

## ACTUALITĂȚI ÎN DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL METASTAZELOR CUTANATE ALE MELANOMULUI

### AN UP TO DATE IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF MELANOMA SKIN METASTASES

LAURA MARIA LUCIA PAPAGHEORGHE\*, ANA-MARIA FORSEA\*, CĂLIN GIURCĂNEANU\*

#### Rezumat

Melanomul este unul dintre cele mai metastazante cancere, iar morbiditatea și mortalitatea corespunzătoare melanomului cutanat sunt determinate în principal de boala metastatică. Metastazele cutanate sunt un fenomen întâlnit frecvent în istoria naturală a bolii, atât precoce cât și în fazele tardive, prognosticul lor fiind semnificativ superior metastazelor viscerale. Mecanismele procesului metastatic sunt foarte complexe, incomplet elucidate, și implică o serie de factori intrinseci și extrinseci tumorali. Contextul gazdei joacă un rol fundamental pentru facilitarea sau inhibarea dezvoltării tumorale și a metastazării în funcție de stadiul evolutiv al tumorii. Metastazele cutanate pun frecvent probleme de diagnostic diferențial, clinic, dermatoscopic și histopatologic, implicând entități atât benigne, cât și maligne. În prezent sunt disponibile numeroase opțiuni terapeutice, locale și sistemice, la alegerea cărora trebuie ținut cont de extensia bolii, prezența afectării sistemice și comorbiditățile pacientului. Terapiile au rol curativ dacă metastazele cutanate reprezintă singura manifestare a bolii, tratamentul chirurgical reprezentând standardul de aur, sau rol paliativ în cazul leziunilor extinse, inoperabile sau însoțind diseminarea sistemică.

Lucrarea de față realizează o trecere în revistă a datelor științifice actuale cu privire la metastazele cutanate ale melanomului, din punctul de vedere al mecanismelor metastazării, aspectelor clinico-patologice, al problemelor

#### Summary

Melanoma is one of the most metastasizing cancers, and its morbidity and mortality are mostly determined by metastatic disease. Cutaneous metastases are a frequently encountered event in the natural history of the disease, in the early as well as in the late stages, with a significantly higher survival rate than visceral metastases. The mechanisms that drive the metastatic process are very complex, incompletely clarified, and involve a series of intrinsic and extrinsic tumoral factors. The host's setting plays a fundamental role for enabling or inhibiting tumor growth and metastasis in accordance to the tumor's developmental phase. Skin metastases frequently raise differential diagnosis issues, from a clinical, dermatoscopic and histopathological point of view, involving both benign and malignant entities. Presently, numerous therapeutic options are available, local and systemic, on whose choice one must take into account the disease extension, the presence of systemic disease and the patient's comorbidities. Available treatments have a curative role if cutaneous metastases represent the sole manifestation of the disease, surgical treatment remaining the gold standard, or a palliative role for extensive, inoperable lesions or accompanying systemic dissemination.

This paper is a review of present-day scientific data of melanoma skin metastasis, regarding the mechanisms of metastasis, the clinical and pathological aspects, and of

\* Clinica de Dermatologie Oncologică și Alergologie, Spitalul Universitar de Urgență ELIAS, București, România.  
Oncology Clinic of Dermatology and Allergology, University Hospital Emergency ELIAS, Bucharest, Romania.

*de diagnostic clinic și diferențial al acestora, precum și al opțiunilor terapeutice disponibile în prezent.*

**Cuvinte cheie:** melanom, metastaze cutanate, mecanisme de metastazare, tratamentul melanomului.

Intrat în redacție: 22.04.2015

Acceptat: 29.05.2015

*clinical and differential diagnosis issues, as well as of the therapeutic options available today.*

**Key words:** melanoma, skin metastases, mechanism of metastasis, melanoma treatment.

Received: 22.04.2015

Accepted: 29.05.2015

## Introducere

Metastazarea tumorală este principala cauză de deces a pacienților oncologici, iar melanomul este unul dintre cele mai metastazante neoplasme. Deși reprezintă mai puțin de 5% din tumorile maligne cutanate, i se alocă 75% din decesele cauzate de cancer cutanat [1]. Metastazele cutanate ale melanomului reprezintă un eveniment întâlnit frecvent în istoria naturală a bolii și se poate produce atât precoce cât și în fazele tardive ale afecțiunii. În același timp, în rândul pacienților cu metastaze cutanate de orice etiologie, melanomul este cea mai frecvent întâlnită malignitate în rândul bărbaților și cea de-a doua în rândul femeilor, după neoplasmul mamar [2]. Se estimează că aproximativ 16,5% dintre toți pacienții diagnosticați cu melanom primar vor dezvolta metastaze, iar dintre cei cu melanom metastatic visceral circa 50% vor avea și metastaze cutanate [3]. Diagnosticul precoce al metastazelor cutanate de melanom este important pentru stadializare și estimare prognostică. Este deosebit de importantă stabilirea tipului de metastază, respectiv recurență locală, metastază în tranzit sau la distanță, datorită impactului asupra prognosticului [4]. Mai mult decât atât, metastazele cutanate au o supraviețuire net superioară metastazelor viscerale la 1, 5 și 10 ani [4].

Morbiditatea și mortalitatea melanomului cutanat sunt determinate în principal de boala metastatică, care se poate produce chiar și în cazul tumorilor subțiri [5]. Aspectele clinice și histopatologice heterogene ale metastazelor cutanate pot pune probleme importante de diagnostic diferențial ce ar putea întârzia un diagnostic pozitiv corect, conducând la agravarea prognosticului. În prezent există numeroase opțiuni terapeutice, atât locale, cât și sistemice, a căror alegere depinde de localizarea și numărul leziunilor, dar și de vârsta pacientului, prezența afectării sistemice și comorbiditățile acestuia.

## Introduction

Tumor metastasis is the main cause of death in oncologic patients, and melanoma is one of the most metastatic tumors. Although it represents less than 5% of the malignant tumors of the skin, it is responsible of 75% skin cancer-related deaths [1]. Melanoma skin metastases are a frequent occurrence the natural history of the disease and can arise early as well as in the late stages of the disease. Mean while, melanoma is the most frequent malignant tumor in patients with skin metastases of all types among men, and the second most frequent among women, after the breast cancer [2]. Roughly 16.5% of all patients diagnosed with primary melanoma will develop skin metastases, and 50% of the ones with visceral metastatic melanoma will have cutaneous metastases as well [3]. Early diagnosis of skin metastases is important for staging and outcome estimation. It is most important to establish the type of metastasis, local recurrence, in transit or distant metastasis, as a result of impact on the outcome [4]. Moreover, skin metastases have a significantly higher survival rate than visceral metastases at 1, 5 and 10 years [4].

Morbidity and mortality of skin melanoma are determined mainly by metastatic disease, which can occur even in the case of thin tumors [5]. Heterogeneous clinical and histopathology aspects of skin metastases can make the differential diagnosis problematic, which may delay a correct positive diagnosis, leading to a worse prognosis. To date, there are numerous therapeutic options, local as well as systemic, treatment choice depending on the location and the number of the lesions, but also on the patient's age, systemic disease and comorbidities.

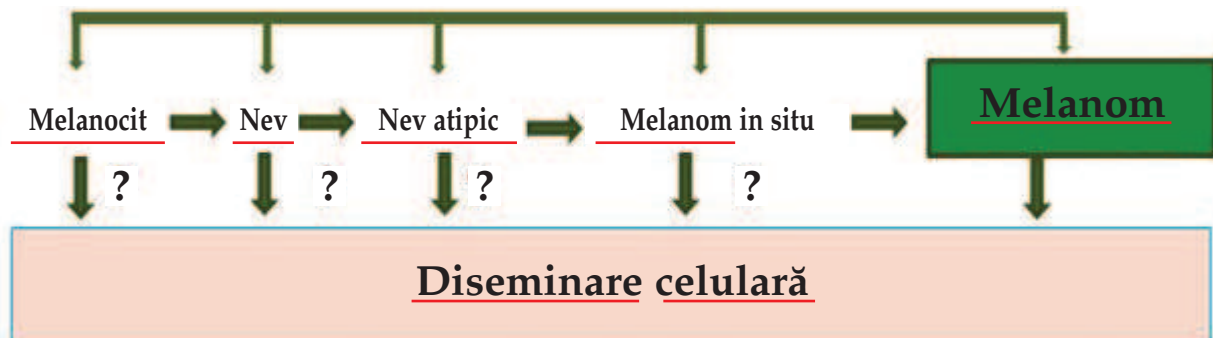


Fig. 1. Progresia tumorală liniară și non-liniară (Adaptat după WE Damsky, N.T.a.M.B., *Melanoma metastasis: new concepts and evolving paradigms. Oncogene 2014. 33: p. 2413–2422*)

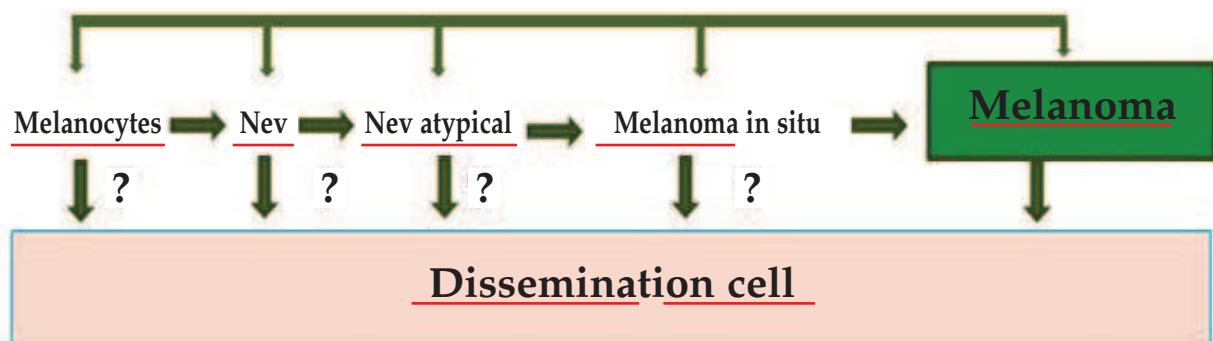


Fig. 1. Linear and non-linear tumor progression (adapted after WE Damsky, N.T.a.M.B., *Melanoma metastasis: new concepts and evolving paradigms. Oncogene 2014. 33: p. 2413-2422*)

Lucrarea de față realizează o trecere în revistă a datelor științifice actuale privind metastazele cutanate ale melanomului cutanat, din punctul de vedere al mecanismelor metastazării, al aspectelor clinico-patologice, al problemelor de diagnostic clinic și diferențial al acestora precum și al opțiunilor terapeutice disponibile.

### 1. Mecanisme de metastazare

Formarea tumorii primare a fost ilustrată de cele mai multe ori ca un fenomen liniar, însă diverse observații recente sugerează că nu este întotdeauna cazul. Modelul clasic presupune că trecerea de la melanocitele normale la melanomul metastatic se face parcurgând fazele de: nev melanocitar/nev displazic, melanom in situ, cu creștere radială, creștere verticală a tumorii primare și în final metastazare. În prezent însă mai mulți autori consideră că progresia tumorală liniară este doar unul dintre modelele evolutive și că parcurgerea tuturor pașilor nu este necesară în cazul tuturor tumorilor [6] (Fig. 1). Studiile recente au arătat că diseminarea celulară de la

This paper is a review of present-day scientific data of melanoma skin metastasis, regarding the mechanisms of metastasis, the clinical and pathological aspects, and clinical and differential diagnosis issues, as well as of the therapeutic options available today.

### 1. Mechanisms of metastasis

The development of the primary tumor was illustrated mostly as a linear phenomenon, but recent observations suggest that such is not always the case. The classical model hypothesizes that the transformation of normal melanocytes to metastatic melanoma covers the following steps: melanocytic nevus/dysplastic nevus, in situ melanoma, with radial growth, vertical growth of the primary tumor and finally metastasis. Presently, several authors consider that linear tumor progression is only one of the development models and that covering all steps is not necessary [6]. Recent studies showed that

nivelul leziunii primare se poate produce și precoce în fazele in situ, ale melanoamelor și nu neapărat doar în cazul tumorilor invazive. Acesta ar corespunde de altfel gradului mare de mobilitate intrinsecă melanocitelor normale, care se pot regăsi frecvent și în afara membranei bazale, de exemplu în derm, ganglionii limfatici și în circulația sistemică, la persoanele sănătoase [6, 7].

Pe de altă parte se consideră că etapele de metastazare urmează o succesiune relativ liniară. (Fig. 2) Celulele desprinse de la nivelul tumorii primare migrează prin țesuturi de obicei de-a lungul structurilor anatomice, pătrund în circulația limfatică și sangvină, apoi extravazează, iar în noile țesuturi gazdă formează micrometastaze apoi macrometastaze care sunt clinic sau imagistic manifeste [6, 8, 9]. Pătrunderea în circulația limfatică este de obicei primul pas pentru diseminarea sistemică, dar nu neapărat obligatoriu, diseminarea putându-se produce și direct hematogen [10]. Unii autori consideră că se poate produce o a doua diseminare celulară tumorală de la nivelul macrometastazelor, însă nu este clar dacă acest lucru este posibil și pentru micrometastaze [6, 11].

Este important de subliniat că nu toate celulele tumorale extravazate ajung să formeze metastaze, așa cum nu toate micrometastazele progresează spre macrometastaze. Majoritatea celulelor tumorale diseminate nu ajung să formeze macrometastaze, dimpotrivă. Din acest motiv, prezența celulelor tumorale diseminate în circulație nu este un marker fidel al unei viitoare metastazări sau a unei metastaze deja constituite [12]. Supraviețuirea celulelor tumorale diseminate în circulația sangvină, dezvoltarea lor în micrometastaze și ulterior transformarea în macrometastaze sunt etape limitante în fiziopatologia metastazelor, reprezentând bariere pe care celulele tumorale trebuie să le depășească pentru ca boala să intre în etapa de metastazare clinic evidentă. Transformarea micrometastazelor în macrometastaze este un punct de control de importanță particulară, unele micrometastaze putând persista în această fază indefinit, fără a ajunge vreodată la boală metastatică clinic manifestă. Astfel, deși clinic evidente doar la 10-20% dintre pacienții cu melanom metastatic, metastazele hepatice sunt prezente la 54-77%

cell dissemination from the primary tumor can occur early, in situ melanomas, not only in the invasive stages alone [6] (Fig. 1). This would be consistent with the inherent high degree of mobility of normal melanocytes that can be found frequently outside the basal membrane, i.e. in the dermis, lymph nodes and the systemic circulation, in healthy subjects [6, 7].

On the other hand it is admitted that metastasis follows a relatively linear order (Fig. 2). Cells detached from the primary tumor migrate through tissues, usually along anatomical structures, enter the lymphatic and blood flows, then pass thorough vessel walls and in the new tissues form micrometastases and then macrometastases, which manifest clinically or imagistically [6, 8, 9]. The penetration of the lymphatic flow is usually the first step of systemic dissemination, but is not mandatory, since dissemination may be directly hematogenic [10]. Some authors consider that second tumor cell dissemination may occur from the macrometastases, but it is unclear if this is possible for the micrometastases as well [6, 11].

It is important to underscore that not all disseminated tumor cells end up producing metastases and not all micrometastasis become macrometastases. Conversely, most disseminated cells do not get to form macrometastases. Therefore, the presence of tumor cells disseminated in the blood/lymphatic flows is not a constant marker of a future metastasis or of an already existing one [12]. The survival of these cells in the blood flow, their development to micrometastases and ultimately macrometastases are limiting steps in the pathophysiology of metastases [8], and also barriers that tumor cells must overcome in order to allow the disease progression to a clinically evident phase. Transformation from micrometastases to macrometastases is a highly important control point, some metastases may persist in this stage and never arrive to be a clinically obvious metastatic disease [13]. Moreover, although they are clinically obvious only in 10-20% of patients

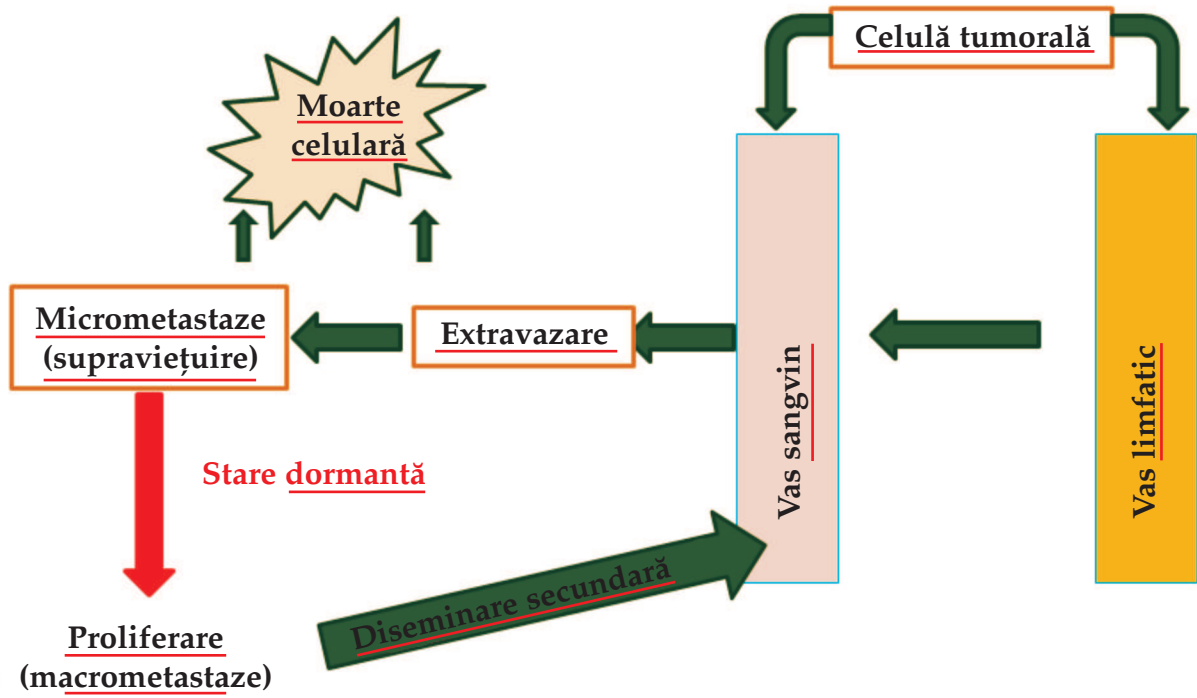


Fig. 2. Căile de metastazare (Adaptat după WE Damsky, N.T.a.M.B., Melanoma metastasis: new concepts and evolving paradigms. Oncogene 2014. 33: p. 2413-2422)

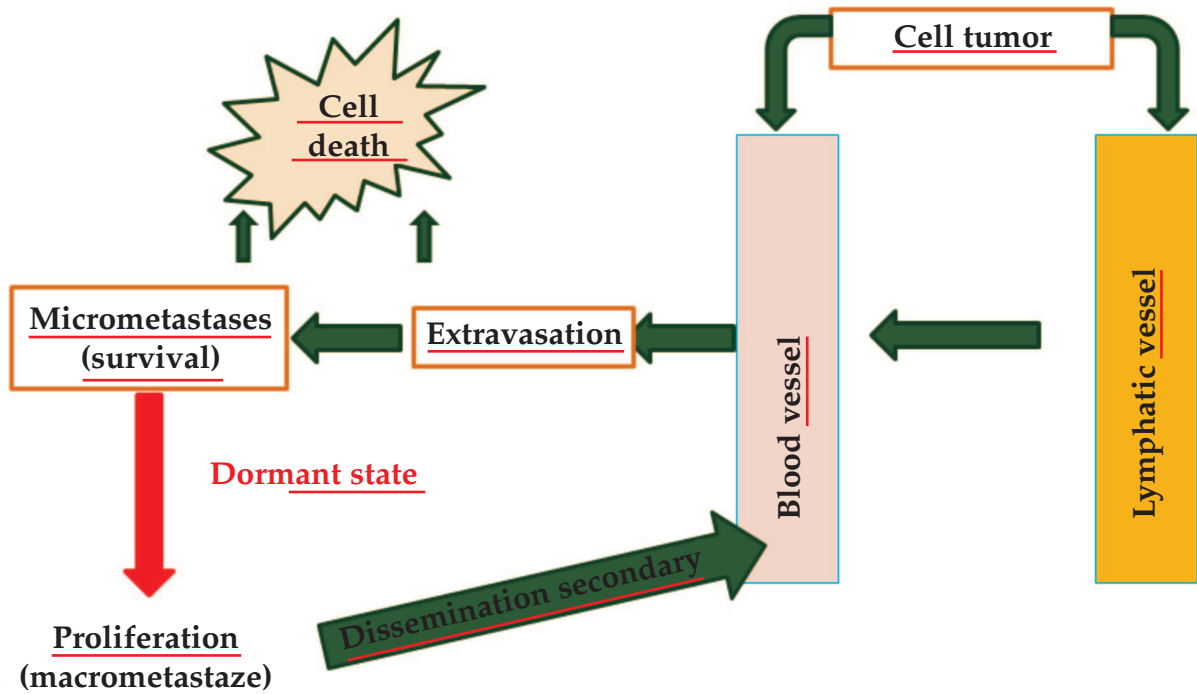


Fig. 2. Metastasis pathways (adapted after WE Damsky, N.T.a.M.B., Melanoma metastasis: new concepts and evolving paradigms. Oncogene 2014. 33: p. 2413-2422)



dintre acești pacienți la autopsie [13]. Mai mult, celulele tumorale diseminează în regiuni anatomice unde foarte rar se manifestă clinic, arătându-se astfel că boala metastatică afectează o proporție mult mai mare de pacienți cu melanom decât este evident din punct de vedere clinic [13, 14].

Se consideră că după diseminarea de la nivelul tumorii primare, celulele rămân într-o stare de dormanță metastatică, în care persistă într-o stare relativ nonproliferativă [6]. Mecanismele care dirijează starea dormantă și respectiv ieșirea din aceasta și reluarea profilului proliferativ nu sunt înțelese pe deplin, dar există mai multe ipoteze. Una dintre acestea pleacă de la premisa că celulele metastatice au o capacitate limitată de neoangiogeneză, restricționându-se astfel dezvoltarea tumorală [16]. Într-un al doilea model creșterea tumorală este constrânsă de factori extrinseci ai tumorii, cum este sistemul imun [17]. O a treia ipoteză presupune că există o nepotrivire intercelulară sau între celula tumorală și noua matrice, astfel stopându-se dezvoltarea tumorală în micromediul creat la distanță de tumora primară [15]. Acest concept al compatibilității dintre celulele tumorale diseminate și micromediul noului țesut gazdă are o importanță specială pentru înțelegerea procesului de metastazare, putând explica predispoziția observată în practică a anumitor tumori de a disemina predilect în anumite organe și nu în altele [18].

Conceptul de dormanță metastatică a celulelor a condus la dezvoltarea unui model nou de reprezentare a procesului de metastazare, acela al progresiei paralele a tumorilor și metastazelor. Acest model prevede o mai mare diferențiere între celulele metastatice și cele ale tumorii primare și presupune: continuarea evoluției celulelor metastazate în diverse situsuri, cu acumularea de modificări genetice și epigenetice în paralel și independent față de tumora primară. Această evoluție continuă are condiția ca celulele tumorale diseminate să depășească numeroasele obstacole în calea dezvoltării la distanță și să poată genera metastaze relevante clinic [19, 20].

with metastatic melanoma, hepatic metastases are present in 54-77% of these patients, in necropsy [13]. Moreover, tumor cells disseminate to anatomical regions where they rarely manifest clinically, thus showing that metastatic disease affects a larger portion of melanoma patients than is clinically obvious [13, 14].

It is admitted that after dissemination from the primary tumor, cells remain in a stage called metastatic dormancy [15], where they persist in a non-proliferative phase [6]. The mechanisms that direct this dormant state, the subsequent reactivation and the relay of the proliferative profile are not completely understood, but there are several hypotheses. The first states that metastatic cells are incapable of neoangiogenesis thus limiting tumor development [16]. In a second model, tumor growth is limited by extrinsic factors, such as the immune system [17]. A third hypothesis admits that there is a mismatch between tumor cells and the new matrix, thus limiting tumor development in the tumoral microenvironment [15]. This concept of disseminated tumor cells' compatibility and the microenvironment of the host tissue has a particular importance in understanding the metastases process in micrometastasis, being able to explain the propensity of some tumors to disseminate preferably to some organs and rather than others [18].

The concept of metastatic dormancy of the cells led to the development of a new model of the metastatic process, i.e. parallel progression of primary tumors and metastases. It anticipates a higher discrepancy between metastatic and primary tumor cells [19, 20] and implies: progress of metastatic cells in various sites, with accumulation of genetic and epigenetic changes parallel and independently from the primary tumor. This continuous evolution admits that disseminated tumor cells overcome the many obstacles for distant development and enable them to generate clinically relevant metastases [19, 20].

## 2. Factori implicați în procesul de metastazare în melanom

Melanomul este o tumoră cu un potențial de metastazare deosebit de înalt, susținut de capacitatea de migrare intrinsecă a melanocitului normal, de constelația antigenică comună cu structurile *self* vasculare, de capacitatea de neoangiogeneză pentru vase sangvine și limfatice, de capacitatea de a influența paracrin țesuturile gazdă pentru a stimula propria creștere precum și de plasticitatea antigenică, care face ca această tumoră, deși intens imunogenică, să eludeze constant sistemului imun al gazdei.

O serie de factori intrinseci intervin și direcționează aceste abilități ale celulelor de melanom, în diverse etape ale metastazării.

Melanomul are un bogat echipament de molecule de adeziune, care intervin în invadarea circulației sangvine și limfatice, supraviețuirea în fluxul sangvin, aderarea și extravazarea în țesuturi la distanță [21, 22], dar și în supraviețuirea celulară și rezistența la tratament. Constelațiile particulare de molecule de adeziune, cum ar fi MCAM/MUC18, L1-CAM, ALCAM, NCAM, N-cadherina, VCAM, ICAM, CEA-CAM, PECAM și VE-cadherina pot explica metastazarea predilectă a melanomului în anumite țesuturi (piele, ficat, plămân, creier etc.)

Melanomul are o capacitate crescută de neoangiogeneză, atât sangvină cât și limfatică, atât la nivel de tumoră primară cât și de metastaze la distanță, vasele de neoformație susținând hrănirea și dezvoltarea tumorii și conectarea sa rapidă la sistemul circulator și diseminarea. La aceasta contribuie capacitatea celulelor melanomatoase de a produce numeroase molecule proinflamatorii și proangiogenetice cum ar fi ligandul pentru IL-8, VEGFA (vascular endothelial growth factor A), VEGFC, bFGF (basic fibroblast factor), lipidele, PAF (platelet-activating factor) și LPA (lipid lysophosphatidic acid) [22-25].

Studii recente au pus în evidență capacitatea melanomului de a influența țesuturile la distanță, făcându-le mai « primitoare » pentru metastaze [22]. În urma transformării maligne, celulele tumorale recrutează celule inflamatorii, stromale și imune, supresându-le funcția citotoxică și inducându-le activități pro-proliferative și angiogenetice [26]. Se consideră că pregătirea

## 2. Factors implicated in the metastatic process of melanoma

Melanoma is a tumor with a high metastatic potential, sustained by the inner migration ability of the normal melanocyte, by the antigenic structure common to the *self* vascular structures, by the ability of neoangiogenesis for lymph and blood vessels, by the ability to impact host tissues with paracrine secretions, in order to stimulate their own growth as well as by the antigenic plasticity, which enables this tumor, although highly immunogenic, to constantly evade the host's immune system.

There is a series of factors which favor and influences melanoma cells' metastasis in different stages of metastasis.

Melanoma has a rich equipment of adhesion molecules, which intervene in the blood and lymph circulation invasion, survival in the blood flow, adhesion and extravasation to distant tissues [21, 22], but also in cell survival and treatment resistance. This particular cluster of adhesion molecules, such as MCAM/MUC18, L1-CAM, ALCAM, NCAM, N-cadherin, VCAM, ICAM, CEA-CAM, PECAM and VE-cadherin are able to explain the predilection of melanoma to metastasize to particular tissues (skin, liver, lung, brain etc.).

Melanoma has a high neoangiogenesis capacity, lymphatic as well as haematogenic, in both the primary tumor and the distance metastases, the newly formed vessels providing the necessary nutrition and tumor development and its hasty connection to the circulatory system and, afterwards, dissemination. Contributory to this are the proinflammatory and proangiogenetic molecules produced by melanomatous cells, such as IL-8 ligand, VEGFA (vascular endothelial growth factor A), VEGFC, bFGF (basic fibroblast factor), lipids, PAF (platelet-activating factor) and LPA (lipid lysophosphatidic acid) [22-25].

Recent studies have put forth the capacity of melanoma to influence remotely located tissues, rendering them more « welcoming » for metastases [22]. After malignant transformation,

pentru metastazare se realizează prin molecule excretate în circuitul sangvin de către celulele melanomatoase, asemănătoare modelului exotoxinelor bacteriene [27]. Aceste molecule sunt exportate în mediul extracelular, înglobate în microvezicule-exosomi, care le protejează în fluxul sangvin și au rolul de a pregăti «nișa pre-metastatică», înainte de migrarea celulelor metastatice propriu-zise. Studii recente [27] au pus în evidență rolul exosomilor de origine melanomatoasă în stimularea creșterii matricei extracelulare în țesuturile gazdă, pregătirea ganglionilor limfatici și amorsarea neolymphangiogenezei, recrutarea de celule derivate din măduva hematogenă cu rol adjuvant pentru creșterea tumorală [28].

Potențialul metastazant al melanomului este susținut de o serie de mutații genetice precum și de modificarea transcripției unor gene cu rol în supraviețuire, migrare și proliferare celulară. În urma cercetărilor recente, melanomul este considerat a fi cancerul uman cu cea mai înaltă rată de mutații genetice. Mutațiile studiate le includ pe cele mai frecvente cum ar fi BRAF, NRAS, PTEN, CDKN2A, dar și noi mutații cu rol de supresori tumorali sau de oncogene, cum ar fi GRIN2A [29], TRRAP [29], MAP3K5 [30], MAP3K9 [30], PREX2 [3], al căror rol în metastazare este în curs de elucidare.

În afară de mutațiile somatice, creșterea sau scăderea expresiei factorilor de transcripție cum ar fi CREB, AP-2a, ATF2, NFκB și MITF (microphthalmia-associated transcription factor) în diverse faze ale diseminării tumorale dirijează producția sau blocarea unui spectru larg de molecule cu rol cheie în tumorigeneză și metastazare [35-35].

Melanomul este o tumoră intens imunogenă pe de-o parte, iar pe de alta are capacitatea de a inhiba activitatea sistemului imun al gazdei. Mai mult, poate eluda acțiunea sistemului imun prin multiple mecanisme supresoare, de blocare sau de dereglare, ce permit dezvoltarea tumorală și ulterior metastazarea. Celula tumorală poate depăși punctele de control ale răspunsului imun prin exprimarea de CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4) și a liganzilor receptorului PD-1 (programmed cell death receptor) : PD-L 1 și PD-L2, ducând la scăderea activării limfocitelor T și respectiv la imunosupresie [36, 37]. Mutațiile

tumor cells recruit inflammatory, stromal and immune cells, suppressing their cytotoxic function and inducing pro-proliferative and angiogenic functions [26]. It is considered that the preparation for metastasis is accomplished via molecules excreted by melanomatous cells into the blood system, similar to the bacterial exotoxins model [27]. These molecules are exported into the extracellular environment, covered in microvesicles-exosomes that protect them from the blood flow and aim to prepare the «pre-metastatic niche», before the metastatic cells' migration. Recent studies [27] have underlined the role of exosomes of melanomatous origin in the simulation of the extracellular matrix of host tissues, the preparation of lymphatic nodes and the inducing of neolymphangiogenesis, recruiting of bone marrow-derived cells that aid in tumor development [28].

The metastatic potential of melanoma is backed up by a series of genetic mutations, as well as by the change in the transcription of certain genes implicated in cell survival, migration and proliferation. Following recent studies, melanoma is considered to be the cancer with the highest rate of genetic mutations. Mutations studied include the most frequently encountered genes like BRAF, NRAS, PTEN, CDKN2A, but also new mutations functioning as suppressor genes or oncogenes, such as GRIN2A [29], TRRAP [29], MAP3K5 [30], MAP3K9 [30], PREX2 [31], whose roles in metastasis are yet to be elucidated.

Apart from somatic mutations, the increase or decrease in the expression of transcription factors like CREB, AP-2a, ATF2, NFκB and MITF (microphthalmia-associated transcription factor) in distinct phases of tumor dissemination guide the production or inhibition of a large number of key-molecules in tumorigenesis and metastasis [32-35].

Melanoma is intensely immunogenic on one hand, and on the other has the capacity to downregulate the immune system of the host. Moreover, it can evade the immune system via



genetice sau inhibarea componentelor complexului major de histocompatibilitate tip 1 se corelează cu progresia tumorală, permițând celulei tumorale să se sustragă acțiunii limfocitelor T citotoxice CD8<sup>+</sup> [38]. În același timp, celulele dendritice prezentatoare de antigen au rolul de a activa sistemul imun adaptativ prin stimularea limfocitelor T citotoxice antigen-specifice, activitate inhibată, însă, de supra-stimularea limfocitelor T reglatoare din melanom. Supresia sistemului imun se mai poate produce datorită secreției unor molecule, precum TNF  $\alpha$ , TGF  $\beta$ , galectina-3, cu rol angiogenetic și pro-proliferativ. TGF  $\beta$  în mod particular inhibă activitatea sistemului imun prin supraactivarea limfocitelor T reglatoare și inhibarea celulelor dendritice prezentatoare de antigen [40, 41].

### 3. Căi de metastazare

Metastazarea în melanom se produce în mare parte, dar nu exclusiv (~80% din cazuri), pe cale limfatică, prin penetrare de vase limfatice și neoangiogenează limfatică [42]. Creșterea densității peritumorale de vase limfatice și prezența de vase limfatice intratumoral sunt markeri ai activării limfangiogenezei tumorale. S-a observat faptul că există o legătură între densitatea vaselor limfatice de la nivel tumoral și diseminarea tumorală ganglionară și viscerală. Astfel, cu cât este mai mare densitatea vaselor limfatice intra și peritumorale, cu atât este mai probabilă pătrunderea celulelor tumorale în circulația limfatică [42]. Diseminarea secundară se mai poate produce și pe cale hematogenă: celulele maligne se desprind din tumora primară, depășind matricea extracelulară, pătrund în torentul sanguin și se "acoperă" cu trombocite și leucocite pentru a evita acțiunea forțelor de forfecare din vas și a eluda acțiunea sistemului imun [43]. Această cale poate explica metastazarea observată în practică la nivel visceral, hepatic sau pulmonar, în absența metastazării obiectivabile la nivelul ganglionilor limfatici.

În mai mică proporție, metastazarea se poate produce și prin migrarea extravasculară de-a lungul unor structuri anatomice. În cea mai mare parte migrarea se produce de-a lungul nervilor (neurotropism), la nivelul suprafețelor externe ale vaselor sanguine și limfatice, de-a lungul

suppressor, blocking and disrupting mechanisms that allow tumor development and metastasis. The tumor cell can surpass the immune system checkpoint by expressing CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4) and ligands for PD-1 (programmed cell death receptor): PD-L 1 and PD-L 2, which leads to the decrease in activity of T-lymphocytes, and ultimately to immunosuppression [36, 37]. Genetic mutations and downregulation of type 1 major histocompatibility complex components correlates with tumor progression, permitting tumor cells to evade CD8<sup>+</sup> cytotoxic T-cells [38]. At the same time, antigen-presenting dendritic cells have the role of activating the adaptive immune system through stimulation of antigen-specific T-cells, role suppressed in melanoma through overstimulation of regulatory T cells [39]. A series of molecules may also induce immune system suppression like TNF  $\alpha$ , TGF  $\beta$ , galectina-3, having angiogenetic and pro-proliferative roles. Particularly, TGF  $\beta$  downregulates the immune system by means of over activating regulatory T cells and inhibiting antigen-presenting dendritic cells [40, 41].

### 3. Metastasis pathways

Metastasis spread in melanoma is produced through the lymphatic pathway (~80% of cases), but not solely, by passing through lymph vessel walls and lymphatic neoangiogenesis [42]. Peritumoral aggregation of lymph vessels and intratumoral lymph vessels are markers of tumor lymphatic angiogenesis activation. A connection was observed between the density of the tumoral lymphatic vessels and the nodal and visceral tumor dissemination. Thus, the higher intra and peritumoral lymph vessel density, the greater chance of lymphatic penetration and circulation of tumor cells [42]. Secondary dissemination may occur hematogenously: malignant cells detach from the primary tumor, pass through the extracellular matrix, access the blood flow, "cover" themselves with platelets and leukocytes in order to avoid the shearing forces of the vessels and evade the immune system [43]. This



*Fig. 3. Recurență locală la nivelul unei grefe (Fototeca clinicii de Dermatologie a Spitalului Universitar de Urgență ELIAS)*

*Fig. 3. Local recurrence on a skin graft (Photo library of the Dermatology clinic of the ELIAS University Emergency Hospital)*

anexelor pielii și a fasciilor și tendoanelor [44]. Studiile ultrastructurale au arătat că celulele maligne aderă la suprafețele externe ale vaselor de-a lungul cărora migrează, fără a intravaza [45, 46]. Mecanismul este aparent stimulat atât de neoangiogeneză cât și de neolimfangiogeneză, care cresc suprafața disponibilă pentru diseminare [44].

#### 4. Clasificare și prognostic

În funcție de localizarea și distanța față de tumora primară, metastazele cutanate se pot clasifica în recurențe locale, metastaze satelite, metastaze în tranzit sau la distanță.

Recurențele locale reprezintă reparația unei tumori la nivelul cicatricei post-chirurgicale, după o excizie incompletă (din punct de vedere clinic sau histopatologic) a tumorii și pentru acest motiv sunt din ce în ce mai rare. (Fig. 3) În ceea ce privește supraviețuirea acestor pacienți, aceasta este corespunzătoare tumorii primare [47]. Metastazele satelite sunt cele localizate la <2cm față de tumora primară. Metastazele în tranzit se localizează la >2cm față de tumora primară, dar înainte de bazinul limfatic loco-regional. Conform ultimei stadializări TNM a melanomului, propusă de AJCC în 2009 și în vigoare și în prezent, ambele tipuri corespund categoriei N2c în cazul în care nu există metastaze ganglionare sau categoriei N3 în prezența metastazelor ganglionare. În ceea ce privește

can explain the metastasis observed in practice at organ level, hepatic or pulmonary, in the absence of objective lymph node metastasis.

To a lower extent, metastasis may be produced through extravascular migration, along anatomical structures. Mostly, cells migrate along nerves (neurotropism), on the external surfaces of the lymphatic and blood vessels, along cutaneous adnexal structures, fascies and tendons [44]. Ultrastructural studies showed that malignant cells attach themselves to the external surfaces of the vessels along which they migrate, without penetrating [45, 46]. The mechanism is apparently stimulated by neoangiogenesis and neolymphangiogenesis, which increase the available surface for dissemination [44].

#### 4. Classification and prognosis

According to the location and the distance from the primary tumor, skin metastases can be classified in local recurrences, satellite metastases, in transit or distant metastases.

Local recurrences feature tumor reappearance at the surgical scar site, after an incomplete tumor excision (clinical or histopathological), thus becoming rare. (Fig. 3) Regarding patient survival, it is related solely to the primary tumor [47]. Satellite metastases are located at <2cm from the primary tumor. In transit metastases are located at > 2cm from the primary tumor, but before the loco-regional lymphatic draining station [48]. According to the most recent TNM classification, proposed by the AJCC in 2009, and effective presently, both types correspond to the N2c category if there are no lymph nodes metastases or to the N3 category, in the presence of lymph node metastases. Concerning staging, they rank in stages IIIB (N2c) and IIIC (N2c and N3). Satellite and in transit metastases associate an unfavorable prognosis equally, the 2 cm limit having no impact on prognosis [48]. According to AJCC 2009, survival for N2c at 5 and 10 years is 69%, 52% respectively, and survival for N3 at 5 and 10 years is 46%, 33% respectively [4]. Distant skin metastases are located further after the local lymphatic draining

stadializarea, acestea se încadrează stadiilor IIIB (N2c) și IIIC (N2c și N3). Metastazele satelite și cele în tranzit asociază un prognostic nefavorabil în aceeași măsură, limita de 2 cm neavând un impact asupra prognosticului [48]. Conform AJCC 2009, pentru N2c supraviețuirea la 5 și 10 ani este de 69%, respectiv 52%, iar pentru N3 supraviețuirea la 5 și 10 ani este de 46%, respectiv 33% [4]. Metastazele cutanate la distanță se localizează mai departe de bazinul limfatic loco-regional și se încadrează în stadiul IV. Corespund în clasificarea TNM categoriei M1a dacă concentrația plasmatică a LDH-ului este normală și M1c dacă este crescută. Pacienții care se prezintă doar cu metastaze cutanate la distanță au prognostic relativ mai bun față de cei cu metastaze viscerale (Tabel 1), deși diferența statistic semnificativă nu este suficientă pentru încadrarea în clase prognostice diferite, rata de supraviețuire rămânând redusă la aproximativ 30% la 5 ani, iar la 10 ani < 20% [4].

**Tabel 1. Supraviețuirea la 1, 5 și 10 ani a pacienților cu metastaze cutanate vs. metastaze viscerale conform AJCC 2009 . M1a-metastaze cutanate la distanță; M1b-metastaze pulmonare; M1c-alte metastaze viscerale cu LDH normal sau orice metastază la distanță cu LDH crescut.**

Categorie	M1a	M1b	M1c
Supraviețuire			
1 an	62%	53%	33%
5 ani	~28%	~18%	10%
10 ani	20%	~10%	<10%

### 5. Aspecte clinice, diagnostic diferențial și evoluție

Metastazele cutanate ale melanomului se pot localiza la nivelul oricărei regiuni anatomice, însă cu precădere la nivelul toracelui posterior la bărbați și membrelor inferioare la femei, aspect explicat de faptul că aproximativ 30% dintre determinările secundare cutanate se localizează în apropierea tumorii primare (Fig. 4, Fig. 5) [49]. Caracteristicile clinice ale leziunilor sunt extrem de variate: de la papule, noduli unici sau multipli până la placarde. Culoarea poate varia, astfel încât leziunile pot fi eritematoase, roșietice, brune, negre, amelanotice sau pot avea culoarea pielii. Uneori, deși tumora primară a fost pigmentată, metastazele sale pot fi amelanotice și invers. Metastazele sunt de obicei mobile față de

station and fall in stage IV. They rank in the M1a category in the TNM classification if the plasmatic LDH concentration is normal and M1c if it is increased. Patients presenting only with distant skin metastases have a better prognosis than the ones with organ metastases (Table 1), although the difference is not statistically significant, it is not enough for ranging in different prognosis classes, survival rate remaining low at approximately 30% at 5 years, and at 10 years < 20% [4].

**Table 1. Patients' survival at 1, 5 and 10 years, with skin vs organ metastasis, according to AJCC 2009 . M1a-distant skin metastases; M1b-pulmonary metastases; M1c- other organ metastases with normal LDH or any other distant metastasis with increased LDH.**

Category	M1a	M1b	M1c
Survival			
1 year	62%	53%	33%
5 years	~28%	~18%	10%
10 years	20%	~10%	<10%

### 5. Clinical aspects, differential diagnosis and evolution

Melanoma skin metastases can be located at any anatomic region, although the posterior aspect of the trunk in men and legs in women are predilect, since 30% of secondary skin determinations are located near the primary tumor (Fig. 4, Fig. 5) [49]. Clinical features are extremely variable: from papules, solitary or multiple nodules to plaques. The color may vary, lesions can be erythematous, reddish, brown, black, amelanotic or skin color. Sometimes, although the primary tumor was pigmented, its metastases may be amelanotic and vice-versa. Metastases are usually mobile on the lower planes, hard consistency, tending to ulcerate. (Fig. 6)

Other more rare aspects are erythematous plaques, inflammatory erysipeloid lesions, sclerodermoid lesions ("en cuirasse" metastases), telangiectatic papulo-vesicles, purpuric plaques that mimic vasculitis and neoplastic alopecia. Even more rare are the zosteriform metastases which consist of vesiculo-bulae with herpetiform



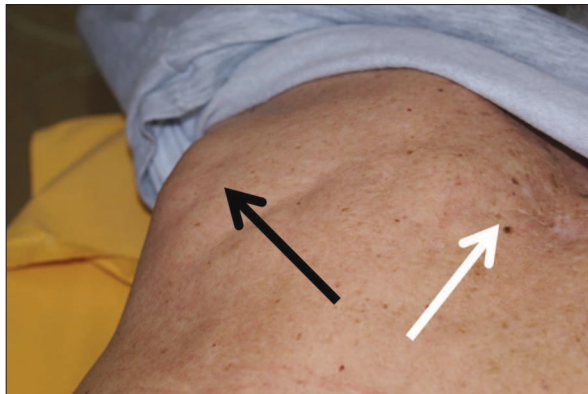


Fig. 4. Metastază în tranzit-săgeata neagră; Cicatrice post-excisională melanom primar- săgeată albă (Fototeca clinicii de Dermatologie a Spitalului Universitar de Urgență ELIAS)

Fig. 4. In transit metastasis - black arrow; Post-excisional scar of a primary melanoma-white arrow (Photo library of the Dermatology clinic of the ELIAS University Emergency Hospital)



Fig. 6. Metastaze cutanate sub formă de noduli multipli, bruni, ulcerati la nivelul hemiabdemenului drept (Fototeca clinicii de Dermatologie a Spitalului Universitar de Urgență ELIAS)

Fig. 6. Skin metastases: brown, ulcerated nodular lesions on the right hemiabdomen (Photo library of the Dermatology clinic of the ELIAS University Emergency Hospital)

planurile subiacente, de consistență dură, cu tendință la ulcerare. (Fig. 6)

Alte aspecte clinice mai puțin întâlnite sunt plăcile eritematoase, leziuni inflamatorii erizipelatoide, leziuni sclerodermoide (metastaze "en cuirasse"), papulo-vezicule telangiectazice, plăci purpurice ce mimează vasculita și alopecia neoplazică. Încă și mai rare sunt metastazele zosteriforme ce constau în veziculo-bule cu aspect herpetiform sau papule și noduli cu



Fig. 5. Metastaze în tranzit (Fototeca clinicii de Dermatologie a Spitalului Universitar de Urgență ELIAS)

Fig. 5. In transit metastases (Photo library of the Dermatology clinic of the ELIAS University Emergency Hospital)

appearance or papules and ranging along one or more dermatomes. In these cases clinical diagnosis may be challenging because metastases can mimic benign lesions [47].

Melanoma skin metastases are not symptomatic, although sometimes patients may have paresthesias or local pain, as a result of edema and tissular mechanical compression [47]. Musculo-nervous infiltration results in painful lesions, symptoms that are relatively difficult to control. Regarding local complications, most frequently encountered are local bleeding and infection, which may significantly affect the patient's quality of life.

Differential diagnosis includes numerous benign and malignant entities (Table 2). In 2-8% of melanoma patients, skin metastases may be the first form of clinical manifestation [50]. In these cases, the differential diagnosis is even more challenging. Among malignant lesions, the most important are the metastases of other malignant diseases and primary melanomas. Benign lesions which frequently mimic cutaneous metastases are: benign melanocytic lesions, blue nevus, hemangiomas and dermatofibroma.

Savoia et. al observed that the mean duration from a primary melanoma diagnosis to local and distant metastases occurrence is 1.3 and respectively 2.9 years [49]. Another observation

distribuție la nivelul unuia sau mai multor dermatoame. În aceste cazuri, diagnosticul clinic poate fi o provocare pentru că metastazele pot mima afecțiuni benigne [47]. Metastazele cutanate ale melanomului sunt în marea lor majoritate asimptomatice, deși uneori pacienții pot avea parestezii sau durere locală datorită edemului și compresiunii mecanice la nivel tisular [47]. În momentul infiltrării musculo-nervoase leziunile devin dureroase, simptomatologie relativ greu de controlat. În ceea ce privește complicațiile locale, cel mai frecvent întâlnite sunt sângerarea și suprainfecția ce pot afecta semnificativ calitatea vieții pacientului.

Diagnosticul diferențial include numeroase entități benigne și maligne (Tabel 2). La 2-8% dintre pacienții cu melanom, metastazele cutanate pot fi prima manifestare clinică [50]. În aceste cazuri, diagnosticul diferențial este cu atât mai provocator. Dintre afecțiunile maligne, cele mai importante de reținut sunt metastaze ale altor neoplazii și melanoamele primare. Afecțiunile benigne care mimează frecvent metastaze cutanate sunt: leziunile melanocitare benigne, nebul albastru, hemangioamele și dermatofibromul.

**Tabel 2. Diagnosticul diferențial al metastazelor cutanate ale melanomului [2, 50, 53]**

Formațiuni benigne	Formațiuni maligne
Leziuni melanocitare benigne	Metastaze ale altor neoplazii
Nev displazic	Melanom primar
Hemangiom	Angiosarcom
Nev albastru	Leiomiomasarcom
Dermatofibrom	Carcinom bazocelular
Herpes zoster	Fibroxanthomul atipic
Alopecia areata	Limfoame

Savoia et. al au observat faptul că durata medie de la diagnosticul unui melanom primar până la apariția metastazelor cutanate locoregionale și la distanță este de 1,3 și respectiv 2,9 ani [49]. O altă observație a fost că la 50% dintre pacienți pielea este regiunea predilectă pentru metastazarea melanomului, iar la 56% dintre aceștia metastazarea cutanată reprezintă primul semn al progresiei tumorale. Aproximativ 10% dintre pacienți prezintă concomitent metastaze la distanță, nodale și viscerale și foarte rar (3% din cazuri) dezvoltă metastaze cutanate

**Table 2. Differential diagnosis melanoma skin metastases [2, 50,53]**

Benign lesions	Malignant lesions
Benign melanocytic lesions	Metastases of other malignant diseases
Dysplastic nevus	Primary melanoma
Hemangioma	Angiosarcoma
Blue nevus	Leiomyosarcoma
Dermatofibroma	Basal cell carcinoma
Herpes zoster	Atypical fibroxanthoma
Alopecia areata	Lymphomas

was that in 50% of the patients skin was the preferred site for melanoma metastases, and that in 56% of them skin metastases represents the first sign of tumor progression. Approximately 10% of the patients have simultaneous distant metastases, nodal and visceral and very rarely (3% of the cases) develop skin metastases after organ dissemination [49]. Of note is the fact that satellite or in transit skin metastases occur relatively early in disease evolution, but have a slower progression until visceral metastases. Vice-versa, in patients who develop distant metastases, the disease-free duration until lesion occurrence is longer, but time to organ dissemination shortens [47].

## 6. Dermatoscopic diagnosis

Melanoma skin metastases do not have a pathognomonic dermatoscopic aspect, but rather several particular models are found in certain benign or malignant lesions, to a variable extent [50-52].

The homogenous pattern consists of a diffuse pigmentation, without any other structures, either red, brown or blue. The brown homogenous aspect may mimic an atypical nevus. This aspect may also be encountered in a blue nevus, melanoma or hemangioma [50].

The sacular pattern is specific to malignant lesions, but may be encountered in basal cell carcinomas, hemangiomas and Clark nevi as well. The sacular aspect is the result of oval nests of atypical melanocytes, at the dermo-epidermic junction. It also has color variations which show the degree of neoangiogenesis and the quantity of melanin pigment produced by the atypical cells invading the epidermic layers chaotically.



după diseminarea viscerală [49]. De remarcat este faptul că metastazele cutanate satelite sau în tranzit apar relativ precoce în evoluția bolii, dar au o progresie mai lentă până la apariția metastazelor viscerale. Invers, în cazul pacienților care dezvoltă întâi metastaze la distanță, durata liberă de boală până la apariția acestora este mai lungă, însă se scurtează durata de timp până la diseminarea viscerală [47].

## 6. Diagnostic dermatoscopic

Metastazele cutanate ale melanomului nu au un aspect dermatoscopic patognomic, ci mai mult anumite modele care se regăsesc și în anumite leziuni benigne sau maligne în diverse proporții [50-52].

Modelul omogen se caracterizează prin pigmentare difuză, fără alte structuri, de culoare roșie, brună sau albastră. Aspectul brun omogen poate mima un nev atipic. Acest aspect poate fi întâlnit și la nevil albastru, melanom sau hemangiom [50].

Modelul sacular este un aspect relativ specific leziunilor maligne, dar poate fi întâlnit și în carcinomul bazocelular, hemangioame și nevi Clark. Aspectul sacular se datorează cuiburilor ovalare de melanocite atipice de la nivelul joncțiunii dermo-epidermice. Prezintă, de asemenea, variații de culoare care reprezintă nivelul de neoangiogeneză și cantității de pigment melanic produs de celulele atipice care invadează straturile epidermice în mod haotic. Hemangioamele pun frecvent probleme de diagnostic diferențial din cauza lacunelor vasculare similare aspectului sacular, ambele având culoare uniformă și margini bine delimitate. Alte leziuni care pot avea acest aspect dermatoscopic sunt nevil albastru și carcinomul bazocelular [50, 51].

Modelul amelanotic este întâlnit la 32% dintre metastazele cutanate ale melanomului. Nu prezintă caracteristici dermatoscopice remarcabile din cauza localizării dermale a leziunii și absenței pigmentului. Prezintă vase serpiginoase, cu aspect de ac de păr, tirbușon, arborizate, punctate și zone alb-lăptoase. Uneori se pot observa și lacune vasculare, slab delimitate, cu vase în ac de păr și serpiginoase. Diagnosticul diferențial se poate face cu melanomul și nevil albastru [50, 52].

Modelul vascular este cel mai frecvent întâlnit la metastazele cutanate ale melanomului (53%). Caracteristicile prezente în acest model sunt corelate cu grosimea tumorală. Astfel, vasele

Hemangiomas frequently pose differential diagnosis problems as a result of vascular lacunae similar to the saccular aspect, both having a uniform color and well defined margins. Other lesions that can have the same dermatoscopic aspect are the blue nevus and basal cell carcinoma [50, 52].

The amelanotic pattern is encountered in 32% of cutaneous metastases. It does not have remarkable dermatoscopic characteristics because of the dermal localization and the absence of pigment. It has serpiginous, hair pin,, branching and dotted vessels and milky-white areas. Sometimes, poorly delimited vascular lacunae, with hair pin and serpiginous vessels may be observed. The differential diagnosis includes melanoma and blue nevus [51, 52].

The vascular pattern is the most frequently encountered in melanoma skin metastases (53%). The characteristics of this model are correlated with tumor thickness. Thus, dotted vessels correspond to thin tumors, whereas corkscrew vessels correspond to the thick tumors. Corkscrew vessels are characteristic for the melanoma skin metastases (83%). This pattern is more often seen in metastases rather than primary melanomas because of neoangiogenesis typical to tumoral progression and dissemination. A clue to differentiating primary melanomas from melanoma metastases, from a vascular point of view, is that vessels are located at the center of the primary tumor, whereas in metastases they are located peripherally. The differential diagnosis includes hemangiomas, primary melanomas and blue nevi.

The polymorphic pattern encompasses various dermatoscopic structures with an irregular arrangement; this aspect is also present in other benign or malignant lesions, like pyogenic granuloma and melanoma [50].

Other aspects that may indicate the presence of a skin metastasis are a reddish color suggesting neoangiogenesis, peripheral grey globules, which are the result of melanin particles from the melanophages, or distributed at in the dermis, more rarely perilesional erythema, resulted from

punctate sunt corespunzătoare tumorilor subțiri, iar cele cu aspect de tirbușon, tumorilor groase. Vasele cu aspect de tirbușon sunt caracteristice metastazelor cutanate ale melanomului (83%). Este un aspect mult mai întâlnit în metastazele cutanate decât în melanoamele primare prin prisma neoangiogenezei tipice progresiei și diseminării tumorale. Un indiciu pentru a diferenția din punctul de vedere al vascularizației melanoamele primare de metastazele cutanate este faptul că în tumorile primare vasele sunt dispuse în principal central, iar în metastaze vasele sunt dispuse periferic. Diagnosticul diferențial include hemangioamele, melanoamele primare, nevi albaștri [5, 51].

În modelul polimorf structurile dermatoscopice variate sunt dispuse neregulat, aspect prezent și în alte leziuni benigne sau maligne, cum ar fi granulomul piogen și melanomul [50].

Alte aspecte care ar putea indica diagnosticul de metastază sunt culoarea roșiatică, ce sugerează neoangiogeneza, globulii gri periferici, datorati particulelor de melanină din melanofage sau distribuite la nivelul dermului, eritemul perilezional, întâlnit mai rar și datorat vascularizației polimorfe, și haloul pigmentar (40% din cazuri) dispus asimetric [50].

### **7. Diagnostic histopatologic și imunohistochimic**

Examenul histopatologic urmărește în principal diferențierea metastazelor cutanate de un melanom primar, în majoritatea cazurilor, sau de un nev albastru, un carcinom bazocelular sau un hemangiom, precum și de metastazele cutanate ale altor neoplazii. Metastazele cutanate ale melanomului au câteva caracteristici-cheie care le diferențiază de melanoamele primare: nu prezintă epidermotropism sau acesta este limitat la straturile imediat supraiacente, nu prezintă reacție inflamatorie, iar epidermul periferic este de obicei hiperplazic [53]. De asemenea, un alt indiciu este faptul că metastazele cutanate se localizează la nivel dermic sau subcutanat, cu marcată invazie limfatică și angiotropism. Nu prezintă zone de regresie și foarte rar se localizează în preajma unui nev [53]. Uneori metastaza cutanată poate mima și histopatologic un nev albastru, ceea ce poate face diagnosticul foarte dificil. Spre deosebire de acesta, metastaza cutanată prezintă însă melanocite atipice în dermul reticular, melanofage, atipii nucleare, mitoze și un aspect general de pleomorfism structural [54, 55].

polymorphic vascularization and pigmented halo (40% of the cases) placed asymmetrically [50].

### **7. Histopathological and immunohistochemical diagnosis**

The histopathological exam aims mainly to differentiate the skin metastases from a primary melanoma or from a blue nevus, a basal cell carcinoma or a hemangioma, as well as from skin metastases of other malignant diseases. Skin metastases have a few key aspects which distinguish them from primary melanomas: they lack epidermotropism, or if present, it is limited to the immediately overimposed layers, lack inflammatory reaction and the peripheral epidermis is usually hyperplastic [53]. Another sign is the fact that skin metastases be located in the dermis or subcutaneous tissue, with marked lymphatic invasion and angiotropism. They do not have regression areas and are very rarely located to close to a nevus [53]. Sometimes skin metastases may histopathologically mimic a blue nevus which renders the diagnosis very difficult. Unlike the blue nevus, skin metastases have atypical melanocytes in the reticular dermis, melanophages, atypical nuclei, mitoses and a general pleomorphic aspect [54, 55].

As a result of a difficult histopathological diagnosis, immunohistochemistry can be used, especially in the cases in which the primary tumor is unknown. Immunohistochemistry aims to confirm the melanocytic nature of a lesion on one side, and on the other to discern skin metastasis from a primary melanoma. Confirmation of the melanocytic nature is done by markers S100, Melan-A/MART-1 (melanoma antigen recognized by T cells 1) and HMB-45 (Human melanoma black-45) [56]. One of the differences between the primary melanoma and skin metastases is the fact that ultimately they may lose their marker C117/c-kit (encountered in normal melanocytes, melanocytic nevi, in situ melanomas and in the radial growth phase of melanomas being present in only 4% of melanoma skin metastases [54]. Mutant p53 protein (tumor suppression protein) is

În cazul dificultăților de diagnostic histopatologic se poate apela la imunohistochimie, mai ales în cazurile în care nu se cunoaște tumora primară. Scopul imunohistochimiei este de a confirma natura melanocitară a leziunii, pe de o parte, iar pe de alta de a diferenția metastaza cutanată de un melanom primar. Confirmarea naturii melanocitare se face cu ajutorul markerilor S100, Melan-A/MART-1 (melanoma antigen recognized by T cells 1) și HMB-45 (Human melanoma black-45) [56]. Una dintre diferențele imunohistochimice dintre melanomul primar și metastazele cutanate este faptul că cele din urmă își pot pierde markerul C117/c-kit (întâlnit la melanocitele normale, nevii melanocitari, melanoamele in situ și melanoamele în faza de creștere radială), acesta fiind prezent doar la 4% dintre metastazele cutanate ale melanomului. Proteina p53 (proteină de supresie tumorală) mutantă este întâlnită frecvent în melanoamele aflate în faza de creștere verticală, respectiv când celulele tumorale au căpătat potențial metastatic, și în metastazele cutanate (54%) și foarte rar în faza de creștere radială (9%) [54]. Un alt marker pentru proliferare este PCNA (proliferating cell nuclear antigen), cofactor prezent în toate fazele de diviziune celulară. Este prezent deopotrivă în determinările secundare (89%), dar și într-o proporție mare în tumorile primare (50%) [54].

### 8. Principii de tratament

Alegerea modalității de tratament depinde de numeroși factori: localizarea, numărul leziunilor, prezența afectării sistemice, vârsta pacientului și comorbiditățile acestuia. Diferențele de prognostic dintre pacienții cu afectare loco-regională și cei cu metastaze la distanță justifică abordările terapeutice diferite. În cazurile în care metastazele cutanate sunt singura manifestare a bolii, tratamentul lor are rol curativ. În celelalte cazuri, principalele obiective ale tratamentului metastazelor cutanate sunt paliatia, mai ales pentru leziunile care produc impotență funcțională, prevenția complicațiilor locale ca sângerarea, distrugerea locală tisulară sau suprainfecția, și pentru îmbunătățirea aspectului cosmetic și a calității vieții [47].

Tratamentul chirurgical rămâne standardul de aur și totodată tratamentul cel mai eficient pentru afectarea limitată, respectiv leziuni de mici dimensiuni, grupate pe o suprafață de mici dimensiuni. Excizia se produce macroscopic, fără a necesita margini de siguranță corespunzătoare grosimii tumorale [47, 57]. Are un nivel de morbiditate acceptabil. Sunt preferabile sutura

encountered in melanomas in the vertical growth phase, i.e. when the tumor cells has metastatic potential, and in skin metastases (54%) and seldom in the radial growth phase (9%) [54]. Another proliferation marker is PCNA (proliferating cell nuclear antigen), a cofactor present in all division cell phases. It is present in secondary determinations (89%), as well as in primary tumors, in a high proportion (50%) [54].

### 8. Treatment options

Treatment choice depends on numerous factors: location, number of lesions, systemic involvement, patient age and comorbidities. Prognosis differences between patients with local and regional involvement and those with distant metastases explain different therapeutic approaches. In the cases in which skin metastases are the only manifestation of the disease, treatment has a curative role. In other cases, treatment mainly aims palliation, especially for the lesions which produce functional impairment, complications like bleeding, local tissue destruction or infection, and cosmetic and quality of life improvement [47].

Surgical treatment remains the gold standard and there with most effective for the limited impairment, i. e. small lesions, grouped on a small surface. The excision is done macroscopically, with no need of security margins corresponding to tumor thickness [47, 57]. It has an acceptable morbidity level. Direct suture and graft are preferred, because local reconstruction with flap alters the local lymphatic flow. The amputation may be taken into account only in case of high intensity pain, ulcerative and necrotic lesions and important bleeding [57].

Isolated limb perfusion (ILP) or infusion (ILI) [58] are two options useful in lesions located on an extremity and that cannot be surgically removed. The patient is submitted to an extracorporeal circulation on the affected extremity (with or without mild hyperthermia), followed with the administration of a cytotoxic agent for 30 (ILI) or 60 minutes (ILP). The extracorporeal circulation allows for the

directă și grefa, deoarece reconstrucția locală cu lambou modifică circulația limfatică locală. Amputația se poate lua în calcul doar în cazul leziunilor cu dureri de mare intensitate, ulceronecrotice sau cu sângerări mari cantitativ [57].

Perfuzia (ILP-isolated limb perfusion) sau infuzia (ILI-isolated limb infusion) [58] extremității izolate sunt două opțiuni terapeutice utile pentru metastazele localizate la nivelul unei extremități care nu pot fi rezecate chirurgical. Se realizează o circulație extracorporeală la nivelul extremității afectate (cu sau fără hipertermie locală ușoară), urmată de administrarea unui agent citotoxic timp de 30 (ILI) sau 60 minute (ILP). Circulația extracorporeală permite administrarea de doze de agenți citotoxici chiar și de 10 ori mai mari față de doza sistemică tolerabilă. Cel mai frecvent agent citotoxic utilizat este melphalanul cu sau fără administrare de TNF alpha. Rolul TNF alpha este de a afecta microvascularizația tumorală, ducând la ischemie. Hipertermia (39-41°C pentru ILP și 37-40°C pentru ILI) produce vasodilatație și crește efectul citotoxic al agenților folosiți. Dozele de melphalan utilizate sunt 10 mg/L volum pentru membrele inferioare și 13 mg/L volum pentru membrele superioare. Alți agenți citotoxici folosiți sunt dacarbazina și dactinomycin. ILP necesită anestezie generală, însă ILI este utilizată cu anestezie locală. Efectele secundare cutanate pot varia de la eritem ușor până la inflamația țesuturilor profunde, neuropatie, durere și edem. Efectele sistemice întâlnite sunt greața, vărsăturile și supresia medulară ușoară, dar sunt relativ rare. Aceste metode nu prelungesc speranța de viață. Vârsta nu reprezintă o contraindicație pentru aceste terapii. Rata generală de răspuns terapeutic este de 84% pentru ILI și până la 90% pentru ILP. ILI nu are aceeași eficacitate ca și ILP, însă este mai bine tolerată și se asociază cu o morbiditate mai scăzută față de ILP [62].

Electrochimioterapia este o metodă dezvoltată recent, prin care, sub anestezie locală sau sedare ușoară, se administrează intravenos bleomicină sau cisplatină [63], urmată de aplicarea de impulsuri electrice la nivel tumoral, în momentul în care concentrația tisulară a agenților citotoxici este maximă. Rolul impulsurilor electrice este de a permeabiliza membrana celulei tumorale și a permite pătrunderea macromoleculilor cito-toxice. Are toxicitate sistemică minimă și este bine tolerată de pacienții cu comorbidități importante. Are avantajul că poate fi utilizată atât pe metastaze

administration of cytotoxic agents in as high as 10 times the tolerable systemic dose. Most often melphalan is used with or without TNF alpha. The role of TNF alpha is to affect tumoral microvascularization, leading to ischemia [59]. Hyperthermia (39-41°C for ILP and 37-40°C for ILI) leads to vasodilatation and increases the cytotoxic effect of the used agents [47, 57, 60, 61]. Melphalan doses used are 10mg/L volume for the lower limbs and 13 mg/L volume for the upper limbs. Other cytotoxic agents used are dacarbazine and dactinomycin. ILP requires general anesthesia, whereas ILI only requires local anesthesia. Secondary side-effects may vary from mild erythema to deep tissue inflammation, neuropathy, pain and edema. Systemic side-effects include nausea, vomiting and mild medular suppression, but are rather rare. These therapies do not prolong lengthen life expectancy. Age is not a restriction for these therapies. The general response rate for ILI is 84% and 90% for ILP [47, 57, 61]. ILI does not have the same efficacy as ILP, but better tolerated and has a lower morbidity rate than ILP [62].

Electrochemotherapy is a recently developed method [59], where, under local anesthesia or mild sedation, patients receive bleomycin or cisplatin intravenously [63], followed by the application of electric impulses at the tumor level, when cytotoxic agents' level reach a maximum concentration. The role of electric impulses is to increase cell membrane permeability and to allow the cytotoxic macromolecules to enter the cell. It has a minimum systemic toxicity and is well tolerated by patients with important comorbidities. It also has the advantage that it can be used on new metastases, as well as older lesions with partial remission. Secondary side-effects are local erythema and edema, superficial erosions and scars [64]. It has a 53-89% response rate [47].

Other possible therapeutic options are laser therapies. Pulse Dye Laser (PDL) with or without Imiquimod leads to the photocoagulation of tumor vessels. Imiquimod increases the local



noi, cât și pe leziuni mai vechi, cu remisiune parțială. Efectele secundare ale acestei terapii sunt eritemul și edemul local, eroziunile superficiale și cicatricele [64]. Are o rată de răspuns terapeutic de 53-89% [47].

Alte variante posibile sunt terapiile laser. Laserul PDL (Pulse Dye Laser) cu sau fără administrare de Imiquimod, produce o foto-coagulare a vascularizației tumorale. Imiquimodul are rolul de a crește răspunsul inflamator local produs de PDL și imunitatea antitumorală. Crește semnificativ calitatea vieții, mai ales în cazul leziunilor extinse, sângerânde. Laserul CO<sub>2</sub> este util leziunilor de dimensiuni mici < 2 cm, superficiale. Este o terapie minim invazivă, fără ca defectul rezultat să necesite o intervenție chirurgicală [47, 66, 67].

Crioterapia este o tehnică trecută în plan secund după introducerea ablației laser și a electrochimioterapiei. Se utilizează spray cu azot (-50- -60°C) în vederea distrugerii tisulare directe [47].

Radioterapia este rezervată paliatiei. Este utilizată pentru leziunile simptomatice, incurabile, care nu pot fi controlate chirurgical. Unele studii au arătat o durată mai lungă a perioadei libere de boală și creșterea supraviețuirii la pacienții radiotratați, deși rata de răspuns complet este mică, iar radioterapia nu previne apariția metastazelor la distanță, [57, 68].

Dintre terapiile intralezionale, în trecut a fost utilizată injectarea BCG (bacilul Calmette-Guérin) la nivel lezional, având scopul de a induce un răspuns imun sistemic. A fost introdusă de Morton și colegii în 1974, când studiul publicat de aceștia a arătat o regresie a 90% dintre leziunile injectate, dar și o regresie spontană a 17% dintre leziunile martor. Din cauza infecțiilor sistemice, a reacțiilor cutanate și anafilaxiilor este folosit astăzi foarte rar [2][47]. Interleukina 2 este acceptată ca terapie intralezională, cu un nivel de toxicitate mai bun decât BCG-ul. Pot fi întâlnite reacții cutanate adverse, dar efectele secundare sistemice sunt minime. Este o terapie costisitoare, consumatoare de timp, necesitând multiple administrări săptămânale pentru rezultate favorabile. Nu produce răspuns imun sistemic [57]. Alte variante terapeutice în urma cărora se obțin rezultate locale bune sunt: Interferonul gamma și alpha și diphenciprona, fără a produce răspuns imun sistemic. Talimogene Laherparepvec (T-vec) este un virus herpes simplex modificat pentru a se replica selectiv în celulele tumorale, stimulând și producția de GM-CSF. Terapia

inflammatory response produced by PDL and the antitumoral immunity. It significantly increases quality of life, especially in bleeding extensive lesions [65]. The CO<sub>2</sub> laser can be used for superficial lesions, smaller than 2 cm. It is a minimally invasive therapy that doesn't require a surgical intervention [47, 66, 67].

Cryotherapy has become a second-line treatment after the introduction of laser ablation and electrochemotherapy. This technique requires the use of nitrogen spray (-50- -60°C) for direct local tissue destruction [47].

Radiotherapy is reserved for palliation. It is used for incurable, symptomatic lesions that cannot be controlled surgically. Some studies have showed a longer disease-free period and an increase in patient survival in patients who received radiotherapy, although the response rate is low, and radiotherapy does not prevent distant metastases development [57, 68].

Among intralesional therapies, intralesional BCG (Calmette-Guérin bacillus) injections were used, aiming at increasing the immune response rate. It was first introduced by Morton et. al. in 1974, when their study showed a 90% regression of injected lesion, and also a spontaneous regression of 17% of control lesions. Because of systemic infections, cutaneous reactions and anaphylaxis it is rarely used today [2, 47]. Interleukin-2 is widely accepted as an intralesional therapy, with a better toxicity profile than BCG. However, it is rather expensive, time-consuming, and requires multiple weekly administrations for favorable results. It does not produce a systemic response [57]. Other options with good local results are gamma and alpha interferon and diphenciprone, without producing a systemic response. Talimogene Laherparepvec (T-vec) is an injectable herpes simplex virus, modified in order to selectively replicate in tumor cells, also stimulating GM-CSF production. Intralesional therapy with T-vec leads to tumoral regression of injected lesions, but also of control lesion, probably generating a systemic antitumoral immune response. It was studied in phase II and III trials, phase II showing a tumoral regression maintenance between 7 and 31 months. Side-effects are flu-like symptoms (fever, chills and fatigue) [57]. PV-10/Rose Bengal



intralezională cu T-vec poate produce regresie tumorală a leziunilor injectate, dar și a unora dintre leziunile la distanță, posibil prin generarea unui răspuns imun antitumoral sistemic. A fost studiat în trialuri de fază II și III, observându-se în faza II o menținere a regresiei tumorale cuprinsă între 7 și 31 de luni. Reacțiile adverse înregistrate sunt pseudo-gripale (febră, frison și fatigabilitate) [57]. PV-10/Rose Bengal a fost utilizat de mult timp pentru evaluarea funcției hepatice. Este studiat ca o soluție injectabilă 10% pentru metastazele melanomului, cu scopul obținerii unui răspuns antitumoral sistemic, aflându-se în momentul de față în trialuri de fază III. În trialurile de fază I și II s-a observat o regresie tumorală pe termen lung, cu toxicitate sistemică minimă [47, 57].

Terapiile sistemice pot fi folosite la pacienții care nu au răspuns sau nu au fost eligibili pentru tratamentele locale (cu afectare cutanată extinsă). Terapiile disponibile astăzi includ terapia țintită cu inhibitori ai MAP Kinazelor la melanoamele cu mutații ale BRAF (Vemurafenib, Dabrafenib, Trametinib) [69, 70] și imunoterapia adresată moleculelor cu rol de check-point al răspunsului imun cum ar fi CTL4 (Ipilimumab) [71], PD1 și PD1-L (Nivolumab, Pembrolizumab) [72, 73]. Acestea pot fi utilizate în funcție de caracteristicile fiecărui pacient, la cei cu boală metastatică progresivă, nerespensivă la celelalte terapii loco-regionale sau ca terapii de primă linie în cazul coexistenței de metastaze viscerale.

## Concluzii

Metastazele cutanate ale melanomului sunt un fenomen întâlnit frecvent în istoria naturală a bolii, cu un prognostic mai bun decât cel al metastazelor viscerale. Diagnosticul lor precoce poate îmbunătăți supraviețuirea pacienților. Pun frecvent probleme de diagnostic diferențial, atât clinic, cât și dermatoscopic și histopatologic, implicând numeroase entități benigne și maligne. Prezența metastazelor poate fi uneori debilitantă, cu leziuni ulcerative, sângerânde, care produc impotență funcțională și afectează calitatea vieții pacienților. Există numeroase opțiuni pentru managementul acestor leziuni disponibile la momentul actual, cu rate satisfăcătoare de răspuns terapeutic, care însă totdeauna trebuie să ia în considerare extensia bolii, caracteristicile pacientului și comorbiditățile acestuia.

was used in liver function studies. It is a 10% injectable solution used for melanoma skin metastases that aims to obtain a systemic antitumoral response, currently in phase III trials. Phases I and II noticed a long term tumoral regression, with minimal systemic toxicity [47, 57].

Systemic therapies can be used in patients that were unresponsive or not eligible for local therapies (with extensive cutaneous lesions). Available therapies include target therapies o MAP Kinases in melanoma with BRAF mutations (Vemurafenib, Dabrafenib, Trametinib) [69, 70] and immunotherapy for immune system check-point molecules like CTL4 (Ipilimumab) [71], PD1 and PD1-L (Nivolumab, Pembrolizumab) [72, 73]. They can be used according to patient characteristics, for patients with extensive metastatic disease, unresponsive to other loco-regional therapies or as first-line therapies in patients with concomitant visceral metastases [57].

## Conclusions

Melanoma skin metastases are a frequent event in the disease's natural history, with a better prognosis than visceral metastases. Early diagnosis can improve patient survival. They frequently raise differential diagnosis issues, dermatoscopical as well as histopathological, involving both benign and malignant entities. Metastases may sometimes be a debilitating disease, with bleeding, ulcerated lesions that lead to functional impairment and that affect patient quality of life. There are numerous therapeutic options available for the management of these lesions, with satisfactory response rates, but that must always take into account the disease extension, patient characteristics and comorbidities must always be taken into account.

## Bibliografie/Bibliography

1. Leiter U, E.T., Garbe C., *Epidemiology of skin cancer*. Adv Exp Med Biol., 2014. **810**: p. 120-40.
2. Kurtis B. Reed, R.H.C.-N., and Jerry D. Brewer, *The cutaneous manifestations of metastatic malignant melanoma*. International Journal of Dermatology, 2012. **51**: p. 243–249.
3. Lookingbill DP, S.N., Helm KF, *Cutaneous metastases in patients with metastatic carcinoma: a retrospective study of 4020 patients*. J Am Acad Dermatol, 1993. **29**: p. 228–236.
4. Charles M. Balch, J.E.G., Seng-jaw Soong, *Final Version of 2009 AJCC Melanoma Staging and Classification*. J Clin Oncol, 2009 **27(36)**: p. 6199–6206.
5. Bedrosian I, F.M., Guerry Dt, Elenitsas R, Schuchter L, Mick R et al. , *Incidence of sentinel node metastasis in patients with thin primary melanoma ( $\leq 1$  mm) with vertical growth phase*. Ann Surg Oncol 2000. **7**: p. 262–267.
6. WE Damsky, N.T.a.M.B., *Melanoma metastasis: new concepts and evolving paradigms*. Oncogene 2014. **33**: p. 2413–2422.
7. Bautista NC, C.S., Anders KH, *Benign melanocytic nevus cells in axillary lymph nodes. A prospective incidence and immunohistochemical study with literature review* Am J Clin Pathol, 1994. **102**: p. 102–108.
8. Kienast Y, v.B.L., Fuhrmann M, Klinkert WE, Goldbrunner R, Herms J et al, *Real-time imaging reveals the single steps of brain metastasis formation*. Nat Med, 2010. **16**: p. 116–122.
9. Ian C. MacDonald, A.C.G.a.A.F.C., *Cancer spread and micrometastasis development: Quantitative approaches for in vivo models*. BioEssays, 2002. **24(10)**: p. 885–893.
10. JD Shields, M.B., H Rigby, SJ Harper, PS Mortimer, JR Levick, A Orlando and DO Bates, *Lymphatic density and metastatic spread in human malignant melanoma*. British Journal of Cancer, 2004. **90**: p. 693 – 700.
11. Luzzi KJ, M.I., Schmidt EE, Kerkvliet N, Morris VL, Chambers AF et al., *Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases*. Am J Pathol, 1998. **153**: p. 865–873.
12. IJ, F., *Metastasis: quantitative analysis of distribution and fate of tumor embolilabeled with 125 I-5-iodo-20-deoxyuridine*. J Natl Cancer Inst, 1970. **45**: p. 773–782.
13. Patel JK, D.M., Pickren JW, Moore RH, *Metastatic pattern of malignant melanoma. A study of 216 autopsy cases*. Am J Surg 1978. **135**: p. 807–810.
14. Schon CA, G.C., Ramaswamy A, Barth PJ, *Splenic metastases in a large unselected autopsy series*. Pathol Res Pract, 2006. **202**: p. 351–356.
15. Ossowski L, A.-G.J., *Dormancy of metastatic melanoma*. Pigment Cell Melanoma Res, 2010. **23**: p. 41–56.
16. J, F., *Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis*. Semin Oncol 2002. **29(6 Suppl 16)**: p. 15–18.
17. Eyles J, P.A., Wang X, Toh B, Prakash C, Hong M et al, *Tumor cells disseminate early, but immunosurveillance limits metastatic outgrowth, in a mouse model of melanoma*. J Clin Invest, 2010. **120**: p. 2030–2039.
18. Balch CM, H.A., Sober AJ, Soong SJ., *Cutaneous Melanoma, 4th edn*. 2003, Quality Medical Publishing, St Louis, MO, USA.
19. Klein, C.A., *Parallel progression of primary tumours and metastases*. Nature Reviews, Cancer, 2009. **9**.
20. Klein, N.H.S.a.C.A., *Genetic disparity between primary tumours, disseminated tumour cells, and manifest metastasis*. International Journal of Cancer, 2010. **126(3)**: p. 589–598.
21. Haass, N.K., Smalley, K.S., Li, L., and Herlyn, M., *Adhesion, migration and communication in melanocytes and melanoma*. Pigment Cell Res., 2005. **18**: p. 150–159.
22. Russell R. Braeuer, I.R.W., Chang-Jiun Wu, Aaron K. Moble1, Takafumi Kamiya, and E.S.a.M. Bar-Eli, *Why is melanoma so metastatic?* Pigment Cell Melanoma Res., 2013. **27**: p. 19–36.
23. Bar-Eli, M., *Role of interleukin-8 in tumor growth and metastasis of human melanoma*. Pathobiology, 1999. **67**: p. 12–18.
24. Varney, M.L., Johansson, S.L., and Singh, R.K., *Distinct expression of CXCL8 and its receptors CXCR1 and CXCR2 and their association with vessel density and aggressiveness in malignant melanoma*. Am. J. Clin. Pathol, 2006. **125**: p. 209–216.
25. Mu, H., Calderone, T.L., Davies, M.A., Prieto, V.G., Wang, H., Mills, G.B., Bar-Eli, M., and Gershenwald, J.E., *Lysophosphatidic acid induces lymphangiogenesis and IL-8 production in vitro in human lymphatic endothelial cells*. Am. J. Pathol, 2012. **180**: p. 2170–2181.
26. Bar-Eli, V.O.M.a.M., *Inflammation and melanoma metastasis*. Pigment Cell Melanoma Res, 2009. **22**: p. 257–267.
27. Hood, J.L., San, R.S., and Wickline, S.A, *Exosomes released by melanoma cells prepare sentinel lymph nodes for tumor metastasis*. Cancer Res, 2011. **71**: p. 3792–3801.
28. Joyce, J.A., and Pollard, J.W., *Microenvironmental regulation of metastasis*. Nat. Rev. Cancer, 2009. **9**: p. 239–252.
29. Wei, X., Walia, V., Lin, J.C. et al., *Exome sequencing identifies GRIN2A as frequently mutated in melanoma*. Nat. Genet, 2011. **43**: p. 442–446.

30. Stark, M.S., Woods, S.L., Gartside, M.G. et al., *Frequent somatic mutations in MAP3K5 and MAP3K9 in metastatic melanoma identified by exome sequencing*. Nat. Genet, 2012. **44**: p. 165–169.
31. Berger, M.F., Hodis, E., Heffernan, T.P. et al., *Melanoma genome sequencing reveals frequent PREX2 mutations*. Nature, 2012. **485**: p. 502–506.
32. Karjalainen, J.M., Kellokoski, J.K., Eskelinen, M.J., Alhava, E.M., and Kosma, V.M., *Downregulation of transcription factor AP-2 predicts poor survival in stage I cutaneous malignant melanoma*. J. Clin. Oncol, 1998. **16**: p. 3584–3591.
33. Dobroff, A.S., Wang, H., Melnikova, V.O., Villares, G.J., Zigler, M., Huang, L., and Bar-Eli, M., *Silencing cAMP-response element-binding protein (CREB) identifies CYR61 as a tumor suppressor gene in melanoma*. J. Biol. Chem., 2009. **284**: p. 26194–26206.
34. Bhoumik, A., Ivanov, V., and Ronai, Z., *Activating transcription factor 2-derived peptides alter resistance of human tumor cell lines to ultraviolet irradiation and chemical treatment*. Clin. Cancer Res., 2001. **7**: p. 331–342.
35. Mobley, A.K., Braeuer, R.R., Kamiya, T., Shoshan, E., and Bar-Eli, M., *Driving transcriptional regulators in melanoma metastasis*. Cancer Metastasis Rev, 2012. **31**: p. 621–632.
36. Postow, M.A., Harding, J., and Wolchok, J.D., *Targeting immune checkpoints: releasing the restraints on anti-tumor immunity for patients with melanoma*. Cancer J., 2012. **18**: p. 153–159.
37. Dong, H., Strome, S.E., Salomao, D.R. et al., *Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion*. Nat. Med., 2002. **8**: p. 793–800.
38. Lampen, M.H., and Van Hall, T., *Strategies to counteract MHC-I defects in tumors*. Curr. Opin. Immunol, 2011. **23**: p. 293–298.
39. Ataera, H., Hyde, E., Price, K.M., Stoitzner, P., and Ronchese, F., *Murine melanoma-infiltrating dendritic cells are defective in antigen presenting function regardless of the presence of CD4CD25 regulatory T cells*. PLoS ONE, 2011. **6**: p. e17515.
40. Li, M.O., Wan, Y.Y., Sanjabi, S., Robertson, A.K., and Flavell, R.A., *Transforming growth factor-beta regulation of immune responses*. Annu. Rev. Immunol, 2006. **24**: p. 99–146.
41. Rubtsov, Y.P., and Rudensky, A.Y., *TGFbeta signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity*. Nat. Rev. Immunol., 2007. **7**: p. 443–453.
42. Detmar, A.A.a.M., *Interaction of tumor cells and lymphatic vessels in cancer progression*. Oncogene 2011: p. 1 - 10.
43. Shile Liang, M.J.S., Desiree Wagner, Sott I. Simon and Cheng Dong, *Hydrodynamic Shear Rate Regulates Melanoma-Leukocyte Aggregation, Melanoma Adhesion to the Endothelium, and Subsequent Extravasation*. Annals of Biomedical Engineering, 2008. **36**(4): p. 661–671.
44. Claire Lugassy, a.R.L.B., *Angiotropic melanoma and extravascular migratory metastasis*. Adv Anat Pathol, 2007 **14**(3): p. 195-201.
45. Lugassy C, E.B., Christensen L, Escande JP, *Angiotumoral complex in human malignant melanoma characterised by free laminin: ultrastructural and immunohistochemical observations*. J Submicrosc Cytol Pathol, 1997. **29**(1): p. 19-28.
46. Lugassy C, D.G., Christensen L, Karaoli T, LeCharpentier M, Escande JP, Barnhill RL., *Ultrastructural and immunohistochemical studies of the periendothelial matrix in human melanoma: evidence for an amorphous matrix containing laminin*. J Cutan Pathol, 1999. **26**(2): p. 78-83.
47. Paola Savoia, P.F.a.M.G.B., *Cutaneous Metastases from Malignant Melanoma: Clinical Features and New Therapeutic Perspectives*. Treatment of Metastatic Melanoma, ed. R. Morton. 2011: InTech.
48. Kenneth K Tanabe, D.T. *Cutaneous melanoma: Management of local recurrences*. 2014.
49. Savoia P, F.P., Nardò T, Osella-Abate S, Quagliano P & Bernengo MG, *Skin metastases of malignant melanoma: a clinical and prognostic survey*. Melanoma Res, 2009. **19**: p. 321–326.
50. Pietro Rubegni, A.L., Filomena Mandato, Roberto Perotti, and Michele Fimiani, *Dermoscopic patterns of cutaneous melanoma metastases*. International Journal of Dermatology 2014. **53**: p. 404–412.
51. Martin JM, B.-N.R., Jorda E, *Vascular patterns in dermoscopy*. Actas Dermosifilogr, 2012. **103**: p. 357–375.
52. Jaimes N, H.J., Puig S, et al., *Dermoscopy: an aid to the detection of amelanotic cutaneous melanoma metastases*. Dermatol Surg, 2012. **38**: p. 1437–1444.
53. Zurac S, A.R., Petsakos G, Nichita L, Bastian A, Micu G, Grămadă E, Popp C, Stăniceanu F, Petrescu Ș, Negroiu G, Giurcăneanu D, Chițu V., *Cutaneous Metastases of Malignant Melanoma – How Difficult Can It Be?* Rom J Intern Med., 2008. **46**(4): p. 375-8.
54. Pamela M. Guerriere-Kovach, E.L.H., James W. Patterson, David J. Glembocki, Joseph C. English and Mark R. Wick., *Primary Melanoma of the Skin and Cutaneous Melanomatous Metastases: Comparative Histologic Features and Immunophenotypes*. Am J Clin Pathol, 2004. **122**: p. 70-77.

55. M. Contreras-Steysls, E. Herrera-Acosta, B. Moyano, E. Herrera, *Primary melanoma with multiple skin metastases*. Actas Dermosifiliogr, 2011. **102**(3): p. 226-9.
56. Steven J. Ohsie, G.P.S., Alistair J. Cochran and Scott W. Binder, *Immunohistochemical characteristics of melanoma*. J Cutan Pathol 2008. **35**: p. 433-444.
57. Andrea M. Abbott, J.S.Z., *Locoregional Therapies in Melanoma*. Surg Clin N Am 94 2014: p. 1003-1015.
58. Michael Reintgen , C.R., Christopher Nobo, Rosemary Giuliano, Steven Shivers and Douglas Reintgen, *Regional Therapy for Recurrent Metastatic Melanoma Confined to the Extremity: Hyperthermic Isolated Limb Perfusion vs. Isolated Limb Infusion*. Cancer, 2010. **2**: p. 43-50.
59. J H W de Wilt, T.L.M.t.H., G de Boeck, S T van Tiel, E A de Bruijn, and A M M Eggermont, *Tumour necrosis factor alpha increases melphalan concentration in tumour tissue after isolated limb perfusion*. Br J Cancer, 2000 **82**(5): p. 1000-1003.
60. Fraker, D.L., *Hyperthermic regional perfusion for melanoma and sarcoma of the limbs*. Current problems in surgery, 1999. **36**(11): p. 841-907.
61. MD, D.L.F., *Management of in-transit melanoma of the extremity with isolated limb perfusion*. Current Treatment Options in Oncology, 2004. **5**(3): p. 173-184.
62. Georgia M. Beasley, R.P.P., Jin Yoo, Nicole McMahon, *Isolated Limb Infusion for In-Transit Malignant Melanoma of the Extremity: A Well-Tolerated but Less Effective Alternative to Hyperthermic Isolated Limb Perfusion*. Annals of Surgical Oncology, 2008. **15**(8): p. 2195-2205.
63. Gaudy C, R.M., Folchetti G, Bonerandi JJ & Grob JJ., *Randomized controlled study of electrochemotherapy in the local treatment of skin metastases of melanoma*. J Cutan Med Surg, 2006. **10**(3): p. 115-121.
64. Quaglino P, M.C., Osella-Abate S, Barberis M, Illengo M, Rissone M, Savoia P & Bernengo MG., *Electrochemotherapy with intravenous bleomycin in the local treatment of skin melanoma metastases*. Ann Surg Oncol, 2008. **15**(8): p. 2215-22.
65. Travis E. Grotz, A.S.M., Lori A. Erickson, Svetmoir N. Markovic, and James W. Jakub, *In-Transit Melanoma: An Individualized Approach*. Oncology Journal, 2011.
66. AJ., L.M.M., *Carbon dioxide laser ablation as an alternative treatment for cutaneous metastases from malignant melanoma*. Br J Surg, 1996. **93**: p. 509-512.
67. Gibson SC, B.D.M.K.A., *Ten-year experience of carbon dioxide laser ablation as treatment for cutaneous recurrence of malignant melanoma*. Br J Surg, 2004. **91**: p. 893-895.
68. Olivier KR, S.S., Morris CG, et al, *A higher radiotherapy dose is associated with more durable palliation and longer survival in patients with metastatic melanoma*. Cancer 2007. **110**: p. 1791-5.
69. Keith T. Flaherty, C.R., Peter Hersey, *Improved Survival with MEK Inhibition in BRAF-Mutated Melanoma*. N Engl J Med, 2012. **367**: p. 107-114.
70. Flaherty, R.J.S.a.K., *MAP kinase signaling and inhibition in melanoma*. Oncogene, 2013. **32**: p. 2373-2379.
71. Margaret K. Callahan, M.A.P., Jedd D. Wolchok, *Immunomodulatory therapy for melanoma: Ipilimumab and beyond*. Clinics in Dermatology, 2013. **31**(2): p. 191-199.
72. Jedd D. Wolchok, H.K., Margaret K. Callahan, *Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Melanoma*. N Engl J Med, 2013. **369**: p. 122-133.
73. Caroline Robert, P.A.R., Prof Jedd D Wolchok, *Anti-programmed-death-receptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: a randomised dose-comparison cohort of a phase 1 trial*. The Lancet, 2014. **384**(9948): p. 1109-1117.

Conflict de interese  
NEDECLARATE

Conflict of interest  
NONE DECLARED

Adresa de corespondență: Ana-Maria Forsea  
Bulevardul Mărăști 17, București 011461  
Telefon/ fax: 021 316 1600/190  
E-mail: aforsea@yahoo.com

Correspondance address: Ana-Maria Forsea  
Marasti Avenue 17, Bucharest 011461  
Phone / fax: 021 316 1600/190  
E-mail: aforsea@yahoo.com