v asociácii s kožným typom I. a II. a tiež chronická expozícia s následkami v neskoršom veku. Rizikový terén predstavuje najmä syndróm dysplastických névov, veľký počet névov na tele (pri absencii dysplázie) a pozitívna rodinná anamnéza, vrátane vrodenej predispozície k nádorovým ochoreniam pri autozomálne dominantnom type dedičnosti (2). Riziková je aj koža popálená, omrznutá, po rádioterapii (3, 4). Melanómy sú časté aj u imunodeficientných pacientov, či už pri HIV infekcii alebo po orgánových transplantáciách. U časti pacientov sa zistia

metastázy MM pri neznámej primárnej lokalite, pričom vo väčšine prípadov ide o kompletnú regresiu kožného melanómu, zriedkavejšie je zdrojom metastáz melanóm v extrakutánnej lokalite. Melanóm sa môže šíriť krvnou alebo lymfatickou cestou, pozdĺž lymfatických a krvných ciev, nervových štruktúr alebo priamo lokálnou inváziou. Metastázy sú častejšie do oblasti kože, podkožných tkanív a lymfatických uzlín ako do viscerálnych orgánov. Miesto iniciálnej rekurencie, rovnako ako miesto primárnej lézie, je dôležitý prediktívny faktor prežívania.

## Klinická diagnostika

Predoperačná identifikácia pigmentových lézií je založená na využití niekoľkých diagnostických metód: anamnéze, klinickom vyšetrení, dermatoskopii, videomikroskopii a sonografii.

V rámci **anamnézy**, získavania informácií od pacienta, u ktorého je podozrenie na kožný melanóm, sa hodnotí trvanie lézie, zmena farby, veľkosti, výskyt krvácania, drobných raniiek na

povrchu a svrbenie. Žiaduce je pátrať po výskyte MM u prvostupňových príbuzných, informovať sa o častosti opalovania v prírode, soláriách, o prípadne prebiehajúcej liečbe imunosupresívami a inej predchádzajúcej intervencii v danej lokalite (chirurgický zákrok, liečba laserom alebo zmrazovanie tekutým dusíkom). U každého pacienta dermatovenerológ stanovuje fototyp kože.

Pri **klinickom kožnom vyšetrení** by mal byť pacient kompletne vyzlečený a vyšetrovaný v dobre osvetlenej miestnosti. Nemožno zabudnúť na prehliadnutie dlaní, chodidiel, kože vlasov, nechtov, dostupných slizníc a oblastí skrytých pod spodným prádlom. V prípade podozrenia na kožný malígny melanóm je súčasťou vyšetrenia aj palpačné vyšetrenie spádových drenážnych lymfatických uzlín. Dermatológ zisťuje veľkosť a priemer lézie podozrivej z diagnózy melanómu pomocou milimetrového pravítka, lupy alebo dermatoskopu v minimálne dvoch na seba kolmých rozmeroch. Do klinickej praxe sa zaviedlo používanie niekoľkých jednoduchých vyšetrovacích

**Tabuľka 1.** Tzv. ABCD pravidlo (5).

<b>A</b> (assymetry) – nepravidelnosť
<b>B</b> (irregular border) – nepravidelný okraj
<b>C</b> (irregular color) – nepravidelná farba
<b>D</b> (diameter over 6 mm) – priemer nad 6 mm

**Tabuľka 2.** Tzv. Glasgowský sedembodový dotazník (5).

A. veľké znaky	B. malé znaky
1 zmena veľkosti	4 priemer lézie viac ako 6 mm
2 zmena tvaru	5 zápalová reakcia
3 zmena farby	6 krvácanie alebo secernácia
	7 svrbenie alebo uvedomovanie si posudzovanej pigmentovej lézie

**Tabuľka 3.** Clarkova úroveň invázie (10).

I	melanóm v úrovni epidermy a adnexálneho epitelu (melanoma in situ)
II	melanómové bunky zasahujú papilárnu dermu (väčšina melanómov Clark II. nemetastázuje)
III	melanómové bunky kompletne vyplňajú papilárnu dermu
IV	melanóm infiltruje kolagénové vlákna retikulárnej dermy
V	melanóm infiltruje podkožné tkanivá

systémov na vizuálne diferencálne diagnostické odlíšenie klinicky atypických pigmentových lézií a in situ melanómov od malígnych melanómov. Prvým je **ABCD pravidlo** (tabuľka 1) popísané Friedmanom a kol., a druhým je **Glasgowský sedembodový dotazník** (tabuľka 2). K **ABCD** pravidlu sa niekedy pridáva písmeno **E** pre označenie elevácie a evolúcie pigmentovej lézie a písmeno **F** pre označenie až „*funny looking lesions*“ – smiešne vyzerajúcich lézií (5).

**Dermatoskopia** predstavuje vyšetrenie kože očistenou olejom pomocou ručného dermatoskopu s 10-násobným zväčšením alebo dermatoskopickým prístrojom s väčším 10 až 100-násobným zväčšením s možnosťou archivácie nálezov a počítačového vyhodnotenia vyšetrených lézií. Umožňuje lepšie zviditeľnenie pigmentácie v epidermis a povrchovej dermis s presnejším zachytením melanínovej pigmentovej siete a cievnych štruktúr vyšetrovanej lézie. Je to nadstavbová metóda, ktorá vo vybraných prípadoch dopĺňa klinické vyšetrenie (6) a je užitočná pri odlíšení melanocytových a nemelanocytových kožných lézií. Zvyšuje diagnostickú istotu a umožňuje znížiť počet zbytočných chirurgických zákrokov.

Dnes používané modernejšie metódy slúžiace na vyšetrenie pigmentových lézií sú **digitálna epiluminiscencia**, **SIAskopia** a **konfokálna mikroskopia**. Digitálna epiluminiscencia umožňuje digitálne zobraziť vyšetrovanú léziu, vyhodnotiť

ju pomocou softvéru a archivovať obraz pre dispenzárne kontroly. **SIAskopia** umožňuje vyšetrenie kože veľkosti 1 x 12 mm využívajúc viditeľné a infračervené svetlo so schopnosťou zobrazenia kolagénu, ciev a melanínu v papilárnej vrstve dermis. Reflexná **konfokálna mikroskopia** má najväčšiu rozlišovaciu schopnosť zo všetkých nových optických techník používaných v diagnostickom výskume kožných nádorov. Vzniknuté rezy sú horizontálne a rozlíšené sú mikroštruktúry: melanín, hemoglobín, bunkové organely a chromofóry (7). Predoperačná identifikácia hrúbky melanómu **sonografickou metódou** je založená na využití vysokofrekvenčnej **20 MHz sonografie**, ktorá predstavuje významný prínos v predoperačnom vyšetrení malígneho melanómu (obrázok 1). Táto metóda ako jediná neinvazívna metóda umožňuje určiť hrúbku malígneho melanómu ako sonografický ekvivalent histologickej hrúbky podľa Breslawa a pomáha odporučiť správny rozsah chirurgickej excízie v rozsahu od 1 cm do 3 cm. V prípade predoperačne nameranej hrúbky melanómu väčšej ako 1 milimeter, táto metóda upresňuje indikáciu exstirpácie sentinelovej lymfatickej uzliny (7 – 9).

### Histologická bioptická diagnostika

Histologické zhodnotenie morfológických črt je zlatým štandardom diagnostiky malígneho melanómu. K spoľahlivému stanoveniu všetkých potrebných kritérií (morfológických prognostických faktorov) prispieva vhodná kožná excízia v zmysle veľkosti, tvaru, hrúbky, fixovaná v prípade malých vzoriek *in toto* v neutrálnom formalíne. Excízie väčšie ako 10 mm a LU je vhodné narezať kvôli adekvátnej penetrácii fixatíva.

Samotnému excidovaniu predchádza krátky makroskopický popis zameraný najmä na:

1. Zaznamenanie rozmerov excízie: dĺžky, šírky, hrúbky.
2. Zaznamenanie morfológických črt pigmentovej lézie:
  - dĺžky, šírky (v mm alebo v cm), vzdialenosti od chirurgických okrajov (príp. ich značenie tušom alebo metylénovou modrou),
  - symetrie alebo asymetrie,
  - pravidelnosti alebo nepravidelnosti okrajov,
  - sfarbenia: uniformné alebo nepravidelné, excentrická hyperpigmentácia,
  - farby: odtiene hnedej, modrá, sivá, biela,
  - topografie: plochá, nodulárna, ulcerovaná, s krustou, zakrvácaná.

Malé vzorky sa pri excidovaní zvyčajne delia na polovice, pri väčších sa vedie transverzálny rez cez najhrubšiu, najtmavšiu časť alebo cez centrum lézie, nasledujú paralelné sériové rezy vo vzdialenosti

2 – 3 mm a kolmé rezy na laterálne okraje. Tkanivo zaliate do parafínových bločkov je vhodné na ďalšie diagnostické účely. Po narezaní a farbení základnou histologickou metódou hematoxylínom a eozínom možno hodnotiť cytologické a architektonické ukazovatele a určiť podtyp melanómu.

Najčastejšie sa vyskytujú štyri základné podtypy malígneho melanómu, ktorých diagnostika pri typickom obraze nespôsobuje ťažkosti a nevyžaduje ďalšie špeciálne vyšetrenia. **Sú to superficiálne sa šíriaci melanóm, nodulárny melanóm, lentigo maligna melanóm (solárny melanóm) a akrálny lentiginózny melanóm (10).**

Prvé dva spomenuté sa objavujú v ktorejkoľvek kožnej lokalite, lentigo maligna melanóm rastie v teréne kože chronicky vystavovanej slnečnému žiareniu (tvár, distálna časť DK) a akrálny lentiginózny melanóm býva lokalizovaný na dlaniach, pätách a nechtových lôžkach. Melanómy podobné posledne uvedenému sa objavujú na slizniciach horného dýchacieho a tráviaceho traktu, v oblasti konečníka a genitálií. Všetky podtypy okrem nodulárneho melanómu vykazujú na začiatku **radiálnu rastovú fázu**, teda intraepidermálne laterálne šírenie tumorózných buniek, ktoré je pagetoidné (bunky vo všetkých úrovniach epidermis) v prípade superficiálne sa šíriaceho melanómu, alebo lentiginózne (bunky pozdĺž dermoepidermálnej junkcie), pokiaľ ide o lentigo maligna melanóm a akrálny lentiginózny melanóm. **Invazívnu radiálnu rastovú fázu** predstavuje nález jednotlivých melanómových buniek bez mitotickej aktivity v superficiálnej derme, resp. nález malých hniezd (do 15 buniek) v tejto lokalite, ktoré sú rovnako veľké alebo menšie ako hniezda intraepidermálne. **Vertikálnu – tumorigénnu rastovú fázu** vytvára jeden alebo viacero dermálne lokalizovaných agregátov vzájomne morfológicky podobných melanómových buniek, ktoré sú však odlišné od buniek v radiálnej rastovej fáze (10). Rozdiel medzi radiálnou a vertikálnou rastovou fázou má značný prognostický význam – melanómy v radiálnej fáze majú nižší malígny potenciál a takmer nikdy nemetastázujú.

V hodnotení kožného malígneho melanómu je potrebné zamerať sa na stanovenie ďalších ukazovateľov – úrovne invázie podľa Clarka (tabuľka 3), hrúbky lézie podľa Breslawa (tabuľka 4), mitotickej aktivity a zaznamenať prípadnú ulceráciu a lymfovaskulárnu propagáciu. Najdôležitejšie prognostické a prediktívne faktory zahŕňajú hrúbku melanómu (podľa Breslawa), jeho histologický typ, prítomnosť ulcerácie, mitotický index, lokalitu postihnutia, vek a pohlavie pacienta. Vo všeobecnosti priaznivú prognózu majú tenké melanómy

**Tabuľka 4.** Breslowova hrúbka (10).

Parameter
• hrúbka meraná v mm od granularnej vrstvy epidermy alebo bázy ulcerácie po najhlbšie invadujúcu tumoróznou bunku
• mikrosatelity sa do merania celkovej hrúbky zahŕňajú
• intraadnexálne šírenie a šírenie pozdĺž adnexálnych štruktúr sa do merania nezahŕňa
• melanómy s parciálnou regresiou sú merané rovnako ako iné melanómy, od granularnej vrstvy po najhlbšie lokalizovanú melanómovú bunku, hrúbka jazvy sa nemeria
• hrúbka satelitov alebo metastáz sa nemeria

(do 1,5 mm), superficiálne sa šíriace, melanómy bez ulcerácie a s nízkym mitotickým indexom lokalizované na končatinách u mladých žien (10).

### Špeciálne metódy bioptického vyšetrenia

Pomocné metódy na zhodnotenie melanocytových lézií, ktorých význam v ére imunohistochemie klesol, predstavujú **špeciálne histochemické farbenia** na melanín. Ten je identifikovateľný rôznymi histochemickými technikami, najčastejšie používané sú redukčné metódy (podľa Schmorla a Massona-Fontanu) a senzitivnejšie Warthinove-Starryho striebriace farbenie a jeho varianty. Tieto metódy nie sú špecifické pre melanín (pozitívnu reakciu vykazujú aj niektoré lipofuscíny a argentafinné endokrinné bunky), preto sa v praxi na odlišenie ďalších „hnedých“ pigmentov odporúča paralelne aplikovať aj ďalšie histologické farbenia. Medzi enzýmové histochemické metodiky použiteľné aj na zmrazených rezoch patrí dôkaz tyrozinázovej aktivity DOPA oxidázovou reakciou, ktorá môže odhaliť stopy melanínovej syntézy v hypomelanotických léziách. **Imunohistochemia** má nezastupiteľné miesto predovšetkým v diagnostike primárneho a metastatického malígneho melanómu, ktorý môže byť morfológicky rôznorodý a pripomínať iné histogeneticky odlišné nádory, ako sú epitelové, hematologické, mezenchymálne a neuroektodermové. Uplatňuje sa tiež pri diagnostike metastatického rozsevu, obzvlášť v detekcii malého počtu melanómových buniek v sentinelovej uzline (pozri ďalej) (tabuľka 5).

### Najčastejšie problémy bioptickej diagnostiky melanocytových lézií

Najčastejšie problémy bioptickej diagnostiky melanocytových lézií zahŕňajú otázku primárny versus metastatický melanóm, pátranie po pôvode malígneho melanómu, diferenciálnu diagnostiku melanocytových lézií a otázku benigne versus malígne melanocytové nádory.

**Tabuľka 5.** Prehľad protilátok na dôkaz pozitívnej antigénovej expresie pri imunohistochemickom vyšetrení tkaniva malígneho melanómu (12).

Marker	Senzitivita/ špecificita	Pozitivita v niektorých nemelanocytárnych nádoroch	Poznámky
<b>S100</b>	97–100%/75–87%	Početné tumory odvodené od buniek nervových pošiev, myoepiteliálnych buniek, adipocytov, chondrocytov, Langerhansových buniek	Nukleárna a cytoplazmatická pozitivita, najsenzitivnejší marker pre vretenobunkové/dezmozplastické melanómy
<b>HMB-45</b>	69–93% (77–100% v primárnych melanómoch, 56–83% v metastatických melanómoch)	Perivaskulárne epiteloidne bunkové tumory – PECómy (angiomyolipómy, pľúcny „sugar“ tumor, lymfangiomyo-matóza), meningeálne melanocytómy, svetlobunkový sarkóm, niektoré ovariálne tumory, niektoré prsníkové karcinómy, renal cell karcinóm s t(6,11) (p21,q12) translokáciou	Cytoplazmatická pozitivita, nižšia senzitivita v mts melanóme
<b>MART-1/ Melan-A</b>	75–92%/95–100%	PECómy, niektoré svetlobunkové sarkómy, klon A103(Melan-A) pozit. v adrenálnych kortikálnych tumoroch a gonadálnych steroid tumoroch	Cytoplazmatická pozitivita, intenzívnejšia a difúznejšia expresia ako HMB-45
<b>Tyrozínáza</b>	84–94%/97–100%	Zriedkavo angioliipómy, minoritne angiomyolipómy a svetlobunkové sarkómy šlachových pošiev, pigmentované tumory nervových pošiev	Cytoplazmatická pozitivita, senzitivita klesá so zvyšujúcim sa klinickým štádiom a v mts léziách
<b>MITF</b>	81–100%/88–100% špecificita nižšia vo vretenobunkových léziách	Vretenobunkové tumory, lymfoidné neoplazmy, angiomyolipómy, zriedkavo prsníkové a renal cell karcinómy, expresia v histiocytoch, lymfocytoch, fibroblastoch, Schwannových bunkách, hladko-svalových bunkách a mastocytoch	Nukleárna pozitivita
<b>Vimentín</b>	Senzitivita 96%	mnohých	Pri negativite možno vylúčiť melanóm

#### Primárny versus metastatický melanóm.

Kožné metastázy vrátane satelitov a tranzitorných metastáz sú obvyčajne lokalizované v blízkosti horného alebo dolného vaskulárneho plexu, t. j. situované v povrchovej derme na hranici s epidermou alebo v dolnej derme či povrchovom podkoží. Minimum kožných melanómových metastáz postihuje epidermu – tzv. epidermotropické melanómové metastázy a len v extrémnych prípadoch sú všetky alebo takmer všetky tumorózne bunky lokalizované intraepidermálne (11). Navyše, metastatický melanóm kože zvyčajne formuje neostro ohraničené agregáty tumoróznych buniek rôzneho stupňa cytologickej atypie, avšak príbuznej morfológie. Naopak v primárnych melanómoch nádorové bunky vykazujú väčšie morfológické variácie (s výnimkou melanómov v radiálnej rastovej fáze). V metastatických melanómoch býva v porovnaní s primárnymi častejšia intravenózna propagácia tumoróznych buniek, vyšší proliferatívny (Ki67) index, pozitivita p53 proteínu a fibroinflatória odpoveď býva minimálna.

#### Metastatický melanóm pri neznámom origu.

U 4 – 12% pacientov sa zisťujú metastázy MM pri neznámej primárnej lokalite. Vo väčšine prípadov ide o kompletnú regresiu kožného melanómu, ktorá postihuje dvakrát častejšie mužov ako ženy. Dôkladné vyšetrenie kože drénovanej metastatickou LU môže odhaliť jazvovité ložisko ako miesto

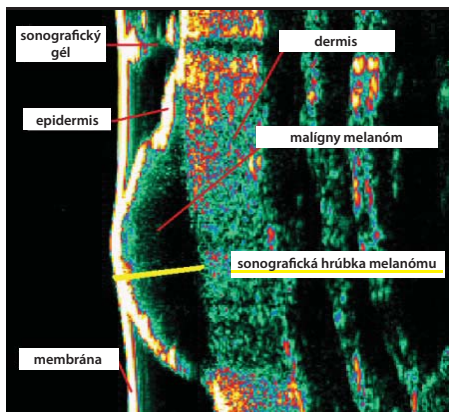
primárneho tumoru a vtedy je indikovaná excízia pre prípadné zachytenie reziduálneho tumoru.

Príčinou metastáz môže byť v minulosti odstránená melanocytová lézia bez histologického vyšetrenia, príp. nesprávne diagnostikovaný primárny nádor. Len zriedka je zdrojom metastáz melanóm v extrakutánnej lokalite, ktorý vzniká nádorovou transformáciou buniek CNS, oka a očnej dutiny, nosovej dutiny a prínosových dutín, slinnej žľazy, hrtanu, pažeráka, dolného respiračného traktu, týmusu, črevného, močovo-pohlavného traktu, nadobličiek alebo tzv. vnútrozlinových névocytových inklúzií.

#### Metastatický melanóm simulujúci iné neoplazmy.

Metastatický melanóm môže svojimi bunkovými, architektonickými a stromálnymi črtami pripomínať nádory inej histogenézy. Morfológia melanómových buniek môže byť v spektre od epiteloidných po vretenobunkové, môže mať črty tzv. svetlých buniek, buniek tvaru pečatného prsteňa, balónovitých, rhabdoidných a plazmacytoidných buniek. Pri epiteloidne bunkovej morfológii je potrebné odlišiť zle diferencovaný karcinóm a veľkobunkový anaplastický lymfóm. Vretenobunková morfológia vyžaduje oddiferencovať sarkómy a sarkomatoidné karcinómy. Nádorové bunky môžu tvoriť rôznorodé architektonické vzory – hniezda, pruhy, noduly, rozety, trabekulárne, koncentrické, žľazové a papilárne formácie. Môžu podliehať schwannianskej, fibroblastickej, myofibroblastickej, rhabdoidnej,

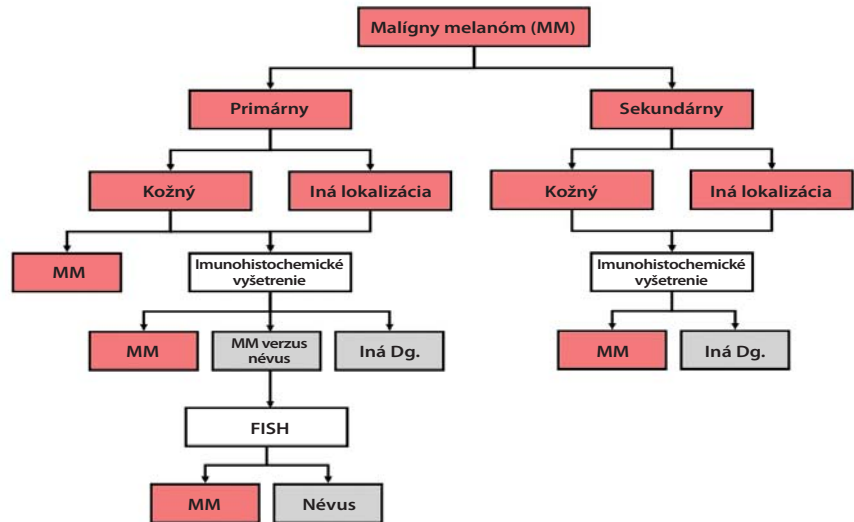
**Obrázok 1.** Sonografická identifikácia hrúbky melanómu.



osteoidnej, kartilaginóznej, ganglionickej a hladkosvalovej diferenciácii, preto v prípade potreby je žiaduca pomerne rozsiahla imunohistochemická analýza nádorových elementov. Napriek rozrastajú-  
cemu sa množstvu „nových“ imunohistochemických markerov, najsenzitívnejším imunohistochemickým markerom melanocytových lézií ostáva stále dôkaz expresie S-100 proteínu (12). Markery ako HMB-45, MART 1/MelanA, tyrozináza a MITF vykazujú relatívne dobrú špecifitu, ale nie tak dobrú senzitivitu ako dôkaz s 100 proteínu. Pre epiteloidné lézie možno použiť jeden alebo viacero markerov melanocytovej diferenciácie napr. MART-1/MelanA, gp100/HMB-45, MITF alebo tyrozinázu, z nich sa zdá byť najsenzitívnejší MITF, potom nasleduje tyrozináza, MelanA a HMB-45. V prípade vretenobunkových melanómov zostáva najsenzitívnejším markerom S100 proteín, ktorý je však exprimovaný aj v ďalších nemelanocytových vretenobunkových léziách. Dodnes tak neexistuje špecifický marker na jednoznačné odlišenie vretenobunkového a dezmoplastického melanómu od iných vretenobunkových nemelanocytových nádorov (12).

**Benígne versus malígne melanocytové nádory.** Pri riešení tejto otázky je využiteľnosť imunohistochemickej analýzy značne obmedzená. Ak sú niektoré markery melanocytovej diferenciácie pozitívne v povrchových a negatívne v hlbokých častiach lézie, tak môže ísť o prejav maturácie v névoch, zatiaľ čo v melanómoch je imunoreaktivita vo všetkých úrovniach lézie. Nápomocné býva stanovenie proliferatívnej aktivity pomocou Ki-67 indexu, napr. v spitzoidných neoplazmách a névo-  
idných melanómoch. Névy vykazujú priemernú proliferáciu aktivitu do 5 % buniek prevažne v povrchových častiach lézie. Vo väčšine melanómov je proliferatívny index 13 – 30 % buniek s nerovnomernou distribúciou a akcentáciou na báze (12). V budúcnosti zrejme presnejšiu odpoveď na otázku, či ide o benígnu alebo malígnu melanocytovú léziu v prípade morfológicky a imunohistochemicky hraničných foriem umožní fluorescenčná in

**Obrázok 2.** Diagnostický algoritmus.



situ hybridizácia (FISH). Prvé skúsenosti s využitím poznatkov molekulovo-genetických štúdií totiž ukázali, že zrnčenie alebo strata špecifických chromozomálnych úsekov sú zodpovedné za biologické chovanie melanocytových lézií. V melanómoch boli použitím metód komparatívnej genómovej hybridizácie dokázané najčastejšie delécie v úsekoch 6q, 8p, 9p a 10q, amplifikácie v úsekoch 1q, 6p, 8q, 17q, 20q a abnormality chromozómu 7 (13). Na základe týchto štúdií bol vyvinutý štvorfarebný set sond Vysis LSI RREB/LSI MYB/LSI CCND1/CEP6 slúžiaci na detekciu numerických alterácií asociovaných s malígnym melanómom **metódou FISH**. Metóda by mala umožniť odlišenie benígnej melanocytovej lézie od malígnych melanómov a priamo korelovať genomické alterácie s morfológickými črtami, hoci určenie senzitivity a špecifity FISH metódy vyžaduje overenie vo väčších analytických súboroch. Výhodou je použiteľnosť tejto metódy na tkanivách fixovaných vo formole a zaliatých do parafínu, vrátane archívneho materiálu.

## Záver

Vývoj stále kvalitnejších neinvazívnych vyšetrovacích metód (digitálna dermatoskopia, sonografia) je prínosom pre včasnú diagnózu malígneho melanómu, pričom predoperačné stanovenie jeho hrúbky má význam pre adekvátnu chirurgickú terapiu. Následná histopatologická diagnostika a exaktné zhodnotenie morfológických i fenotypových prognostických a prediktívnych faktorov nádoru v bioptickom vyšetrení možno dnes rozšíriť o novšiu špecializovanú vyšetrovaciu metódu (FISH), ktorá sa uplatňuje v diagnostike hraničných lézií. Multidisciplinárny prístup a úzka spolupráca klinika, patológa i odborníkov z oblasti molekulovej biológie je nevyhnutná pre diagnostiku malígneho melanómu na úrovni súčasných poznatkov.

## Literatúra

1. American Cancer Society. a Cancer Journal for Clinicians. Global Cancer Statistics 02. Atlanta: American Cancer Society; 2006.
2. De Snoo F. Genetics of familial melanoma and atypical nevi. Leiden: Universiteit Facilitair Bedrijf; 2006.
3. Kikuchi H, Nishida T, Kurokawa M, Setoyama M, Kisanuki A. Three cases of malignant melanoma arising on burn scars. J Dermatol 2003; 30: 617–624.
4. Trefzer U, Voit C, Milling A, Audring H, Sterry W. Malignant melanoma arising in a radiotherapy field: report of two cases and review of the literature. Dermatology 2003; 206: 265–268.
5. Carli P, de Giorgi V, Palli D, Giannotti V, Giannotti B. Preoperative assessment of melanoma thickness by ABCD score of dermatoscopy. J Am Acad Dermatol. 2000; 43: 459–466.
6. Pizinger K. Moderní přístupy k včasné diagnostice pigmentových útvarů na kůži. Referátový výber z dermatologie 2005; 47(1): 4–6.
7. Poláková K. Nemelanómová rakovina kože – II. časť: diagnostika a liečba. Dermatol.prax 2008; 4:150–152
8. Fajkošová K. Možnosti využití vysokofrekvenčního ultrazvuku v dermatológii. Čes.-slov. Derm. 2005; 8(1): 28–36.
9. Vaillant L. High-Frequency Ultrasound of the Skin. In: Agache P, Hubert P: Measuring the Skin, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2004. 204–214.
10. Philip E. LeBoit, Günter Burg, David Weedon, Alain Sarasi: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Skin Tumours. Lyon; IARC Press 2006. 55-65
11. Gueriére-Kovach PM, Hunt EL, Patterson JW et al. Primary melanoma of the skin and cutaneous melanomatous metastases: comparative histologic features and immunophenotypes. Am J Clin Pathol 2004; 122: 70–77.
12. Ohsie SJ, Sarantopoulos GP, Cochran AJ, Binder SW. Immunohistochemical characteristics of melanoma. J Cutan Pathol 2008; 35: 433–444.
13. Boris C. Bastian, Adam B. Olshen, Philip E. LeBoit, Daniel Pinkel. Classifying Melanocytic Tumors Based on DNA Copy Number Changes. Am J of Pathol 2003; 163, 5.

**MUDr. Martina Bobrovská**

Ústav patologickej anatómie JLF UK a MFN  
Kollárova 2, 036 01 Martin  
bobrovsk@gmail.com

