

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

НАТАЛИЈА В. САМАРЦИЋ

**АНАЛИЗА КЛИНИЧКИХ МАНИФЕСТАЦИЈА И
ПРОГНОСТИЧКИХ ФАКТОРА ТИМОМА**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

БЕОГРАД, 2018.

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

NATALIJA V. SAMARDŽIĆ

**ANALIZA KLINIČKIH MANIFESTACIJA I
PROGNOSTIČKIH FAKTORA TIMOMA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

BEOGRAD, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF MEDICINE

NATALIJA V. SAMARDŽIĆ

**ANALYSIS OF CLINICAL MANIFESTATIONS AND
PROGNOSTIC FACTORS OF TIMOMA**

DOCTORAL DISSERTATION

BELGRADE, 2018.

Ментор тезе: **Проф др Драгана Јовановић**, редовни професор катедре Интерне медицине Медицинског факултета Универзитета у Београду

Коментор тезе: **Проф. Др Љиљана Марковић-Денић**, редовни професор катедре Епидемиологије Медицинског факултета Универзитета у Београду

Чланови Комисије за оцену завршене тезе:

1. **Проф. др Виолета Вучинић-Михаиловић**, редовни професор катедре Интерна медицина Медицинског факултета Универзитета у Београду
2. **Проф. Др Људмила Нагорни Обрадовић**, редовни професор катедре Интерна медицина Медицинског факултета Универзитета у Београду
3. **Доц. Др Сања Шарац**, Доцент катедре Интерна медицина Медицинског факултета Универзитета Одбране у Београду

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1 ANATOMIJA i PODELA MEDIJASTINUMA	1
1.2 KLASIFIKACIJA TUMORA MEDIJASTINUMA.....	2
1.3 DIJAGNOSTIKA TUMORA MEDIJASTINUMA	5
1.4 ISTORIJAT PRUČAVANJA TIMUSA:.....	7
1.5 ANATOMIJA, EMBRIOLOGIJA, HISTOLOŠKA GRAĐA i FIZIOLOGIJA TIMUSA.....	14
1.6 PATOLOŠKE PROMENE TIMUSA I HIPERPLAZIJA TIMUSA.....	18
1.7 TIMOMI	19
1.7.1 Najčešće karakteristike	19
1.7.2 Simptomi timoma	20
1.7.3 NAJČEŠĆI SISTEMSKE / PARANEOPLASTIČKI SINDROMI.....	22
1.7.4 DIJAGNOSTIČKE PROCEDURE KOD BOLESNIKA SA TIMOMOM 32	
1.7.5 HISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA TIMOMA.....	38
1.7.6 KLINIČKA STAGEING KLASIFIKACIJA TIMOMA.....	42
1.7.7 PROGNOZA TIMOMA.....	46
1.7.8 TERAPIJA TIMOMA	46
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	57
3. METODI ISTRAŽIVANJA	58
3.1. Tip studije, mesto i vreme.....	58
3.3. Statistička analiza	58
4. REZULTATI	62
5. DISKUSIJA	93
6. ZAKLJUČCI	117
7. LITERATURA	123

Sažetak

Uvod. Timomi su retke bolesti, ali najčešći tumori medijastinuma. Terapijski vodiči su zasnovani na rezultatima analiza retrospektivnih studija. **Materijal i metode.** Ovom retrospektivnom studijom analizirano je 62 bolesnika sa patohistološki verifikovanim timomom u Klinici za plućne bolesti Kliničkog centra Srbije u Beogradu, u periodu od 1993. do kraja 2013. Popunjavani su upitnici koji su podrazumevali podatke iz istorije bolesti, fizički pregled bolesnika, radiografije i/ili kompjuterizovane tomografije grudnog koša, operativne liste i/ili patohistološke nalaze biopsija. Analizirani su klinička slika, terapijski aspekti, preživljavanje i pojava relapsa bolesti. Timomi su klasifikovani prema patohistološkoj klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije i stažirani prema Masaoka-Koga sistemu. Dobijeni rezultati su kodirani, uneti u bazu podataka i analizirana je statistička povezanost pojedinih varijabli: demografskih, kliničkih, radiografskih karakteristika timoma, primenjenih terapijskih režima i njihov uticaj na dužinu preživljavanja bolesnika, tj utvrđivanje faktora koji utiču na pojavu relapse bolesti, kao prognostičkih faktora. **Cilj.** Definisati osnovne kliničke karakteristike obolelih od timoma, terapijske aspekte, preživljavanje i pojavu relapsa bolesti je bio cilj studije, kao i sagledavanje prisustva mutacija u genima kod timoma, radi utvrđivanja njihovog mogućeg uticaja na patogenezu timoma i prediktivnog značaja u preživljavanju, sa krajnjom idejom implementiranja target terapijskih opcija u praksi vezanih za genetiku timoma. **Rezultati.** Više je bilo obolelih žena (54,8%). Najveći broj pacijenata je bio u sedmoj deceniji života (32,3%). Skoro trećina pacijenata je bila asimptomatska (29%), a ostali su imali bar jedan simptom, najčešće je konstatovan kašalj. Najčešći paraneoplastički sindrom je miastenija gravis (12.9%). Najčešće je konstatovano prisustvo solitarne promene u grudnom košu (61.3%), tumora većeg od 5 cm (52.5%), neinvazivnih timoma (52.5%). Većina bolesnika je bila u I stadijumu bolesti (40%), a najčešći terapijski pristup operacija (88.7%). Statistički značajna razlika u preživljavanju konstatovana je u žena, pacijenata koji su imali solitarni tumor, neinvazivni timom, I stadijum bolesti i bolesnici kojima je sprovedena operacija. Dimenzija tumora je bila blizu granice konvencionalnog nivoa značajnosti.

Smrtnih ishoda je bilo više u grupi pacijenata koji nisu imali mutacije u genima, izuzev kod pacijenata koji su imali mutaciju u TP53 genu. Aritmetička sredina (A.S.) preživljavanja je bila veća u grupi pacijenata bez mutacije u 4 gena (EGFR, KRAS, ATM, ERBB4), a u grupi sa prisutnom mutacijom takođe u 4 gena (MET, TP53, SMAD4, APC). A.S. preživljavanja je bila podjednaka kod pacijenata kod kojih je prisutna mutacija kao i kod onih kod kojih nije postojala mutacija u ALK genu. Statistički značajna razlika između ispitivanih grupa u preživljavanju utvrđena je kod pacijenata sa mutacijom u

SMAD4 genu. Timomi sa PH tipom A imaju u daleko većem broju prisutnu ALK mutaciju. Ostali geni takođe pokazuju varijacije u procentima, poredeći PH grupe, ali bez značajnosti. Procenat pacijenata sa relapsom bolesti je sa statističkom značajnošću daleko veći kod pacijenata koji nemaju mutacije u SMAD4, APC i ERBB4 genima. Nije utvrđena statistički značajna razlike između grupa pacijenata u odnosu na prisustvo mutacije u genima korelirano sa pušačkim statusom.

Zaključak. Statistički značajni prediktori preživljavanja su pol, diseminovanost bolesti, invazivnost tumora, klinički stadijum bolesti i mogućnost sprovođenja operativnog pristupa. Uticaj genskih mutacija na preživljavanje i pojavu relapsa bolesti treba da bude predmet daljih istraživanja.

Ključne reči: Timom, patohistološki nalaz, klinički stadijum, genske mutacije, preživljavanje, relaps.

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Pulmologija

Abstract

Background. Thymoma is the most common mediastinal tumor. The treatment procedures are based on the results from the research of retrospective studies because they are not frequent tumors. **Methods.** This study was performed in the Clinic for Pulmonology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade from January 1993 to December 2013. We analyzed 62 patients of pathohistologically proven thymoma. The results were obtained from medical history, physical exam, chest X-ray and/or computed tomography, and an operational finding or a report of a diagnostic procedure. The World Health Organization classifies thymoma on the basis of pathohistological findings. Thymoma are staged according to the Masaoka-Koga staging system. **Aim.** The objective of this work was to define common clinical features, therapeutic aspects, survival and recurrence free survival, as well as consideration of the presence of mutations in genes in patients with thymoma, for the purpose of determining their possible impact on the pathogenesis of thymoma and predictive significance in survival, with the final idea of implementing the target therapeutic option in practice related to the genetics team. **Results.** There were more female (54,8%) patients. Patients were mostly in the seventh decade of life. One third (29%) of the patients were asymptomatic. Cough was the dominant symptom. Myasthenia gravis was the most common paraneoplastic syndrome (12.9%). Solitary tumour was the most common in our patients (61.3%), as well as the tumours larger than 5 cm (52.5%), and noninvasive thymomas (52.5%). The majority of patients (40%) were in the stage I of the disease. The operative approach has been conducted in most of the patients (88.7%). A statistically significant difference in survival was in women, patients with solitary tumor, non-invasive thymomas, patients in the stage I of the disease, and those who were operated. The dimension of the tumor mass is approaching the conventional level of significance. Mortality was higher in the group of patients who did not have mutations in the genes, except in patients who have a mutation in the TP53 gene. Arithmetic mean (AM) of survival was higher in the patients without the mutation in the 4 genes (EGFR, KRAS, ATM, ERBB4), as well as in the group with the mutation in 4 genes (MET, TP53, SMAD4, APC). A survival rate was comparable in patients with the gene mutation as well as those in which there was no mutation in the ALK gene. A statistically significant difference between two groups in survival was found in patients with mutations in SMAD4 gene. ALK mutations are in far greater numbers present in

thymoma patients with the pathohistological (PH) finding type A. Other genes also show variations in percentages, comparing the PH groups, but without significance. The percentage of patients with relapsed disease is with statistical significance far greater in patients who do not have mutations in SMAD4, APC and ERBB4 genes. There were no significant differences between the groups of patients with respect to the presence of mutations in the genes correlated with smoking habits. **Conclusion.** The obtained results confirm that according to the survival rate analyses, statistically significant survival rate predictors are gender, presence of solitary tumor mass, tumor invasiveness, clinical stage of the disease and the carried out operation. The influence of genetic mutations on survival and relapse of disease should be the subject of further research.

Key words: thymoma, pathohistological analysis, clinical stage, gene mutation, overall survival, thymoma recurrence.

Naučna oblast: Medicine

Uža naučna oblast: Pulmology

1. UVOD

1.1 ANATOMIJA i PODELA MEDIJASTINUMA

Medijastinum (sredogruđe) je ekstrapleuralni prostor između dve pleuralne šupljine. Gornji deo medijastinuma je otvoren prema vratu, donju granicu čini dijafragma, a bočno su listovi parijetalne pleure leve i desne pleuralne šupljine. Spreda medijastinum ograničava grudna kost, a pozadi kičmeni stub i paravertebralni sulkusi.

Tokom embrionalnog razvoja u prostoru medijastinuma se formiraju srce i veliki krvni sudovi, razvija se kaudalni deo brahijalnih lukova, a iz primitivnog crevnog pupoljka odvajaju se plućni divertikuli.

ANATOMSKA PODELA MEDIJASTINUMA:

Gornji medijastinum

Prostor iznad zamišljene horizontalne linije koja polazi sprede od donje ivice manubrijuma i pozadi se spaja sa donjom ivicom četvrtog torakalnog pršljena.

Prednji medijastinum

Prostor ispod zamišljene linije gornjeg medijastinuma do same dijafragme i ispred linije koja odvajaja prednju površinu perikarda.

Srednji medijastinum

Prostor do zadnje ivice perikarda i iza traheje, a ispred jednjaka.

Zadnji medijastinum

Prostor od zadnje ivice traheje i perikarda do kičmenog stuba pozadi i dijafragme bazalno.

PODELA MEDIJASTINUMA NA KLINIČKO-RADIOLOŠKE PROSTORE JE UČINJENA RADI LAKŠE DIJAGNOSTIČKE I TERAPIJSKE INTERPRETACIJE LOKALIZACIJE I VRSTE LEZIJA U SREDOGRUDU:

Prednji (anteriorni) medijastinum

Spreda ograničen zadnjom površinom sternuma, pozadi zamišljenom linijom koja odvaja prednju površinu velikih krvnih sudova i perikarda. Prema gornjem delu medijastinuma, vratu, nalaze se brahiocefalični krvni sudovi.

Srednji, centralni ili visceralni medijastinum

Pružna se od zadnje granice prednjeg medijastinuma i doseže do prednje površine kičmenog stuba, zahvata i gornji otvor medijastinuma.

Zadnji (posteriorni) medijastinum ili paravertebralni sulkus – kostovertebralni prostori

Nisu u striktno anatomskom smislu pravi deo medijastinuma, ali lezije lokalizovane u ovom prostoru se pripisuju medijastinalnim[1].

1.2 KLASIFIKACIJA TUMORA MEDIJASTINUMA

Većina primarnih cista i tumora se lokalizuje u jednom od anatomskih prostora medijastinuma. U pojedinim slučajevima, neoplazma migrira i raste u susedne regione ili se pojavljuje multicentralno, u više prostora istovremeno, kao što je slučaj sa tumorima limfnog, nervnog i mezenhimalnog porekla.

KLASIFIKACIJA TUMORA MEDIJASTINUMA PREMA LOKALIZACIJI I NAJČEŠĆEM RASPOREDU LEZIJA U MEDIJASTINUMU

GORNJI MEDIJASTINUM

Retrosternalna tiroidea, aneurizma aorte, tumor timusa.

PREDNJI MEDIJASTINUM

Tumori timusa, teratomi, limfomi, ciste (pleuroperikardijalne, dermoidne, timusa).

SREDNJI MEDIJASTINUM

Limfonodalne mase, ciste (bronhogene, pleuroperikardijalne, gastroenterične, neuroenterične, ciste ductusa thoracicus), tumori srca, limfangiomi, metastatski karcinomi, granulomatozne bolesti.

ZADNJI MEDIJASTINUM

Neurogeni tumori, aneurizma aorte, ciste (bronhogene, enetrogene), limfatičke lezije, fibromi, lipomi i liposarkomi.

KLASIFIKACIJA MEDIJASTINALNIH TUMORA (PROMENA) PREMA ISHODIŠTU I POREKLU LEZIJE

NEUROGENI:

- **Poreklom perifernih nerava** (neurofibriomi, neurilemomi-švanomi, neurosarkomi)
- **Poreklom simpatičkih ganglija** (ganglioneuromi, ganglioneuroblastomi, neuroblastomi)
- **Poreklom paraganglijskog tkiva** (feohromocitomi, hemodektomi-paragangliomi)

TIMUSNI

- **Timomi**
- **Timusni karcinomi**
- **Hiperplazije timusa**

LIMFOMI: M. Hodgkin, histiocitni limfomi, nediferentovani.

GERMINATIVNI: Seminomi, nonseminomski tumori, tumori čistih embrionskih ćelija i miksnih embrionskih ćelija, teratomi-benigni i maligni.

MEZENHIMNI: Fibromi i fibrosarkomi, lipomi i liposarkomi, miksom, mezoteliomi, leiomiomi i leiomiosarkomi, rabdomiosarkomi, mezenhimomi, hemangiomi, hemangio-pericitomi, hemangio-endoteliomi, limfangiomi, limfangio-pericitomi, limfangio-endoteliomi.

ENDOKRINI: Tiroidni i paratiroidni.

CISTE čine **25-35%** svih primarnih neoplazmi medijastinuma: Kongenitalne, mezotelijalne (perikardne, pleuralne), ciste primitivnog creva (bronhogene, ezofagealne, enterične), timusne, limfatične (limfangiomatozne, ciste torakalnog duktusa), stečene ciste, inflamatorne, teratogene, dermoidne, tiroidne, paratiroidne, meningocele.

HERNIJE: Hijatalne, Morgagni.

LIMFADENOPATIJE: Inflamatorne, granulomatozne, sarkoidne

Učestalost primarnih cista i tumora medijastinuma se razlikuje u odnosu na životno doba i distribuciju, tj. lokalizaciju promena. Kod dece su najčešći: Neurogeni tumori, enterogene ciste, teratomi, limfomi, angiomi i limfangiomi, tumori timusa i perikardijalne ciste. Kod odraslih neurogeni tumori, tumori timusa, limfomi, teratomi, enterogene i perikardijalne ciste. Ima preklapanja u distribuciji. Najkonstantnija je povezanost kod tiroidnih masa, teratoma i timoma koji su locirani anteriorno i superiorno u 90% slučajeva. Od neurogenih tumora, 80% je locirano u posteriornom medijastinumu, a 50% medijastinalnih limfoma u srednjem medijastinumu. Medijastinalni tumori i ciste u odraslih su: 55% u anteriorno-superiornom delu, 20% u srednjem i 25% u posteriornom. U dece, posteriorni deo sadrži 63% lezija, 26% su u anteriornom, a 11% u srednjem [2].

1.3 DIJAGNOSTIKA TUMORA MEDIJASTINUMA

RADIOLOŠKA:

- **Radiografije grudnog koša** (PA i profilni snimak)

Omogućavaju dobru procenu verovatne vrste lezije, istovremeno služe i kao dobar vodič za izbor dopunskih dijagnostičkih postupaka.

- **Kompjuterizovana tomografija grudnog koša (CT toraksa), magnetna rezonanca (MRI)**

Obe metode su morfološke bez mogućnosti histološke dijagnoze. CT pruža dobru prostornu rezoluciju i pouzdana je u razlikovanju tumora medijastinuma od susednih patoloških promena pluća i pleure, raširenost neoplastičkog procesa. Otkrivaju se dilatacije velikih krvnih sudova, cistične oblasti i oblasti kalcifikacija u medijastinumu. MRI je senzitivna u dijagnostici patološki izmenjenih krvnih sudova i kompleksnih odnosa tumora sa medijastinalnim organima (infiltracija perikarda ili miokrada, propagacija u subkarinalni prostor ili tumor u aortnom prozoru, patološki procesi u kardiofreničnim uglovima, nejasna patološka stanja krvnih sudova u medijastinumu-aneurizme, disekcije, tromboze).

- **Radioizotopska ispitivanja medijastinuma**

Ventilaciono-perfuziona scintigrafija pluća: Otkrivanje plućne embolije i nalaz ekstramuralne kompresije traheje tumorom medijastinuma.

Pozitron emisiona tomografija (PET): Prikaz, stejdžing i kontrolisanje primarnih malignih tumora.

Galijum scintigrafija: Dijagnostika inflamatornih lezija, uvećanih limfnih žlezda, intratorakalnih tumora.

Radionuklidna angiografija: Proučavanje vaskularnih lezija velikih krvnih sudova medijastinuma uključujući i opstrukciju gornje šuplje vene (v. cava superior).

Scintigrafija tiroidne žlezde (J 131) i paratiroidne žlezde primenom 99mTC.

Oralna primena radiofarmaceutika prikazuje funkcionalni status jednjaka.

Metajodbenzilguanidin (MIBG): Mešavina obeležena sa 131 I ili 132 I ima specifičan afinitet vezivanja za adrenalne medularne tumore (feohromocitomi, paragangliomi,

neuroblastomi). Može se primeniti kombinovano sa CT-om ili MR-om u otkrivanju ekstraadrenalnih feohromocitoma lokalizovanih u medijastinumu i retroperitoneumu.

Radionuklidna limfoscintigrafija: Utvrđuje nodalne metastaze karcinoma dojke duž unutrašnje mamarne arterije.

ULTRASONOGRAFIJA MEDIJSTINUMA:

Procenjuje se struktura lezije, pogodnost određenog dijagnostičkog pristupa (na primer mogućnost perkutane biopsije patološke promene).

Transezofagealna ultrasonografija

Glavne indikacije za pregled su tumor i ciste zadnjeg medijastinuma, uvećane limfne žlezde lokalizovane paraezofagealno, subaortalno i subkarinalno, kao i teratomi, tumori timusa, limfomi, bronhogene i perikardijalne ciste, promene perikarda (perikardijalni izlivi uključujući i hemoperikard).

INVAZIVNA DIJAGNOSTIKA:

Definitivna dijagnoza medijastinalne neoplazme se postavlja histološkim ispitivanjem i verifikacijom.

- *Endoskopije:* Pri sumnji na tumor pluća ili jednjaka.
 - Bronhoskopije*
 - Ezofagoskopije*
- *Biopsija perifernih limfnih žlezda*
- *Hirurške endoskopske metode sa biopsijom (medijastinoskopija i medijastinotomija sa biopsijom limfnih žlezda medijastinuma), video-asistirana torakoskopija (VATS).*
- *Eksplorativna torakotomija i sternotomija*
- *Biopsija kostne srži* pri sumnji na limfom (nalaz malignih ćelija) ili timom (nalaz aplastične anemije)
- *Biopsija iglom ili aspiraciona biopsija medijastinumske mase* kada je lezija pristupačna za pomenuti vid biopsije, pogodna kada postoje kontraindikacije za primenu drugih invazivnih metoda (kardiopulmološki rizici i dr.)

HORMONSKI NALAZI i TUMOR MARKERI:

Tumorski markeri su biološki delovi tumora. Metoda njihovog određivanja može biti korisna u izabranim slučajevima:

1. Predstavljaju potvrdu više za dijagnozu tumora,
2. Ukazuju na efekat terapije i
3. Ukazuju na pojavu recidiva tumora.

Dele se na tri grupe:

- *Produkti tumora* (beta-humani horiogonadotropin Beta-hCG)
- *Citogenetske promene*
- *Molekularni markeri* (onkogeni)

Tumorski markeri su najčešće hormoni, enzimi, intracelularni proteini ili antigeni ćelijske membrane koji se otkrivaju i mere u serumu, plazmi, urinu ili drugim telesnim tečnostima. *Bence-Jonesov* protein je visokospecifičan i senzitivn i otkriva se u urinu bolesnika sa multiplim mijelomom. U serumu i urinu se imunološkim metodama otkrivaju beta – hCG, alfa – fetoprotein (AFP), kateholamini i njihovi raspadni produkti, i paratiroidni hormoni. Feohromocitomi i neki neurogeni tumori, su udruženi sa povećanim nivoima urinarnih kateholamina, homovanilične kiseline, ili vanil - mandelične kiseline. Tkivni tumorski markeri su tkivni antigeni (proteini i hormoni). Za germinativne tumore medijastinuma se vezuje pojava AFP, placentalne alkalne fosfataze, hCG-beta, serumske LDH, neuron specifične enolaze (NSE) i teratokarcinomski mucinu sličnog antigena (TRA-1-60). CD30 je dijagnostički marker za Hodgkinovu bolest, anaplastični limfom, embrionalni karcinom. Za timusne karcinoide i druge neuroendokrine tumore medijastinuma karakteristični su adenokortikotropni hormoni, hromogranin, citokeratin, sinaptofizin, bombesin, neuron-specifična enolaza [3].

1.4 ISTORIJAT PRUČAVANJA TIMUSA:

Timus je limfni organ smešten u grudnom košu, poznat od 1. veka nove ere. Lekovita biljka sa istim imenom je poznata nekoliko vekova, još od vremena drevnih Egipćana koji su cenili njene terapijske osobine. Ime žlezde kao da potiče od biljke majčine dušice, možda zbog sličnosti - režnjevi žlezde nalikuju listovima biljke (slika 1).



Slika 1. *Thymus vulgaris*. Etching from the German edition of “Discorsi sopra Dioscoride” by Pietro Andrea Mattioli, Prague, 1563

Prema drugoj hipotezi, ime potiče od grčke $\text{K}\ddot{\text{z}}\text{metara}$, što znači dim, duh i takođe, duša, hrabrost: zaista, grčki lekari su verovali da je timus bio sedište duše zbog misterije koja je zaokružuje i takođe zbog njene blizine srcu.

Naziv i prvi opis timusa verovatno datira od Ruf'a u Efesu (98-117 ne), grčki lekar, živeo u Aleksandriji i jedno vreme pod carem Trajanom u Rimu. Studirao je anatomiju unutrašnjih organa i njihovu nomenklaturu, napisao je čak dvanaest rasprava od kojih su

samo nekoliko fragmenata došle do nas preko grčkih i arapskih autora. Naročito se posvetio proučavanju srca, pankreasa i timusa. Rufus je u "De humani corporis Partium appellationibus" napisao: "Postoje mnoge žlezde, od kojih su neke u predelu vrata, drugi u predelu grudi, neke u preponama i mezenteričnim ganglijama; one su jedna vrsta prilično masnog i trošnog mesa. Među njima je i timus, nalazi se ispod srca, orijentisana ka sedmom pršljenju vrata i krajem traheje koja dodiruje pluća, to se ne može naći u svim životinjama"). Galen Pergamski (130-200 ne) je, zajedno sa Hipokratom, najpoznatiji lekar antike. Bio je inicijator eksperimentalne metode primenjene proučavanjem anatomije i patologije i napisao je preko 400 tekstova. Galen se samo kratko bavio timusom u svom delu "De humani corporis USU partium, pišući "Inferiorni zid šuplje vene počiva na prilično glomaznoj i mekoj žlezdi zvanoj timus". Galen je takođe naglasio da ovaj organ ima važnu ulogu u prečišćavanju nervnog sistema i da je žlezda "daleko od toga da je mala, velika je, a naročito kod mladih životinja, i postepeno se smanjuje sa starenjem". Tokom ranog i kasnog srednjeg veka, čini se da je timus potpuno zaboravljen od naučnika: ne postoje opisi ni u zapadnim ni u arapskim dokumentima do 15-og veka. Italijanski Jakopo Barigazzi, poznatiji kao Berengario da Carpi (1466-1530) je ponovo otkrio žlezde, razmatrao ih u "Commentaria Super Anatomia Mundini ". Anatom i hirurg Berengario je napisao: ("Medijastinum predstavlja ligamentno - umesto nervno - tkivo... njegova funkcija je da odvaja pluća od grudi....nalazi se u sredini grudi i povezan pozadi sa leđnim pršljenovima i napred sa žlezdom zvana "mora" ili timus, postavljena kao ćebe ispred velikih vena i arterija"). Belgijanac Andre Vesale, poznatiji kao Andrea Vesalio (1514-1564) je postavio temelje za modernu anatomiju. Vesalio govori o timusu u svom glavnom delu " De humani corporis Fabrica librorum epitome", posebno u Poglavlju III je opisao zaštitnu funkciju organa koja deluje kao jastuk za krvne sudove gornjeg medijastinuma: "Vena Cava, koja raste prema jugulumu, pronalazi meki, žlezdani organ koji Grci zovu timus i Latini " animella ". Ista žlezda je takođe veoma plemenito postavljena da štiti od bilo kakvog oštećenja gustu mrežu sudova suspendovanu u ovoj oblasti... ". U poglavlju VI, Vesalio je bio prvi koji reprodukuje timus u anatomskim tabelama. Žlezda izgleda mala, multilobularna i leži pod manubriumom. Italijan Bartolomeo Eustachio (1500-1574), najpoznatiji anatom, glavni lekar pape i profesor anatomije u Rimu. On je preduzeo važne studije o anatomiji unutrašnjeg uha, bubrega i zuba. On nije mogao, iz ekonomskih razloga, da objavi svoje vredne "Tabulae

anatomicae", za koje se tvrdi da su privukla Ticijana, one su posthumno objavljene 1714., zahvaljujući drugom značajnom lekaru i anatomu, Đovani Marija Lancisi. Eustachio je napravio anatomske crteže koji su bili još precizniji od Vesalijevog: žlezda izgleda dobro definisana, ovalnog je oblika i nalazi se ispred traheje. Francuz Ambroise Pare (1510-1590) bio je veliki hirurg i anatom, služio je čak pet kraljeva. Naslov njegove glavne rasprave je "Les Oeuvres d Ambroise Pare, Conseiller i Premier Chirurgien du Roi ": u knjizi III je napisao "timus je žlezda čija je suština jaka i meka, porozna je. Značajna je i nalazi se u gornjem delu grudnog koša kod subklavije i jugularne arterije... štiti ih kao jastuk od grudnog koša ... žlezda dostiže izuzetnu veličinu kod mladih ili kod životinja, dok je kod starijih jedva vidljiva". Švajcarski anatom i lekar Feliks Plater (1536-1614), profesor u Bazelu, posvetio se proučavanju psihijatrijskih oboljenja i mnogi ga smatraju osnivačem moderne psihijatrije. On je bio prvi koji je diskutovao timus u kliničkom kontekstu 1614. Iznenadna smrt 5-mesečne stare bebe "zbog gušenja od skrivenih unutrašnjih struma oko grla" - imajući u vidu da se izraz "Struma" u to vreme odnosi na bilo koji tip tumora, a ne samo na oboljenje štitne žlezde, kao što je danas slučaj. Francis Glisson (1597-1677) bio je čuveni engleski anatom. Predavao je na Kembridžu i posvetio se proučavanju anatomije i fiziologije digestivnog sistema i mišića. On je identifikovao funkciju timusa kao organa koji obezbeđuje rast i razvoj fetusa. Veliki anatomi 15., 16., i 17. veka nisu značajno unapredili znanja o timusu: od antike do baroknog doba, predstava o timusu ostala je suštinski nepromenjena. Ovaj organ je i dalje posmatran kao nešto što ima zaštitnu funkciju, deluje kao jastuk za endotoraksne vaskularne strukture i to je potvrđeno, kako je Galen rekao, posebno u momentu rođenja i postepeno bi se smanjilo sa godinama. Više od jednog veka kasnije, anatomija i fiziologija ovog enigmatičnog organa počela je da se proučava naučnim metodom. Tokom dužeg vremena u 18. veku preovladava teorija da je timus nekako uključen u regulisanje fetalne i neonatalne plućne funkcije i bio je definisan kao "organ posrednog disanja". Druga pretpostavka je da timus samo ima funkciju da popuni endotorakalni prostor koji bi kasnije okupirala pluća rastućeg novorođenčeta. Poznavanje timusa je počelo da raste sa pojavom optičkog mikroskopa. Izumeo ga je holanđanin Antoan van Leuvenhoek (1632-1723) koji je prvi studirao kapilarene mreže, a kasnije, koristio ga Italijanski anatom Marčelo Malpighi (1628-1694) i omogućio mu da otkrije ljudske ćelije.

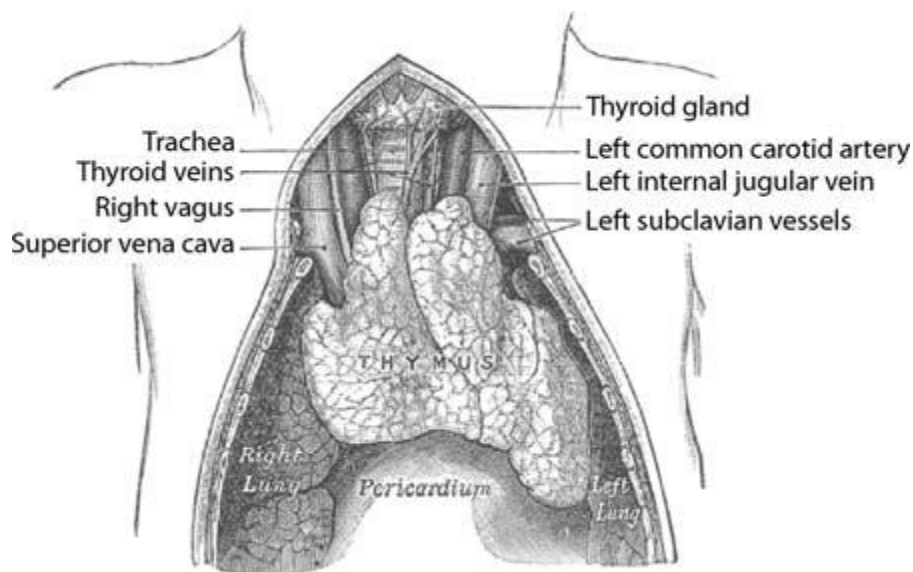
William Hewson (1739-1774) se definiše kao otac hematologije. 1774 je objavio prve naučne rasprave o timusu, opisujući njegovu promenu u veličini sa starenjem i identifikovana je po prvi put njegova priroda. On je istakao "Kad mislimo na limfni sistem i njegove dodatke mislimo na limfne sudove, limfne žlezde, timus i slezinu". Konačno, on je potvrdio da timus postaje manji sa starenjem i pretpostavlja da bi neko drugo tkivo moglo da preuzme te funkcije u zrelosti, ali je takođe otkrio da veličina organa može da se brzo smanji u toku akutnih i hroničnih oboljenja. Englez Ser Astley Paston Cooper (1768-1841), lični lekar tri kralja, 1832. je objavio "Anatomija timusa". Dat je tačan opis i ilustracije timusa, fokusirajući se na patologiju žlezde, i prvi put su opisani maligni timomi. Londonski hirurk Ser John Simon (1816-1904) je dvanaest godina kasnije objavio novu raspravu o timusu, pod nazivom "Esej o Fiziologiji Timusa ". Artur Hil Hassall (1817-1894) je bio lekar i hemičar. 1846. je objavio prvi tekst na engleskom o mikroskopskoj anatomiji: "Mikroskopska Anatomija ljudskog tela u Zdravlju i bolesti". Hassall, koristeći najnovije i najnaprednije modele optičkog mikroskopa, opisao je sa H. Vanarsdale histološke razlike između timusa i drugih limfnih organa. 1849. je otkrio medularni deo, sferična zrnca od epithelioidnih ćelija. Krajem 20-og veka, anatomski i histološki saznanja o timusu su bila zasnovana: nije bilo sumnja o limfnoj prirodi ovog organa. Trebalo je dva milenijuma za istoriju medicine da osvetli osnovne anatomske i fiziološke aspekte ove žlezde. Još uvek su nedostajali objektivni i definitivni podaci o tome šta može da bude stvarna uloga timusa u fiziologiji i patologiji. Konkretno, hipertrofične - hiperplastične promene i neoplastična stanja nisu razjašnjena. Nemački patolog Rudolf Virchow (1821-1902) je ponovo uveo validnost pojma "timusna astma" (prva skovana od strane JH Klopp 1830.) kao posledicu kompresije od strane hipertrofičnog timusa velikih disajnih puteva, a posebno traheje. Ovaj pojam je decenijama povezan sa pojmom "timusna smrt": smatrano je da timus može biti uključen u naizgled neobjašnjive iznenadne smrti, a naročito u detinjstvu. Austrijski medicinski ispitivač Arnold Paltauf (1860-1893) prvi je uveo termin " thimolimphaticus status" u 1889., koji podrazumeva hipertrofiju celog limfnog tkiva, uključujući i timus, i na taj način može biti uzrok iznenadne smrti odojčadi. Pojmovi "timusna astma", "timusna smrt" i "status thimolimphaticus "su bile uzrokom pogrešnih dijagnostičkih i terapijskih pristupa tokom čitavog jednog veka. Nemački hirurk Ludwig Rehn (1849-1930) je 1896. uradio prvu operaciju ikada urađenu na timusu kod ljudi, pacijentu koji je bolovao od

respiratornog poremećaja: on je uradio transcervikalnu timektomiju, i kasnije, u svetlu lošeg ishoda prethodne operacije, u drugom, sličnom slučaju, izvršena je delimična timektomija. U ranom 20. veku, timektomije kod beba, tj. dece sa timusnom hipertrofijom i respiratornim poremećajima postala su široko prihvaćena. Američki radiolog Henry K Pancoast, na početku prošlog veka potvrdio je ideju da bi veliki timus mogao biti uzrok niza oboljenja (bronhitisa, bronhopneumonija, tuberkuloze i ne-tuberkuloznog adenitisa, sinuzitisa), i predložio je da su preoperativne fluoroskopije neophodne kod beba / dece da se pronađe uvećani timus. Pedijatar Alfred Friedlander 1907. u Sinsinatiju (SAD) prijavio je prvi slučaj timusne hipertrofije uspešno lečene ozračivanjem žlezde. To je bila dvo-mesečna beba sa atacima paroksizmalne dispneje. Autor je sa entuzijazmom izvestio da je "postupak, naravno, beskrajno jednostavniji nego uklanjanje timusa hirurškim sredstvima ". Od tada, hiljade dece i adolescenata dobila su zračenja za sprečavanje ili lečenje " thimolymphaticus statusa", neki pedijatri su se čak zalagali za profilaktička zračenja svih novorođenčadi. Samo nekoliko godina kasnije se došlo do saznanja o riziku za ove ozračene pacijente da razviju neoplazme. 1945. u prvom izdanju " Pedijatrijska radiografska dijagnostika ", američki Radiolog Džon Caffey je potvrdio "...uzročna veza između hiperplazije timusa i neobjašnjive iznenadne smrti je potpuno odbačena". Naglasio je da je ozračivanje timusa iracionalan postupak u svim uzrastima. Nemački neurolog Herman Hoppenheim je 1899. prvi put ukazao na moguću povezanost miastenije gravis i bolesti timusa, izveštavanjem o slučaju miasteničnog pacijenta sa timomom nađenoj na autopsiji. Proučavanje fiziologije nastavlja paralelno sa sticanjem kliničkog znanja o timusu. Škotski hematolog Džon Berd (1857-1924) je razumeo, kao Hevson, da je žlezda deo limfnog sistema, i dao dalji doprinos shvativši da timus ima ulogu izvora svih limfocita tela. Tek u drugoj polovini 20. veka su naučnici stekli uvid u centralnu funkciju organa u okviru imunokompetentnog sistema. Od početka prošlog veka tretman bolesti timusa uglavnom uključuje hirurški pristup. Švajcarac Ernst Ferdinanda Sauerbruch (1875-1951), smatran ocem grudne hirurgije, bio je profesor hirurgije na univerzitetima u Cirihu, Minhenu i Berlinu. On je uradio prvu totalnu timektomiju 1911. i to 19-godišnjoj devojci sa miastenijom gravis i hipertireozom, a 1930. je uradio prvu timektomiju torakotomijom pacijentu sa malignom bolešću. Američki hirurg Alfred Blalock (1899-1964) je bio pionir kardio i grudne hirurgije. On je 1936. uradio prvu timektomiju preko sternotomije medijane. Predložio je timektomiju

za miastenične pacijente, uključujući i one bez pratećih timoma. Douglas R. Gracei i saradnici, hirurzi na klinici Mejo (Minnesota, SAD), 1982. su predložili manubriotomiju kao pošten postupak u odnosu na srednju sternotomiju tokom timektomije kod pacijenata sa miastenijom gravis. Pojava video-asistirane torakoskopije donela je sa sobom prvu video-pomoć, minimalno invazivnu hirurgiju timusa: Američki hirurzi Rodni, J. Landreneau i David J. Sugarbaker su prvi uradili 1992. i 1993. timektomiju torakoskopskim pristupom. Otkriće teških oblika urođene imunodeficijencije od aplazija ili hipoplazijom timusa (DiGeorge sindrom, Nezelof sindrom) stvorila je podsticaj, počev od kraja 1960-ih, za ispitivanje transplantacija timusa. Američki pedijatri Charles S. August, William V. Klivlend i saradnici su 1968. i Ričard Hong 1976., bili pioniri ovog tipa istraživanja. U savremeno doba, koristeći kulture posle-porođajnog timusa koje su pripremljene na odgovarajući način, i koje se implantiraju u butinu ili omentum, vrlo su ohrabrujući rezultati, posebno kod sindroma DiGeorge. Poslednje decenije 1900-ih su posvećene daljem pojašnjenju kompleksnih funkcija timusa. Rasvetljena je neuroendokrina funkcija žlezde i njena uloga u sazrevanju imunokompetentnih T-ćelija, u razvoju imunološke tolerancije u prevenciji auto-imunih bolesti i proučavano lučenje hormona ili peptida, kao što su thimolin, thimopoetin i thimosin Alfa-1. Uvidom u 20-vekovni pregled istorije proučavanja timusa, konstatuje se da ova grudna žlezda intrigira stručnu javnost od davnina: predstavljen kao sedište duše od strane drevnih mislilaca; nepoštovan ili zaboravljen potpuno u srednjem veku, renesansi i baroknom dobu, postepeno revalorizovan počev od doba prosvetiteljstva, i na kraju razjašnjena tačna i fundamentalna uloga tokom prošlog veka. Ipak, ta kompleksna žlezda, koja je ostala misterija tokom tako dugog vremenskog perioda, će nastaviti da nas i dalje zadivljuje i iznenađuje u narednim godinama budućim otkrićima brojnih istraživanja [4].

1.5 ANATOMIJA, EMBRIOLOGIJA, HISTOLOŠKA GRAĐA i FIZIOLOGIJA TIMUSA

Timus je smešten u gornjem delu medijastinuma i donjem delu prednje strane vrata. Čine ga dva odvojena lobusa obavijena vezivnom opnom koji se u svom srednjem delu dodiruju i daju žlezdi oblik velikog slova „H“, ili izgled leptira. Postoje varijacije u broju reznjeva, može ih biti tri ili više. Donja ivica žlezde doseže do hrskavičnog dela četvrtog rebra dok su gornji polovi žlezde u kontaktu sa donjim polom štitaste žlezde ili se gube u tireotimičnom ligamentu. Prednju stranu timusa od grudne kosti odvajaju rastresito vezivno i masno tkivo. Svojom zadnjom stranom naleže na perikard i velike krvne sudove (leva brahiocefalična vena, gornja šuplja vena, luk aorte sa svojim granama). Gornji deo timusa nalazi se uglavnom na površini ispred leve brahiocefalične vene. Među varijacijama rasta timusa su delimični ili potpuni nedostatak spuštanja jednog ili oba lobusa timusa ili prisustvo tkiva timusa u prostoru gde se formira plućni parenhim. Takođe, tkivo timusa se može naći ekstraglandularno, tj. u prostoru od vrata do dijafragme. U predelu vrata takva mogućnost se može utvrditi kod 36% ljudi, najčešće u pretrahealnom i u retrotiroidnom prostoru. Prosečna težina timusa na rođenju je oko 15g. Do puberteta rastu težina i veličina, dostiže 30-40g. Posle puberteta nastaje involucija ove žlezde i redukcija težine na vrednosti 5 - 25g kod odraslih (slika 2). Arterijsku vaskularizaciju timus dobija, najvećim delom, od grana unutrašnje mamarne arterije i manjim delom od grana donjih tiroidnih i perikardiofreničnih arterija. Venska drenaža se odvija manjim delom venskim granama nabrojanih arterija, a glavna drenaža je kroz centralni venski trunkus (Keynessova velika vena). Venski trunkus formiraju venski sudovi svakog lobusa spajajući se na zadnjoj površini timusa. Ova vena se uliva u levu brahiocefaličnu venu. Timus nema aferentnih limfnih sudova, ali postoje eferentni sudovi koji se završavaju u prednjim medijastinalnim, traheobronhijalnim i parasternalnim limfnim čvorovima (oko unutrašnje mamarne arterije). Inervacija potiče od n.vagusa, n.phrenicusa, cervikotorakalnog simpatičkog ganglionu i anse cervicalis [5].



Slika 2. Timus tokom detinjstva. Anastasijadis K. Anatomy. In: Anastasijadis K. Ratnatunga C. The Thymus gland Diagnosis and surgical management, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2007. 5-8

EMBRIOLOGIJA I HISTOLOŠKA GRAĐA TIMUSA

Timus potiče od endoderma 3. faringealnog nabora sa obe strane. Od njega ventralno nastaje timus, a dorzalno 3. paratiroidna žlezda dok od 4. faringealnog nabora potiče bronhijalno stablo. Poslednjih godina postoji hipoteza da epitel timusa nastaje iz ektoderma i endoderma 3. i često 4. ždrelna kese; za pokretanje razvoja timusa zadužena je interakcija sa mezenhimom koji potiče iz neuralne kreste u fazi postojanja 10 somita (23 dana) [1, 2]. Kada veličina embriona dostigne 20 mm, 3. paratiroidna žlezda se odvaja od odgovarajućih kesa, oslobađajući tako ipsilateralni timusni pupoljak. Dva timusna pupoljka ispunjavaju ventralno od aorte vreću, a potom se pridružuje vezivno tkivo. Čelije timusa formiraju zbijenu epitelnu masu porekla endoderma. Iz kostne srži u ovo tkivo migriraju limfociti. Mezenhimno vaskularno tkivo uz vlakna vagusa daju žlezdi lobuliran izgled. Diferencijacija timusa na koru i srž se odvija u embrionu veličine 40 mm. Srž nastaje u centralnom delu i dubljim delovima lobulusa hipertrofijom citoretikuluma, praćena migracijom ili degeneracijom timocita. Kasnije se Hasalova tela pojavljuju kao involutivni klasteri citoretikuluma. Od 10. nedelje, više od 95% ćelija pripada T-liniji sa nekoliko eritroblasta i B-limfocita. Čelije makrofaga prodiru u srž u 14. nedelji. Timus je potpuno diferenciran u 17. nedelji, nakon toga glavni tip timocita TDT+ će se proizvoditi tokom celog života.

Mikroskopske komponente zrelog timusa se razvijaju iz nekoliko izvora: epitelnih derivata zida ždrele, mezenhima, hematogenih i limfnih ćelija, tkiva krvnih sudova. Interakcija ovih elemeneta će obezbediti jedinstvenu imunološku funkciju timusa.

Svaki *lobus* (*režanj*) timusa je prekriven fibroznom kapsulom koja se produžava u parenhim kao septe fibroznog vezivnog tkiva. Septe dele žlezdu na *lobulose* različite veličine, dijametra od 0,5 do 2,0 mm. Mikroarhitektura timusa – svaki lobulus se sastoji iz dva različita dela: spoljašnjeg korteksa i unutrašnje medule, a medularni deo jednog lobulusa prostire se u okolne medularne prostore. Korteks grade timociti i mešavina epitelijalnih i mezenhimnih ćelija. U korteksu dominiraju dva tipa epitelijalnih ćelija, jedne prekrivaju ceo organ i perivaskularne prostore formirajući citoplazmatske lamele i druge koje se nalaze uglavnom u spoljašnjem delu korteksa. U obe vrste se može utvrditi neurosekretorna komponenta. U meduli se nalaze epitelijalna Hasalova (Hassalova) telašca. Ona nemaju sekretornu funkciju, ali veoma snažno antigenski reaguju na prisustvo teškog visokomolekularnog keratina, koji je sastavni deo zrele epitelijalne ćelije. Subkapsularne i medularne epitelijalne ćelije imaju slične antigene ekspresore. Obe vrste ćelija imaju sekretornu funkciju, jer su u njihovoj citoplazmi imunohistohemijski (IHH) utvrđeni hormoni timusa: timopoetin, timosin-alfa, timulin, timosin-beta. U sastavu epitelijalnih ćelija korteksa se nalaze i *nurse cells*. One u citoplazmi mogu imati do 200 limfocita, te se smatra da su odgovorne za razvoj T ćelija. Osnovnu komponentu histološke građe timusa čine limfociti-timociti. Oni se tokom sopstvenog sazrevanja premeštaju iz korteksa prema meduli, a odatle se zreli timociti premeštaju u cirkulaciju - krvotok. Postoje dva tipa zrelih T ćelija: *Helper* ćelije (češće) i *supresor* ćelije, citotoksični tip, a B limfociti se nalaze u fibroznim septama, perivaskularnim prostorima, meduli timusa [5].

FIZIOLOGIJA TIMUSA

Fiziologija timusa je kompleksna. Timus je glavni organ za maturaciju T ćelija, a takođe i endokrina žlezda. Reguliše imuni sistem od rođenja pa nadalje. Od devete gestacijske nedelje, vrši se invazija njegovog epitelijalnog primordijuma pre-timičnim prekursorskim ćelijama iz hematopoetskih centara (što kasnije uključuje fetalnu jetru i kostnu srž). Pod uticajem hemotaktičkih stimulusa, ovi progenitori T ćelija ulaze u žlezdu postkapilarnim venulama, potom migriraju u spoljašnji korteks, pre konačnog sazrevanja i migriranja u

medulu. Tokom ovog perioda oni podležu mitotskoj podeli na svakih 12h i postepeno se razvijaju u zrele T ćelije, koje ulaze u cirkulaciju preko post-kapilarnih venula. Kako sazrevaju, timociti rearanžiraju gene za njihove T ćelijske receptore (TCR), koje prepoznaju peptidne fragmente HLA – I klase molekula (za citotoksične (CD8+) T ćelije) ili II klase (za helper (CD4+) T ćelije). Nakon pre – T ćelijske faze, nezreli timociti istovremeno eksponiraju oba HLA: CD4 i CD8, kao i CD3. Ćelije koje mogu da prepoznaju HLA kompleks su „pozitivno selekcionisane“ kortikalnim epitelnim ćelijama; Timociti bez specifičnosti za svoj HLA propadaju (više od 80%). Među preživelim, helper populacija gubi CD8 i postaje CD4 pozitivna., a nasuprot ovome, citotoksične T ćelije postaju „single CD8+“. Tako, MHC klasa I je neophodna za perifernu akumulaciju CD8 ćelija, dok je MHC II klase odgovorna za dugoročni vek trajanja CD4[4]. Ovo su CD4 i CD8 limfociti, koje čine dve najveće podgrupe T limfocita. Dakle, tokom procesa sazrevanja, uočava se 4 tipa ćelija: 1) *Dvostruko negativne* ćelije (za CD4- i CD8-, pored CD3-) su lokalizovane u subkapsularnom korteksu, tokom mitoze, ove ćelije postaju manje, eksponiraju TCR komplekse i postaju CD3+. 2) *Dvostruko pozitivne* ćelije (CD4+ i CD8+ uz CD3+) lokalizovane duboko u korteksu i reprezentuju 80-90% populacije timusa. Tokom sticanja imunokompetentnosti, većina ove ćelijske populacije će apoptozom biti uništena, te ova pozitivna selekcija rezultuje pojavom posebne vrste ćelija. 3) Medularne „single“ pozitivne ćelije (pozitivnih samo za jedan od markera CD4 ili CD8). Potpuno imunokompetentne postaju kada stignu u periferne limfne žlezde te postaju T ćelije. 4) *T ćelije* ulaze sekundarno u medulu timusa. Osim njih, u timusnom parenhimu se nalaze i *natural killer cell (NKC)* i *nezreeli B limfociti*. Mononuklearni makrofazi su većinom lokalizovani u kortiko-medularnoj granici, gde fagocitiraju veliku populaciju timocita u fazi diferencijacije. Postoje shvatanja da ova destrukcija može služiti prevenciji pojave autoimunih bolesti. Timus proizvodi hormonima slične peptide, čija je funkcija većinom posvećena sazrevanju imunog sistema. Timozin je familija biološki aktivnih peptida čija je masa između 1.000 i 15.000 Daltona. Timozin-alfa-1 i timozin-alfa-4 stimuliraju ili vrše supresiju imunog odgovora, regulišu ćelijsku aktivnost, neuroplastiku, popravljaju i remodeluju krvne sudove u povređenom tkivu, angiogenezu, utiču na diferencijaciju stem ćelija. Timulin je neuroendokrini hormon sa imunoregulatornom aktivnošću, originalno nazvan „serum thymic factor“ (FTS)-serumski timični faktor. On je presudan u regulisanju metabolizma cinka i diferencijaciji

T-limfocita, a medijator je i inflamacijskih reakcija. Timopoetin, poznat kao TP-5 (thymic fraction V), sa imunoregulatornom ulogom zaduženim za diferencijaciju i sazrevanje T ćelija. Timični humoralni faktor- γ 2 (thymic humoral factor THF) utiče na umnožavanje T limfocita, stimulira njihovu funkciju, stimulira produkciju IL-2, potencira terapijsko dejstvo hemoterapije na maligne procese, učestvuje u reakciji kalem protiv domaćina. Timični faktori i hormoni utiču na druge endokrine organe, i obratno, endokrine žlezde putem izlučenih hormona utiču na razvoj struktura i funkciju timusa [6].

1.6 PATOLOŠKE PROMENE TIMUSA I HIPERPLAZIJA TIMUSA

1. **Limfoidna ili folikularna hiperplazija** – prisustvo limfoidnih folikula sa aktiviranim germinativnim centrima.
2. **Prava hiperplazija** – dimenzije i težina timusa su povećani u odnosu na starosnu dob bolesnika, ali normalne ili skoro neizmenjene morfologije.

II TUMORI TIMUSA

Timomi i timusni karcinomi su epitelni tumori timusa (TET). Retki su tumori (0,2-1,5% svih maligniteta), ali najčešći tumori medijastinuma (20-25%), u preko 50% slučajeva se nalaze u prednjem medijastinumu. Najčešće se javljaju u šestoj deceniji života, ali se isto tako mogu javiti u ranom detinjstvu ili starijem životnom dobu. Nije utvrđena značajna predilekcija prema polu.

Timomi su tumori čije ćelije ne pokazuju ubedljivu ćelijsku atipiju i često su udruženi sa paraneoplastičkim autoimunim sindromima.

Karcinomi timusa su invazivni, retki karcinomi (0.06% od svih malignih tumora), tumori čije ćelije pokazuju ubedljivu ćelijsku atipiju, arhitektonika žlezde je narušena i nije prepoznatljiva struktura grudne žlezde, retko su udruženi sa paraneoplastičkim autoimunim sindromima, sklone su diseminaciji u udaljene delove tela, visoka je stopa relapsa bolesti nakon operacije, i visoka stopa smrtnosti.

- ⊙ Squamous cell karcinomi
- ⊙ Basaloid karcinomi
- ⊙ Mucoepidermoid karcinomi
- ⊙ Lymphoepithelioma like karcinomi
- ⊙ Sarcomatoid karcinomi

- ⊙ Clear cell karcinomi
- ⊙ Adenocarcinoma
- ⊙ Papillary adenocarcinoma
- ⊙ Karcinomi sa t (15;19) translokacijom
- ⊙ Dobro - diferentovani neuroendokrini karcinomi (carcinoid TU)
 - Tipični karcinoid
 - Atipični karcinoid
- ⊙ Slabo – diferentovani neuroendokrini karcinomi
 - Large cell neuroendokrini karcinomi
 - Small cell, neuroendokrini karcinomi
- ⊙ Nediferentovani karcinomi

1.7 TIMOMI

1.7.1 Najčešće karakteristike

Timomi su, uz neurogene, najčešći primarni tumori medijastinuma. To su indolentni, spororastući tumori. Ukoliko se otkriju u ranom stadijumu, imaju odličnu prognozu za dugotrajno preživljavanje.

Otkrivaju se najčešće u 5. i 6. dekadi, podjednako u oba pola.

Najčešće su *lokalizovani* u anteriornom delu medijastinuma.

Većinom su lobulirani, čvrsti, nepravilnog oblika. Mogu sadržati cistične prostore (do 60%), kalcifikacije (oko 20%) ili hemoragije. Mogu biti jasno inkapsulirani, adherentni za okolne strukture, ili invazivni. Mikroskopski potiču od epitelnih ćelija timusa, mada su prisutni i limfocitni elementi koji mogu i predominirati histološki.

Asimptomatski su u oko 30% bolesnika, simptomi lokalnog rasta tumora zastupljeni su u oko 30% bolesnika, a od onih sa *simptomima*, oko 30-50% ima simptome miastenije gravis. Oko 15% bolesnika sa miastenijom gravis ima i timom [7].

1.7.2 Simptomi timoma

I NESPECIFIČNI SIMPTOMI

- Anoreksija
- Gubitak u telesnoj masi
- Malaksalost, zamaranje
- Febrilnost
- Preznojavanje

II SIMPTOMI USLED KOMPRESIJE ILI DISLOKACIJE OKOLNIH MEDIJASTINUMSKIH STRUKTURA~simptomi lokalnog rasta tumora

- Traheo – bronhijalna kompresija: kašalj, vizing, stridor, dispnea, rekurentne respiratorne infekcije
- Ezofagealna kompresija – disfagija
- Sindrom venae cavae superior
- Horner-ov sindrom
- Paraliza glasnih žica – disfonija
- Pulmonalna stenoza – šumovi
- Tamponada srca ili aritmije

III SISTEMSKI SINDROMI

AUTOIMUNI ILI IMUNI FENOMENI

Polimiozitis, sistemski lupus eritematodus, reumatoidni artritis, dermatomiozitis, sklerodermija, tireoiditis, Sjögrenov sindrom

NEUROMUSKULARNI SINDROMI

Miastenija gravis (30-50%), miotonična distrofija, Eaton-Lambertov sindrom, miozitis, Rippling mišićni sy, Gastrointestinalna pseudo-opstrukcija, autoimuna neuropatija, Stiffman-ov sy, Cerebelarni CV2 sy, Encefalopatija, Collapsin RMP-5 (response-mediator protein-5)

HEMATOLOŠKI SINDROMI

Aplazija crvene loze – red cell aplasia – RCA (5-10%): 50% ima timom, hipogamaglobulinemija (10%), pancitopenija, eritrocitoza, T ćelijska limfocitoza, sindrom deficita T – ćelija, multipli mijelom, akutna leukemija, megakariocitopenija

IV ENDOKRINI POREMEĆAJI

Hipertireoidizam i hiperparatiroidizam (hiperkalcemija)

Adisonova bolest

Panhipopituitarizam

Hašimoto tiroiditis

Multipla endokrina neoplazija (MEN)

V NONTIMUSNI KARCINOM

Maligni limfom (Hodgkin i non – Hodgkin)

Karcinom pluća, kolona i dr.

Kaposiev sarkom

VI TEŠKE INFEKCIJE i NEKLASIFIKOVANI POREMEĆAJI

Miokarditis, megaezofagus, hronična makroktana kandidijaza i dr.

VII BOLESTI KOSTIJU

Hipertrofična osteoartropatija

VIII BUBREŽNA OBOLJENJA

Nefrotski sindrom

IX DERMATOLOŠKE BOLESTI

Alopecija, pemphigus

1.7.3 NAJČEŠĆI SISTEMSKE / PARANEOPLASTIČKI SINDROMI

Paraneoplastički sindromi se kao izraz kliničke slike nalaze u trećini slučajeva kod bolesnika sa neoplazmom timusa, i to kod obolelih od timoma, a ređe kod pacijenata koji imaju timusni karcinom. Najčešće je zastupljena mijastenija gravis, kod 30~65% bolesnika sa timomom, a slede je po učestalosti, ali ipak značajno ređe, autoimuna aplazija crvene krvne loze (5%) i hipogamaglobulinemija (5~10%) [8].

STEČENA AUTOIMUNA MIJASTENIJA GRAVIS

Organ specifično autoimunske oboljenje u kome antitela protiv nikotinskog acetilholinskog receptora (nAChR) ili drugih antitena postsinaptičke membrane neuromišićne sinapse uzrokuju poremećaj neuromišićne transmisije[9]. Karakteriše se znacima prekomerne zamorljivosti i promenljive slabosti poprečno prugastih, skeletnih mišića pri produženoj ili ponavljanoj aktivnosti, kao i poboljšanjem snage posle odmora ili primene antiholinesteraznih lekova.

Epidemiologija

SAMG je bolest sa relativno uniformnom geografskom i kalendarskom distribucijom. Prosečna godišnja stopa incidence se kreće od 2 do 4 na milion stanovnika, a prevalencija oboljenja varira od 85 do 125 na milion stanovnika. Stope mortaliteta se kreću od 0,6 do 1,7 na milion stanovnika. U našoj sredini su zapažene stope incidencije i prevalencije u skladu sa svetskim stopama. Prosečna godišnja stopa za teritoriju Srbije je iznosila 3,7, dok je za teritoriju Beograda ona bila značajno viša, i iznosila 8,2 na milion stanovnika. Prevalencija je za Srbiju bila 64,9 na milion stanovnika, a za teritoriju Beograda 95,6 na milion stanovnika, što se nalazi u samom svetskom vrhu prevalencije SAMG. Suprotno ovome, prosečna stopa mortaliteta je za područje Srbije iznosila 0,23, a za teritoriju Beograda 0,47 na milion stanovnika, i to su najniže zabeležene stope u svetu.

SAMG ima "dva" pika oboljevanja: prvi, u period od 20-30-te godine života, sa apsolutnom predominacijom ženskog pola, i drugi, u periodu od 70-80-te godine života u kome oba pola približno podjednako oboljevaju.

Podela SAMG

1. Stečena autoimuna MG dece i odraslih
2. Tranzitorna neonatalna MG
3. D-Penicilaminska MG

Subgrupe SAMG

- Očna forma: očna simptomatologija, bez TU timusa,+AChR antitela, detinjstvo ili pozno životno doba
- Early-onset MG: pre 50. godine života, predomimantno ženski pol 4:1
- Late-onset MG: posle 50. godine života, odnos polova 1:1
- Timomska MG: lošija prognoza, teža klinička slika
- "Seronegativna MG": majčešće MuSK+antitela u 40-70% obolelih (odsustvo patologije timusa, ali autoimuna priroda bolesti je dokazana)

Etiopatogenetski faktori

Osnovni poremećaj SAMG je redukovan broj raspoloživih nAChR postsinaptičke membrane. Važnu ulogu ima genska predispozicija, različiti faktori spoljašnje sredine (stres, infektivni uzročnici). SAMG je T ćelijski zavisna, B ćelijski posredovana autoimuna bolest.

Sva dosadašnja istraživanja su pokazala da senzibilizacija na nAChR nastaje, najverovatnije, unutar timusa. Osnova za intratimičnu patogenezu SAMG može se naći u:

- Primarnoj alteraciji timusne mikrosredine sa poremećajem diferentovanja T limfocita,
- Imunološkoj reaktivnosti prema AChR koja nastaje zbog oštećenja supresorskih mehanizama.

Patogeneza SAMG se vezuje za promene u timusu koji je često izmenjen: hiperplazija timusa postoji u 60-80% slučajeva, tumor timusa-timom kod 10-15%, a timus normalnih karakteristika ili zamenjen masnim tkivom (involuisan) kod 10 do 20% obolelih. Timus poseduje sve ćelijske komponente neophodne za započinjanje patogenetskog procesa SAMG: mioidne ćelije koje eksprimiraju nAChR, interdigitatne antigen-prezentujuće, MHC klasa II eksprimirajuće ćelije, CD4+ T limfocite i B limfocite (u germinativnim

centrima medule). Anti –AChR antitela se otkrivaju u serumu kod 90% bolesnika sa generalizovanom i oko 70% bolesnika sa očnom formom bolesti. Ova subpopulacija bolesnika predstavlja “seropozitivnu MG”. Drugu grupu predstavlja “seronegativna MG”, bez serumskih anti-AChR antitečla. Poremećaj neuromišićne transmisije kod ovih bolesnika uzrokovan je serumskim antitelima protiv drugih antigena neuromišićne spojnice, kao što su mišićno specifična tirozin – kinaza (MuSK), rapsyn. Odgovor na terapiju je identičan kao i kod seropozitivne MG. Kod seropozitivne MG udružene sa timomima i manjeg broja bolesnika poznog životnog doba, pored AChR –antitela, mogu se naći i antitela na različite antigene mišićnog vlakna, titin i rijanodinski receptor. Kod ovih bolesnika je klinička slika teža, tok bolesti lošiji, što se objašnjava zbirnim efektom prisutnih autoantitela. Timusna hiperplazija kod seronegativnih MG bolesnika se registruje kod svega 17% obolelih (kod seropozitivnih bolesnika 60% do 80%), dok tumor timusa nije zabeležen.

Mehanizam delovanja autoantitela:

1. Blokiranje AChR receptora postsinaptičke membrane
2. Ubrzanje razgradnje ovih receptora
3. Uništavanje receptora putem aktivacije komplementa dovodi do definitivnog oštećenja mišićne membrane, a posebno njenog postsinaptičkog regiona

Klasifikacija SAMG prema kliničkoj slici

1. Očna forma MG
2. Generalizovana forma MG: blaga, umereno teška, akutna fulminantna i kasna teška forma
3. Fokalna forma MG

Klinička klasifikacija MGFA (Myasthenia Gravis Foundation of America)

- **I** Čisto očna simptomatologija; moguće prisustvo min slabosti m. orbicularis oculi. Snaga svih ostalih mišića je uredna.
- **IIa** Blaga slabost mišića trupa i/ili ekstremiteta, moguće i prisustvo minimalne slabosti bulbarne muskulature, moguća i zahvaćenost očnih mišića
- **IIb** Blaga slabost bulbarne i/ili respiratorne muskulature, moguće i prisustvo minimalne slabosti mišića trupa i/ili ekstremiteta, moguća i zahvaćenost očnih mišića

- **IIIa** Umerena slabost mišića trupa i/ili ekstremiteta, moguće prisustvo blagih slabosti bulbarne muskulature, moguća i zahvaćenost očnih mišića
- **IIIb** Umerena slabost bubulbarne i/ili respiratorne muskulature, moguće prisustvo blažih slabosti mišića trupa i/ili ekstremiteta, moguća i zahvaćenost očnih mišića
- **IVa** Teška slabost mišića trupa i/ili ekstremiteta, moguće prisustvo blažih slabosti bulbarne muskulature, moguća i zahvaćenost očnih mišića
- **IVb** Teška slabost bulbarne i /ili respiratorne muskulature, moguće prisustvo blažih slabosti mišića trupa i/ili ekstremiteta, moguća i zahvaćenost očnih mišića
- **V** potreba za intubacijom, sa ili bez potrebe za asistiranom ventilacijom (izuzetak čini neposredni postoperativni tok, gde je asistirana ventilacija jatrogena indukovana); Isključiva potreba za nazogastričnom sondom bez intubacije bolesnika svrstava pacijenta u klasu IVb.

Klinička slika SAMG

1. Spuštanje kapaka, pojava dvoslika
2. Slabost i zamorljivost mišića za žvakanje
3. Otežan govor, često „govor kroz nos“, otežano gutanje sa zagrcnjavanjem i vraćanjem tečnosti kroz nos
4. Slabost mišića vrata sa otežanim održavanjem glave
5. Slabost mišića jezika sa otežanim izgovaranjem reči
6. Smetnje sa disanjem
7. Slabost i patološka zamorljivost mišića ruku i nogu sa otežanim obavljanjem dnevnih aktivnosti (češljanje, pranje kose, brijanje, penjanje u autobus, ustajanje sa stolice itd.)

Dijagnoza SAMG

1. Klinička slika sa testovima zamaranja

2. Farmakološki test (Prostigmin ili Tensilon)

Prostigminski test-edrofonijum hlorid, pozitivan kod 75% bolesnika.

Tensilonski test-neostigmin bromid

Poboljšanje se ostvaruje kod 86% bolesnika sa očnom formom bolesti i kod 95% bolesnika sa generalizovanom formom.

3. Elektrofiziološko testiranje verifikuje oštećenje neuromišićne transmisije.

Standardni test neuromišićne transmisije: dekrement pri repetitivnoj stimulaciji nerva veći od 15%. *Elektromioneurografija pojedinačnog mišićnog vlakna-SFEMG*: „kašnjenje“ (jitter) veći od 60microsec, blok impulsa

4. **Radiološko ispitivanje** (potvrda ili isključenje timoma)

5. **Imunološko ispitivanje-analiza antiteta na nAChR**

Antitela na nAChR određuju se u serumu bolesnika specifičnom RIA metodom, korišćenjem radioaktivno obeleženog nAChR. Normalne vrednosti su ispod 0,2nM/l, pozitivne vrednosti, u prilog stečenoj, autoimunoj MG, vrednosti su iznad 0,5 nM/l. Prisutna su u oko 50% bolesnika sa očnom formom stečene, autoimune MG, a u 90% bolesnika sa generalizovanom formom stečene, autoimune MG. Apsolutna koncentracija antitela na AchR nije pokazatelj težine kliničke slike.

Terapija SAMG

- **Simptomatska terapija** popravlja neuromišićnu transmisiju i ublažava slabost i zamorljivost mišića
- *Antiholinesterazni lekovi* – inicijalna terapija kod svih bolesnika sa SAMG. Reverzibilno inhibiraju enzim acetilholin esterazu (AChE) čime smanjuju hidrolizu i dovode do nakupljanja većih količina acetilholina.
 - Mestinon (piridostigmin bromid): Lečenje počinje dozom od 3 puta 30 mg leka na dan sa postepenim povećanjem do optimalne doze od 60 mg na svakih 4-6h.
 - Prostigmin: Primenjuje se kod slučajeva sa teškim bulbarnim i respiratornim slabostima
 - **Kauzalna terapija** deluje na bazični patogenetski poremećaj
 - Kortikosteroidi: 1-1,5 mg/kg telesne težine (TT), znaci poboljšanja posle 2-6 nedelja, pun efekat nakon 6-9 meseci.
 - Citostatici
 - Azatioprin (Imuran): Inhibira proliferaciju i diferencijaciju imunokompetentnih ćelija sintezom lažnih purinskih baza u DNA i RNA. 2-3 mg/kg TT, početak delovanja nakon 6-12 nedelja, kontrola Le i transaminaza.

- Ciklofosamid: 3-5kg/kg TT, jače i brže dejstvo, više neželjenih dejstava.
- Imunomodulatori
 - Ciklosporin A-Sandimun: Inhibira T-helper ćelije inhibicijom interleukina 2,3,4, interferona i inhibicijom receptora za IL-2. Primena kod bolesnika koji ne tolerišu Imuran, 2-5 mg/kg TT, prvi efekti posle 2 nedelje, max efekat posle 4 meseca. Kontrola krvnog pritiska i azotnih materija.
 - Mikofenolat-mofetil-CellCept: Snižava koncentraciju guanosin-trifosfata, potrebnog za sintezu DNA u T i B limfocitima. Dnevna doza 1000-3000 mg. Može se kombinovati sa kortikosteroidima, početak dejstva nakon 4-6 nedelja, max učinak posle 4 meseca. Potrebna kontrola KS, posebno Le formule.
- Timektomija

Povoljan učinak kod bolesnika sa timomom, kod bolesnika sa ranim početkom bolesti i pozitivnim titrom na AChR. Što ranije – to bolje! Efekti su bolji kada se izvede u prvih 6-12 meseci od pojave simptoma bolesti. Kod generalizovanih MG, poboljšanje se postiže kod 90% bolesnika. Permanentna remisija se postiže kod 20-50% bolesnika. Za puni efekat operativnog lečenja potrebno je sačekati 3 do 5 godina.
- **Privremeni terapijski postupci** dovode do brzog, ali prolaznog terapijskog učinka
 - Terapijske izmene plazme (TIP): Primenjuje se kod bolesnika koji se pripremaju za operativno lečenje, ili kao dopunska mera dok primenjeni imunosupresivni lekovi ne počnu da deluju. Seanse se ponavljaju na drugi ili treći dan, 4-5 puta, sa odstranjenjem 10-15 l/plazme. Moguće neželjene reakcije (tromboza, plućna tromboembolija, DIK, anafilaktički šok, aritmija, prolazna hipotenzija).

- Intravenski imunoglobulini: 0,4 g/kg TT u toku 3-5 dana, maksimalni efekat 2-4 nedelje od započinjanja terapije, iste indikacije kao kod TIP.

LAMBERT-EATON-OV MIJASTENIČNI SINDROM

(LEMS) je stečena organ specifična autoimuna bolest presinaptičkog dela neuromišićne spojnice. Glavne karakteristike LEMS su slabost proksimalnih mišića ekstremiteta predominantno nogu, sniženi mišićni refleksi i poremećaj autonomnih funkcija (suvoća usta, impotencija, redukcija znojenja, opstipacija). Kod 60% bolesnika postoji udruženost sitnoćelijskog karcinoma pluća (Paraneoplastični, P-LEMS), dok u 40% ne postoji udruženost sa malignitetom (Neparaneoplastični, NP-LEMS), tada je autoimuna bolest. Najčešće se javlja između 50-te i 70-te godine. Nastaje pod dejstvom autoantitela protiv naponski zavisnih kanala za kalcijum P/Q-tipa (voltage gated calcium channels – VGCCs) koja uzrokuju presinaptičko oštećenje neuromišićne transmisije blokiranjem ulaska kalcijuma u motorni nervni završetak tokom depolarizacije. Kod bolesnika sa P-LEMS, VGCCs tumorskih ćelija predstavljaju pokretač imunološkog odgovora koji zatim ukrštenom reakcijom prema motornim nervnim završetcima uzrokuje neurološke simptome. Dijagnoza LEMS se potvrđuje otkrivanjem specifičnih autoantitela na VGCC P/Q tipa, metodom radioimunoprecipitacije i elektrofiziološkim registrovanjem niske amplitude zbirnog akcionog potencijala mišića u mirovanju koja se povećava više od 100% pri visokofrekventnoj stimulaciji. Specifična terapija karcinoma dovodi do poboljšanja neurološke bolesti. Primenom prednizona kao pojedinačne terapije ili u kombinaciji sa azatioprinom ili ciklosporinom može se postići dugotrajna kontrola bolesti pre svega kod NP-LEMS. Simptomatska terapija se sastoji u primeni 3-4 diaminoperidina kojim se povećava oslobađanje acetilholina iz presinaptičkog nervnog završetka. Kod LEMS bolesnika sa izraženom progresivnom slabošću terapijska izmena plazme i IV imunoglobulini imaju kratak pozitivan efekat [9].

APLAZIJA CRVENE KRVNE LOZE (RED CELL APLASIA-RCA)

Poznata je udruženost timoma sa teškom anemijom prouzrokovanom supresijom eritrogeneze u kostnoj srži. Iako su prekursori krvne loze značajno smanjeni ili odsutni, mijelopoieza i megakariocitopoieza je normalna ili čak povećana [10]. Burrows i Carroll međutim izveštavaju o mogućnosti pojave pancitopenije. Mehanizam aplazije crvene krvne loze nije jasan, ali Jepson i Vas sugerišu da su odgovorna imunološka dešavanja. Otkrivena su imunoglobulin G antitela koja inhibiraju eritropoezu. U ovih pacijenata je uočeno prisustvo antitela imunoglobulina G koja inhibiraju eritropoetin ili sintezu hemoglobina, ili oboje, i citotoksična su za eritroblaste. Imunodeficijencija je pripisana smanjenom broju B limfocita u kostnoj srži i perifernoj krvi, što konstatuju Cooper i Butler. Broj T ćelija je najčešće normalan, mada neki pacijenti imaju promene i na nivou celularnog imuniteta. Od 56 bolesnika koji su imali RCA, 7 je imalo MG, 2 hipogamaglobulinemiju, konstatuju Hirst i Robertson. Interesantan je izveštaj Suzuki i saradnika o prisustvu obe bolesti, RCA i MG posle resekcije invazivnog timoma. U prikazu Murakawa i saradnika, od 166 Japanskih bolesnika sa timomom, incidenca RCA bila je 3.6% (6 slučajeva), dok je incidenca MG bila 36.7% (61 slučaj). Obe bolesti su bile udružene samo kod jednog bolesnika, isto kao i pojava hipogamaglobulinemije. U oba slučaja, sekundarna bolest se pojavila posle timektomije. Kod tri bolesnika u pomenutoj studiji, RCA se pojavila kao komplikacija resekcije timoma, i to kod dvoje tokom prve godine, a kod trećeg u osmoj godini od operacije. Pedeset procenata bolesnika sa RCA ima udružen timom, ali samo 5 % bolesnika sa timomom ima ovaj poremećaj. Prema Beard i sar., većina ovih bolesnika ima tip A timoma (oko 70%) - noninvasive spindle cell varijanta. Zeok i saradnici su izvestili da oko 25% do 33% pacijenata sa RCA ima koristi od ekscizije timoma, najčešće kod tipa A, koja i inače ima dobru prognozu. Ipak, ovi bolesnici imaju goru prognozu u odnosu na one bez ove autoimmune bolesti. Kaiser i Martini kao i Masaoka, Maggi, i Murakawa i njihove kolege su potvrdile ovu observaciju. Četri pacijenta su umrli tokom 7 do 144 meseci posle timektomije [11].

NEUROMIOTONIJA

Neuromuskularni hiperaktivni sindrom se retko viđa u bolesnika sa timomima. MG može i ne mora biti prisutna. Kada se javi ova kombinacija bolesti, neuromiotonija može prethoditi ili uslediti resekciji timoma[12]. Nicholas i sar. su identifikovali sedam ovakvih slučajeva u literaturi. Ovi bolesnici su referisani i od strane McComas i Litchy i Auger kao i Halbach, Garcia-Merino, i Perini [13].

STIFF-MAN Sy

Moersch i Woltman su opisali redak neurološki poremećaj sa muskularnom rigidnošću i grčevima. Uzrok je nepoznat, veruje se da je autoimuni poremećaj. Može biti udružen sa drugima autoimunim bolestima, kao i u sklopu paraneoplastičkog Sy. Opisano je 6 slučajeva udruženih sa timomima. Tri su bila tip B1 ili B2, jedan tip AB, a u preostala dva slučaja, nije utvrđen tip timoma. Uočena je elevacija titra antitela antiglutamične kiseline dekarboksilaze (antiglutamic acid decarboxylase - GAD) kod 3 bolesnika. Smatra se da ova antitela interferiraju sa sintezom gama-aminobuternom kiselinom, koja je važan supresivni neurotransmiter u centralnom nervnom sistemu. Posle timektomije, svim bolesnicima, izuzev jednog, bilo je bolje. Simptomi su se povukli, nivo GAD-a se vratio na normalne vrednosti [14].

DEFICIT IMUNOGLOBULINA

Deficit imunoglobulina udružen sa timomima (posebno tip A) uz stečenu hipogamaglobulinemiju prvi je opisao dr Robert Good. Javlja se u oko 10% bolesnika sa deficitom imunoglobulina. To je redak poremećaj kombinovane T i B imunodeficijencije (redukovane ili potpuno odsutne B ćelije i CD4+ T ćelijska limfopenija), javlja se i deficijencija NK ćelija. Patogeneza imunoglobulin deficijencije nije u potpunosti razjašnjena. Oritani i saradnici su uočili da interferonu sličan citokin može inhibirati rast i razvoj B ćelija. Timus samostalno može uticati na maturaciju prekursora B ćelija. Sindrom može da se pojavi i kod bolesnika kod kojih inicijalno nije postojao ovaj problem, a posle operacije timoma. Waldmann i sar. su konstatovali da se poremećaj javlja uglavnom kod starijih bolesnika. Rekurentna sinopulmonarna infekcija i i hronična dijareja su najčešće manifestacije Good's Sy. Najčešće infekcije su Haemophilusom influenzae, Streptococcus-om pneumoniae, Pseudomonasom species ili Klebsiella

speciesom. Oportunističke virusne infekcije, kao Cytomegalovirus i Herpes simplex virus, su takođe česte. Pruzrokovalac hronične dijareje je Giardia lamblia. Da bi se smanjio rizik od virusnih infekcija, preporučuje se profilaktička primena intravenskih imunoglobulina. Uklanjanje timoma ne donosi benefit i prognoza za ove bolesnike je loša. Mortalitet se procenjuje na 45% [15].

SISTEMSKI LUPUS ERITEMATOZUS

Udruženost sistemskog lupusa sa timom ne viđa se često. Maggi i sar. su konstatovali ovu kombinaciju u 2.5% od njihovih 241 bolesnika, i Verley i Hollmann su uočili kod 1.5% od 200 pacijenata. Uklanjanje timoma nema uticaja na tok ove sistemske bolesti i prognoza je takođe loša [16].

ULCERATIVNI KOLITIS

Souadjian i sar. na Mayo Klinici su konstatovali prisustvo ulcerativnog kolitisa kod 2 (0.3%) od 598 pacijenata sa timomima. Tsuchiya i sar. su ukazali da timektomija poakzuje izvesne povoljne efekte u ovakvim slučajevima [17]. Kontroverzna su mišljenja. Okubo i sar. [18] su izvestili da posle kompletne resekcije timoma tipa AB, Masaoka stadijuma III i postoperativno sprovedene RT kod 51-godinu stare žene, deset meseci posle sprovedene timektomije, kolonoskopija nije pokazala znake postojanja ulcerativnog kolitisa. Da li je ovo rezultat opisanog lečenja ili spontana remisija, ostaje da se dalje ispituje i prati.

EROZIVNI LIHEN PLANUS

Ova imunološka bolest može biti prisutna u bolesnika sa timomom. Bobbio i sar. su objavili takav slučaj. Promene su se povukle posle sprovedene timektomije. Ovi autori su naveli da je Calista prijavio 16 slučajeva timoma udruženih sa oralnim lihen planusom. Ghigliotti i McMannus su objavili podatke za dva bolesnika koji su praćeni [19].

SINDROM NEADEKVATNE SEKRECIJE ANTIDIURETSKOG HORMONA (SIADH)

Ovaj poremećaj se retko vidja u bolesnika sa timomom, a ovu pojavu su opisali Almog i sar., kao i Rosai i Argani i sar. kod malignih timoma i timoma tipa A [20].

1.7.4 DIJAGNOSTIČKE PROCEDURE KOD BOLESNIKA SA TIMOMOM

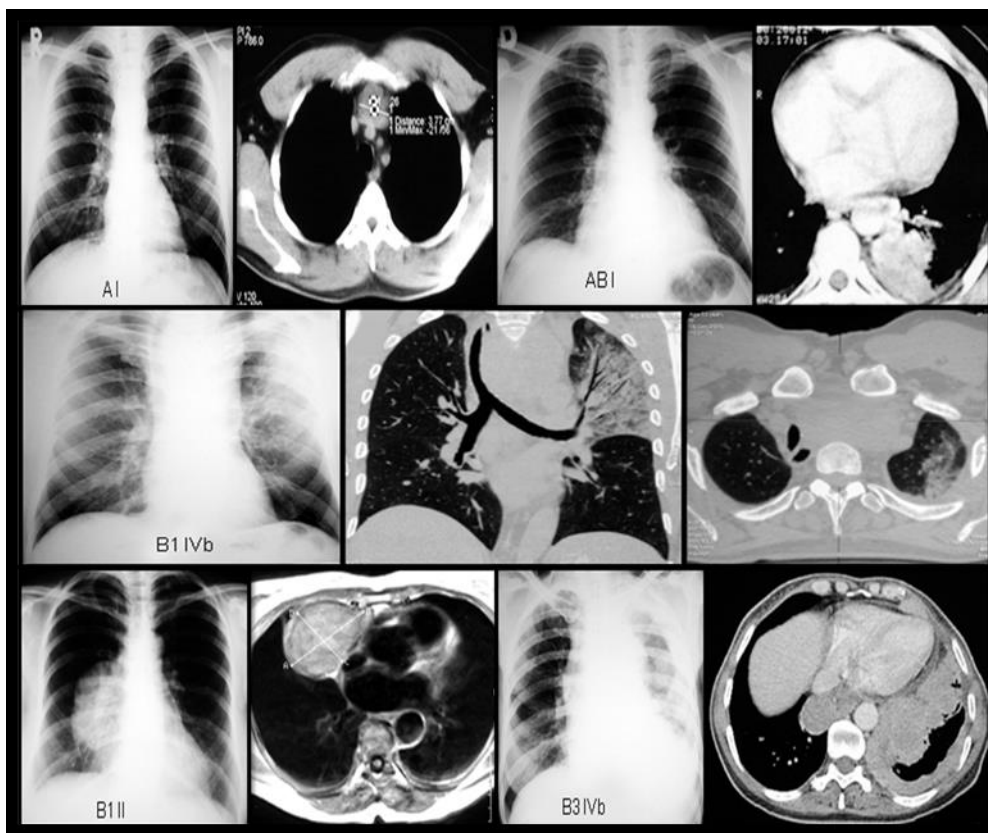
Pri postavljanju dijagnoze timičnih neoplazmi se zahteva multidisciplinarni pristup što podrazumeva blisku saradnju članova tima: bolesnika i njegove porodice, kliničara, radiologa, bronhologa/hirurga, patologa, molekularnog biologa/genetičara.

Potrebne procedure u brzom i pravovremenom detektovanju bolesti, što je preduslov uspešnog lečenja, sa imperativom individualnog pristupa i izbora dijagnostičkih postupaka:

- Anamnestički podaci i klinički pregled
- Krvna slika sa retikulocitima (detekcija aplazije krvne loze)
- LDH, beta HCG, alfa fetoprotein
- Testovi za detekciju autoimunih poremećaja prema kliničkom nalazu I ustanovljenom prisustvu paraneoplastičkih sindroma (na primer antitela na acetilholinske receptore kod mijastenije gravis)
- Serumski imunoglobulini kvantitativno, imuna precipitacija za detekciju monoklonalnih Ig, elektroforeza protein
- Imunohistohemijski (IHH) i biološki markeri
- Invazivne procedure (biopsije, operacija)

RADIOGRAFIJOM grudnog koša timomi se uočavaju kao inkapsulirane mase, dobro ograničene od okolnog tkiva, grubo sferičnog izgleda i manje ili više lobulirani. Uobičajeno, oni su lokalizovani anteriorno, unilateralno, blizu aortnog luka [21]. Krivolinijske, periferne kalcifikacije ukazuju na benignu formu. Pretežno amorfne kalcifikacije mogu da se pojave u obe forme, invazivnoj i neinvazivnoj.

Međutim, atipične forme tj. atipična radiografska prezentacija timusnih neoplazmi predstavljaju dijagnostičku zamku (slika 3):



Slika 3. Atipične radiografske prezentacije pacijenata sa timomom, Klinika za pulmologiju/KCS (1993-2013)

Kompjuterizovanom tomografijom grudnog koša (CT), timom se najčešće uočava kao multilobularna forma koja proizilazi iz jednog ili oba lobusa timusa, brišući normalnu konturu timusa. Može biti homogene ili nehomogene strukture zbog mogućeg prisustva cističnih promena, nekroze ili linearnih kalcifikacija na periferiji ili unutar timoma. Zerhouni i sar. su dokumentovali značaj CT-a u evaluaciji intratorakalnog širenja invazivnih timoma, što se loše vizuelizuje standardnim radiografijama grudnog koša. Scatarige i sar. Takođe sugerišu da je svim pacijentima sa invazivnim timomima koji angažuju dijafragmu potrebno uraditi CT gornjeg sprata abdomena da bi se sagledalo subdijafragmalno širenje bolesti [22].

Nuklearnom magnetnom rezonancom (NMR) timomi se prezentuju kao hipodenzne ili hiperdenzne promene zbog pojave cističnih, nekrotičnih ili hemoragičnih zona i često fibroznih septa unutar tumora [23]. Što se tiče utvrđivanja invazivnosti bolesti,

informativnija je u odnosu na CT pregled, i bolje prikazuje odnos tumora sa vaskularnim strukturama i limfnim žlezdama, što je nekad neophodno u planiranju operativnog pristupa. Sakai i sar. su konstatovali da prisustvo nehomogene, lobulirane strukture ukazuje na invazivnu formu timoma [24].

Mišljenja o ulozi i opravdanosti primene *PET CT-a* u dijagnostici timoma su podeljena. Sasaki i saradnici su zapazili da je preuzimanje 18-FDG (18-fluorodeoxyglucose) od strane timusnih carcinoma značajno veće u odnosu na epitelijalne timome zbog redukovane metaboličke aktivnosti poslednjih. Uočeno je da obe lezije preuzimaju različita jedinjenja sa ugljenikom ^{11}C . ^{11}C -metionin (MET) preuzima se podjednako od strane obe lezije [25]. Ohtasuka i saradnici su izvestili su da ^{11}C acetat može da se iskoristi za identifikaciju timoma, ali karcinomi nisu proučavani. U pacijenata sa stečenom MG, Liu i El-Bawab i njihovi saradnici, konstatuju da upotreba ^{18}F -FDG PET skena može razlučiti timom od timusne hiperplazije. Difuzno, homogeno preuzimanje u hiperplastičnoj žlezdi sa standardizovanom vrednošću (SUV) je od 0,7 do 2,5. U pomenutim studijama, pacijenti sa timomima su imali vrednosti SUV od 3,1 do 6,1. Međutim, pojačan hipermetabolizam timusnih hiperplazija može predstavljati diferencijalno dijagnostički problem i otežati postavljanje dijagnoze [26]. PET CT ima značaj u finalnom preoperativnom stažiranju bolesti kada se sumnja na diseminovanu bolest. Neophodna su dalja ispitivanja i utvrđivanje koristi od ^{18}F -FDG-PET-CT-a u razlikovanju timoma od timusnog carcinoma, kao i korelacija sa veličinom tumora na CT-u uz poređenja nižih sa uznapredovalim stadijumima.

Timus proizvodi nekoliko **hormona**, ali se ni jedan ne koristi kao tumor marker. Nasuprot ovome, mnoge **imunohistohemijske studije** koje proučavaju timome su identifikovale serumske markere. Imunohistohemijski markeri su podeljeni na one koje reaguju sa timusnim epitelijalnim ćelijama i one koje imaju interreakciju sa timusnim limfocitima. Imunohistohemijske studije se najviše bave identifikacijom timusnih epitelnih ćelija, kako bi se razlikovali timomi od limfoma i drugih tumora, tj. carcinoma, prevashodno prednjeg medijastinuma[27]. Prema Kornstein-u i sar., antitela na citokeratin su najkorisnija. Timusni karcinoidi su pozitivni na hromogranin – poseduju antitela, a epitelijalni timomi su negativni[28]. Pan i sar. konstatuju da se B limfociti – udruženi sa CD20 antigenom nalaze u epitelnim ćelijama (spindle cells) u većini tipova A i AB timoma, dok epitelne ćel. tip B1 do B3 timoma ne ekspimiraju ovaj antigen.

Hasserjian i sar. su naglasili važnost epitelijalnih tumor markera timusa kao što su citokeratin epitelijalni membranski antigen (EMA). Timomi se citokeratinom obeležavaju tipično-u vidu čipkastih mrlja. Ovo je, uz dodatne markere, od velikog značaja za razlikovanje timoma od drugih lezija prednjeg medijastinuma, posebno od limfoma[29]. Utvrđeno je postojanje GTF21 point mutacije u oko 80% Timoma tipa A, a kod 70-80% Timoma tipa AB. Timusni limfociti u timomima su različitog stepena diferencijacije, od protimocita do perifernih T limfocita. Za sada, fenotipizacija limfocita nema dijagnostičkog i prognostičkog značaja. Timusni karcinomi su imunohistohemijski pozitivni na CD5. Nonaka i sar. opisuju CD5 kao marker u 75% neadenokarcinomskih tipova timusnih karcinoma. Ipak, CD5 se mogu mestimično ispoljiti u tipu B3 timoma, malignih mezotelioma, uretralnih karcinoma, i adenokarcinoma različitih organa. Oko 15% of pulmonalnih skvamoznih karcinoma mogu ispoljiti ovaj marker. Nonaka i sar. su takođe istraživali korist od Foxn1 i CD205 u detekciji timusnih karcinoma. Foxn1 je transkripcioni faktor bitan u timusnoj organogenezi, a CD205 je protein koji je eksprimiran u timusnim kortikalnim epitelijalnim ćelijama. Istraživači su zaključili da je Foxn1 relativno senzitivna i specifična marker u timomima i timusnim karcinomima, ali CD205 nije senzitivna poput CD5 i CD117 (KIT). Nakagawa i sar. su koristili CD117 za obeležavanje timusnih karcinoma za KIT. Oni su utvrdili da se 16 od 20 (80%) timusnih karcinoma obeležavaju za KIT. Naprotiv, samo 2 od 50 (4%) timoma pokazuju pozitivno obeležavanje na KIT. Zaključuje se da još uvek nije utvrđen serumski marker za timusne karcinome i timome (tabela 1) [30].

Tabela 1. Imunohistohemijski nalazi u timusnim epitelijalnim tumorima i njihove diferencijalno dijagnostičke alternative

Tumor	Markeri
Timomi	
Epitelijalna komponenta	Citokeratin, epitelijalni membran antigen (EMA) su pozitivni; tip A može biti CD20-pozitivan
Limfocitna komponenta (tipe A)	TdT i CD1a su negativni; CD4 i CD8 su pozitivni
Limfocitna komponenta (tipe B1)	TdT, CD1a, CD4, i CD8 su pozitivni
Timusni karcinoma (tip C)	
Epitelijalna komponent	CD5, citokeratin, EMA su pozitivni; CD117 (KIT) je pozitivan u 80%
Limfocitna komponenta	CD3, CD4, ili CD8
Timusni karcinoid	Adrenokortikotropni hormon, chromogranin, sinaptofizin, citokeratin, NSE, bombesin
Timusni mikroćelijski karcinom	NCAM, NSE, bombesin, citokeratin
Paratiroidni adenom	Paratiroidni hormon, chromogranin, sinaptofizinin, citokeratin, NSE
TdT, terminal deoxynucleotidyl transferase; NCAM, neural cell adhesion molecule; NSE, neuron-specific enolase.	

Tomita i sar. su primetili da postoji veza između tumorske angiogeneze i ekspresije vaskularnog endotelnog faktora rasta [VEGF] i invazivnosti tumora. U studiji sa 38 reseciranih tumora (18 neinvazivnih i 20 invazivnih timoma), the mean microvessel densities were 4.6 ± 3.2 and 12.4 ± 7.5 . VEGF su bili ekspimirani u 5.6%, odnosno 55.0% slučajeva [31]. Prema ESMO smernicama imunohistohemijski (IHH) markeri mogu biti korisni, uključujući citokeratine i p63 ekspresiju za normalne i neoplastičke epitelijalne ćelije, i terminalnu deoxynucleotidyl transferaza ekspresiju na nezrelim T ćelijama (obično se uočavaju u AB, B1, B2 i B3 timomima, a ređe kod timoma tipa A i timusnih karcinoma) [32]. IHH sa anti-CD117/ KIT i anti-CD5 antitelima pomaže da se ustanovi timusno poreklo u oko 80% of medijastinalnih karcinoma. Obzirom da pomenuti marker nisu apsolutno specifični, korelacija sa kliničkom slikom se obavezno

preporučuje, a čak je i obavezna u podvrsti od oko 20% timusnih carcinoma sa CD117/KIT i CD5 [33]. Kod timusnih tumora sa više histoloških podtipova, svaka komponenta mora biti analizirana počevši od najdominatnije i bude kvantifikovano povećanje od 10%; komponenta timusnog karcinoma mora biti prva istaknuta (tabela 2)[34].

Tabela 2. IHH u TET

	Epitelni markeri	Miscellaneous carcinomi	Neuroendokrini	Germ cell tumor markeri	Markeri za TU plućnog porekla	Limfoidni markeri zrelih T fenotip	Limfoidni markeri nezrelih T fenotip	Limfoidni markeri CD20	
	Cyto-keratin	CD117, CD5*, CD70, EM A*	Synaptophysm. chromogranin CD56	Oct 3 /4. a fetoprotein. CD30. PLAP	TTF-1, Napsm. Surfactant apoprotein	CD3, CD45	CD99, Tdt. CD 1a	LY	EC
Timomi	+	-	-	-	-	+	+	-	+/-
Timusna hyperplasia	+	-	-	-	-	+	+	+	-
Timusni karcinomi	+	+	+/-	-	-	+	-	-	-
Timusni neuroendokrini tumori	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Limfomi	-	-	-	+(CD30*)	-	+	+	+	-
Germ cell tumori	+/-	-	-	+	-	-	-	-	-
Metaze	+/-	-*	+/-	-	+	-	-	-	-

Česte molekularne aberacije utvrđene kod TET su prikazane u tabeli 3.

Tabela 3. Biološki markeri (genske mutacije) u TET

Molekularne aberacije	Timomi (%)	Timusni karcinomi (%)
EGFR overexpression (IHC)	71	53
EGFR mutacije	10	0
HER-2 overexpression	6	47
SCFR/KIT/CD117	0-2	79-88
KIT mutations	0	7
IGF-1R	43	86
KRAS	<5	<5
HRAS	<5	?
Neurotrophin receptori	99	100
Trk-A		
Trk-B	0	0
Trk-C	0	0
p75 (NTR)	76	90
p16INK4 downregulation	3-13	3-13
P53	6	74
GTF21	74-82	0

M.Scorsetti i saradnici. Critical Reviews in Oncology/Hematology (2016)

Potrebno je konsultovati drugog patologa koji će izneti slučaj komisiji patologa za timusne tumore u slučaju postojanja teškoća pri postavljanju dijagnoze [35,36].

Ukoliko na osnovu kliničke slike (nekad je olakšano prepoznavanje timoma i prisustvom nekog od paraneoplastičkih sindroma) i radiografske prezentacije nema sumnje da je utvrđena timusna neoplazija, i imponuje da je proces operabilan, a nema drugih kontraindikacija poput prisustva komorbiditeta, radikalnoj hirurškoj operaciji se neopozivo pristupa, preporučuju sve evropske i svetske smernice /European Society for Medical Oncology (ESMO), National Comprehensive Cancer Network (NCCN)/, i preoperativna biopsija nije neophodna.

Postoji više hirurških pristupa:

1. Transcervikalni (nije preporučljivo za timome)
2. Transsternalni (kompletna sternalotomija medijana ili parcijalna sternotomija~manubriotomija)
3. VATS (video asistirana torakoskopija)
 - Unilateralna (desna ili leva)
 - Bilateralna (desna – leva – subksifoidna)
 - Robotičke tehnike (desna ili leva)
4. Kombinovane procedure
 - Transcervikalno+sternalni retractor
 - Transcervikalno+parcijalna sternotomija
 - VATS+cervikalna incizija
 - Bilateralna prednja torakotomija

Ukoliko dijagnoza timusne neoplazije nije sigurna i postoje diferencijalno dijagnostičke dileme, a proces nije indikovao za radikalnu operaciju, pristupa se invazivnim dijagnostičkim procedurama: biopsiji. Uvek se radije preporučuje minimalni hirurški pristup, na primer VATS, ili otvorena biopsija pluća eksplorativnom torakotomijom, a ukoliko nije moguće na ovaj način dijagnostikovati proces, pristupa se biopsiji tumora širokom iglom pod kontrolom ultrazvuka (Nordenstrem, TRU CUT biopsija~percutaneous core needle biopsy) [37]. Ovakav vid biopsije se preporučuje zbog preciznosti postupka, uzima se veći uzorak. Stoga se FNAB (fine needle aspiration biopsy) ne preporučuje [38].

1.7.5 HISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA TIMOMA

Uloga patologa je da patohistološki nalaz timoma imenuje prema savremenoj patohistološkoj klasifikaciji timoma, po klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije (World health organisation ~ WHO), kao i da utvrdi postojanje i stepen invazivnosti tumora.

Timomi i timusni karcinomi se klasifikuju prema patohistološkoj (PH) klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije. Ona korelira sa prethodnom Müller-Hermelink~ovom klasifikacijom (tabela 4).

Tabela 4. Uporedni prikaz WHO i Müller-Hermelink patohistološke klasifikacije timoma

World health organisation (WHO)	Müller-Hermelink
Tip	Histogenetska podela
A	Medularni timom
AB	Medularni i kortikalni timom
B1	Dominantno kortikalni timom
B2	Kortikalni timom
B3	Dobro diferentovan timusni karcinom
C	Timusni karcinom

Morfološke karakteristike subtipova timoma pokazuje tabela 5.

Tabela 5. Morfološke karakteristike subtipova Timoma

WHO	Müller-Hermelink tip	Morfologija	10-to godišnje preživljavanje
Tip	Histogenetska podela		(%)
A	Medularni timom	Krtužne ili ovalne-vreteneste neoplastične timične epitelijalne ćelije, praćene sa nekoliko, ili bez limfocita. Epitelijalne ćelije ne pokazuju ćelijsku atipiju jedara.	100
AB	Miksni timomi (medularni i kortikalni)	Varijabilno odvojene oblasti pokazuju (medularni i kortikalni) karakteristike Timoma tipa A i Timoma tipa B.	75
B1	Dominantno kortikalni	Tumor uglavnom liči na normalan korteks sa pojedinačnim oblastima medularne diferencijacije, sastavljen od mnogobrojnih nespecifičnih atipičnih epitelijalnih ćelija i prisutnim limfocitima.	92
B2	Kortikalni	Tumor izgleda kao normalan korteks sa brojnijim epitelijalnim ćelijama nego u B1. Epitelijalne ćelije imaju veća jedra i upadljivija jedarca. Fokusi medularne diferencijacije su malo zastupljeni ili čak odsutni.	87,5
B3	Dobro diferentovan	Tumor je sastavljen od formacija kružnih ili poligonalnih epitelijalnih ćelija koje pokazuju blagu atipiju i sadrži malo ili nimalo limfatičkih komponenata.	30
C	Timusni karcinom	Maligne epitelijalne ćelije. Citoarhitektonika više nije (za endokrine karcinome) specifična za timus.	0

Patohistološka klasifikacija timoma je ukazala na brojne zakonomernosti i pravilnosti u biološkom, tj kliničkom ispoljavanju timoma [39]. Tako je utvrđeno da se timomi A i B2 češće javljaju u Evropi i SAD, za razliku od tipa AB i B3 koji su češći u Aziji. Dalje, timomi su udruženi često sa autoimunim paraneoplastičkim sindromima, za razliku od timusnih karcinoma kod kojih se ove bolesti retko viđaju. Nešto češća učestalost je timoma A, AB i B1 kod žena, a timusnih karcinoma kod muškaraca. Kod timoma A i AB je u visokom procentu zastupljena GTF21 point mutacija, i služi kao biomarker u sklopu palete dijagnostičkih postupaka. Timomi mogu metastazirati, ali najčešće lokoregionalno kao implantati na pleuri ili kao plućni nodulusi, a retko hematogenim putem u

ekstratoraksne oblasti, za razliku od timusnih karcinoma koji daju i udaljene metastaze [40, 41].

Patohistološka klasifikacija je ustanovljena prema odnosu tj. proporciji zastupljenih osnovnih elemenata koji čine timusne neoplazme, prema stepenu izraženosti ćelijske atipije i stepenu diferentovanosti epitelnih ćelija i limfocita [42]. Stepenu atipije i agresivnosti tumora raste i sve je izraženija prema redosledu kako je navedeno u PH klasifikaciji timoma: **A, AB, B1, B2, B3**, a timomi **C** ili timusni karcinomi se po svojim biološkim karakteristikama ubrajaju u posebnu grupu timusnih epitelnih tumora (TET). **Timomi PH tipa A** su najređi, javljaju se u 4-7% slučajeva, zastupljene su epitelne ćelije sa niskom proliferativnom aktivnošću i malim prisustvom nezrelih limfocita. Najčešće su inkapsulirani i generalno imaju dobru prognozu. **Timomi AB** se viđaju u 28–34%, predstavljaju kombinaciju A i B tipa, u žlezdi, tj. tumoru se uočavaju oblasti bogate i siromašne limfocitima. **Timomi B1** (9-20%) poseduju i delove normalnog tkiva timusa, kortikalno/medularne oblasti, visok procenat malih limfocita, dok su epitelne ćelije neupadljive. **Timomi B2** (20-36%) nastaju od kortikalnog tipa timocita, bogati su nezrelim T limfocitima koji su pomešani sa velikim timusnim epitelnim ćelijama i veoma su ispoljene genske alteracije. **Timomi B3** (10-14%), zovu se još i atipični ili epitelni timomi, dominiraju atipične epitelne ćelije, kortikalni tip, malo limfocita je prisutno. **Timomi C** (timusni karcinomi) poseduju ćelije koje su morfološki malignem nema nezrelih limfocita. Poseduju tumorsku stromu sa zonama nekroze, a skvamozna diferencijacija ćelija je najzastupljenija (80%). Utvrđeno je prisustvo nekih čestih genskih mutacija: TP53, PIK3CA, RAS, KIT (10%). Invazivni su i imaju lošu prognozu. **Timusni neuroendokrini (NE) tumori** su izdvojeni u posebnu grupu. Nastaju od NE ćelija, i imaju morfologiju i fenotip NE ćelija. Retki su tumori (5%). Slični su plućnim NE tumorima. Podeljeni su u tri osnovne grupe: karcinoidi (tipični i atipični), large cell (krupnoćelijski), small cell (sitnoćelijski) karcinomi.

Dadmanesh i saradnici opisuju ovu klasifikaciju sažeto: “U ovoj šemi, timomi su razmatrani na kombinovanoj osnovi morfološke slike neoplastičkih epitelijalnih ćelija... i relativnom broju ovih ćelija *vis a vis* neneoplastičkih limfocita”. Tip A predstavljaju “atrofične” ćelije, reprezentujući timične ćelije odraslog doba; tip B predstavlja “bioaktivne” ćelije, reprezentujući biološki aktivan timus fetusa ili deteta; a tip C predstavlja “karcinome”. Ističe se da je poreklo vretenastih epitelijalnih ćelija nepoznato,

smatra se da su tipične komponente manje agresivnih timoma (medularna varijanta). Ne uočavaju se u normalnom medularnom tkivu žlezde adolescenata i dece, ali se u malom broju viđa na periferiji adultnog atrofičnog timusa. Prema Rosai [], ove ćelije odgovaraju nefunkcionalnim epitelijalnim timičnim ćelijama u involuiranom timusu odraslih.

Ranije korišćena klasifikacija na benigne i maligne timome je napuštena zbog pogrešnog označavanja, te treba koristiti termine invazivni i neinvazivni, da bi se označilo ponašanje ovih tumora. Neinvazivni imaju intaktnu fibroznu kapsulu, slobodno su pokretni i lako se resekiraju. Mogu biti adherentni za okolne structure, ali mikroskopski nema invazije kroz kapsulu. Invazivni timomi urastaju u okolne structure i može biti teško da se resekiraju. Često zahtevaju en bloc resekciju medijastinumskih struktura. Uprkos tome, oni zadržavaju citološki benigni izgled mikroskopski [43].

1.7.6 KLINIČKA STAGEING KLASIFIKACIJA TIMOMA

Sistem stažiranja tumora koja podrazumeva spregu hirurg/patolog, i može se primeniti nakon sprovedene hirurške resekcije, zove se Masaoka-Koga stejdžing system. Nedavno, The International Association for the Study of Lung Cancer Prognostic Factors Committee (IASLC) i International Thymic Malignancy Interest Group (ITMIG) su dali predlog nove TNM klasifikacije timusnih neoplazmi. Prikazane su tabele u kojima su komparativno prikazane pomenute stejdžing klasifikacije TET~a uz prikaz ukupne stope preživljavanja i relapsa po stadijumima bolesti, kao i nova, revidirana TNM klasifikacija sa detaljnim opisom deskriptora, (tabela 6 i 7) [44].

Tabela 6. Stažiranje timičnih epitelijalnih tumora: Masaoka-Koga-stejdžing sistem^[40,41], International Thymic Malignancy Interest Group^[124] uz ukupno preživljavanje i vreme do relapsa bolesti (stope) ^[147]

Masaoka-Koga, 1994		International Thymic Malignancy Interest Group, 2011	10-to godišnje preživljavanje	10-to godišnja kumulativna incidence relapsa	
				Timomi	Timusni karcinomi
I	Makroskopski i mikroskopski potpuno inkapsuliran tumor	<ul style="list-style-type: none"> - Invazija u kapsulu, ali je ne probija - U odsustvu capsule, odsustvo invazije u okružujuće tkivo 	84% (81–86)		
IIA	Mikroskopski transkapsularna invazija	<ul style="list-style-type: none"> - Mikroskopski transkapsularna invazija (<3 mm) 	83% (79–87)	8% (7-8)	25% (22–29)
IIB	Macrokopska invazija u timus i okružujuće masno tkivo, ili invazija (bez prodora) u medijastinalnu pleuru ili perikard	<ul style="list-style-type: none"> - Masivna ekstenzija u timus ili peritimično masno tkivo koje okružuje tumor (mikroskopski potvrđena) - Adheriranost uz pleura i perikard, sa mikroskopskom potvrdom peritimične invazije 			
III	Makroskopska invazija u okolne organe (perikard, veliki krvni sudovi, pleura)	<ul style="list-style-type: none"> - Mikroskopska invazija u medijastinalnu pleuru (parijetalna ili u elastinski sloj) - Mikroskopska invazija u perikard (parijetalni fibrozni ili serozni sloj) - Mikroskopski potvrđena direktna invazija u elastinski spoljašnji visceralni sloj pleure ili plućni parenhim - Mikroskopski potvrđena invazija n. frenikusa ili vagusa - Mikroskopski potvrđena invazija ili penetracija velikih vaskularnih struktura 	70% (64–75)	29% (27-31)	59% (44–76)

		- Adheriranost uz pluća ili susedne organe pod uslovom da je mikroskopski potvrđena invazija pleure ili perikarda			
IVA	Pleuralne ili perikardijalne metastaze	- Mikroskopski potvrđeni nodusi na visceralnoj ili parijetalnoj pleuri ili perikardu ili na površini epikarda	42% (26–58)	71% (34–100)	76% (58–100)
IVB	Limfogene ili hematogene metastaze	- Limfogene ili hematogene metastaze	53% (32–73)	57% (24–90)	54% (37–67)

Girard N et al. Ann Oncol 2015; 26 (supp 5);v40-v55.

Tabela 7. Tumour–Node–Metastasis stažiranje (International Association for the Study of Lung Cancer Prognostic Factors Committee - International Thymic Malignancy Interest Group) [147], i uporedno sa Masaoka-Koga stažiranjem

Stadijum		Deskriptori
T1	T1a	Inkapsulirani ili neinkapsulirani tumor, sa ili bez invazije u okolno medijastinalno masno tkivo
	T1b	Invazija u medijastinalnu pleuru
T2		Direktna invazija perikarda (parcijalna ili celom debljinom)
T3		Direktna invazija u pluća, brahiocefaličnu venu, VCS, zid grudnog koša, frenični nerv ili hilarne (extraperikardijalne) pulmonalne krvne sudove
T4		Direktna invazija aorte, krvnih sudova luka Ao, glavne plućne arterije, miokarda, traheje i ezofagusa
Node		
N0		N0 Bez zahvatanja limfnih žlezda
N1		N1 Prednji peritimični limfni nodusi (IASLC grupe 1, 3a, 6 i/ili supradiaphragmalni/donji ili frenični/perikardijalni)
N2		N2 Duboki intratorakalni ili cervikalni (IASLC grupe 2, 4, 5, 7, 10 i/ili međumamarni limfni nodusi)
Metastaze		
M0		Bez metastaza na pleuri, perikardu ili udaljenih metastaza
M1	M1a	Separatni pleuralni ili perikardijalni nodusi (s)
	M1b	Nodusi u plućima ili udaljenim organima
Staziranje		Uporedni, Masaoka-Koga stadijum
I	T1N0M0	I, IIA, IIB, III
II	T2N0M0	III
IIIA	T3N0M0	III
IIIB	T4N0M0	III
IVA	T any 0,1 M0,1a	IVA, IVB
IVB	T any N0-2 M0-1b	IVB

Girard N et al. Ann Oncol 2015; 26 (supp 5):v40-v55

1.7.7 PROGNOZA TIMOMA

Pravovremeno, tj. otkrivanje bolesti u ranom stadijumu uz kompletnost resekcije pri operativnom pristupu su najvažniji prediktori dugog preživljavanja [45]. Klinički staging dobro korelira sa prognozom, jer je 5-godišnje preživljavanje za stadijum I-96%, II-86%, III-69%, IV-50%. Poboljšanje prognoze kod pacijenata sa uznapredovalim timomom postiže se multidisciplinarnom primenom neoadjuvantne terapije koja može “down-staging-om” obezbediti hirurški pristup kod inicijalno neresektabilnog timoma [46]. Rani relaps bolesti nakon sprovedene operacije je loš prognostički factor ukupnog preživljavanja. Prisustvo autoimunih bolesti, poput mijastenije gravis, ranim radovima je shvaćeno kao loš prognostički faktor, međutim, savremena istraživanja pokazuju upravo suprotno. Međutim, iako diskutabilan fenomen, najverovatnije je kod ovih pacijenata povoljno to što se bolest rano otkrije upravo zbog prisustva simptoma koji ukazu na postojanje tumora, te se bolest rano otkrije. Pacijenti mlađi od 30~40 godina imaju bolju prognozu. Uticaj genskih mutacija na patogenezu ovih tumora, stopu relapsa i ukupno preživljavanje je objekat daljih istraživanja [47].

1.7.8 TERAPIJA TIMOMA

Operativni pristup, radioterapija i hemoterapija su osnovni terapijski pristupi u lečenju timoma, uz primenu suportivne terapije (best supportive care~BSC) [48].

Resekcija/operacija je terapija prvog reda: mogućnost sprovođenja kompletne resekcije je najznačajniji prediktor dugotrajnog preživljavanja [49]. Osnovno pravilo resekcije je kompletnost zahvata, tj. eliminisati mogućnost postojanja rest tumora zbog mikroskopske ili makroskopske invazije tumorskih ćelija u okolno tkivo. Poseban oprez se preporučuje kod obolelih od mijastenije gravis. Tada, čak iako nisu evidentni ubedljivi znaci invazije, uklanja se i okolno masno tkivo oko tumora. U stadijumu III se preporučuje proširena resekcija, a u IV - ekscizija svih pleuralnih implanta. Nekad se pristupa izuzetno agresivnim merama uključujući resekciju pluća, pleure, frenikusa, perikarda i velikih krvnih sudova. Preživljavanje je slično nakon kompletne resekcije i za one sa invazivnim i za one sa neinvazivnim timomom. Preporučuje se primena indukcione (neoadjuvantne) hemoterapije, radioterapije ili kombinovano radi downstageinga bolesti u cilju mogućnosti potom sprovođenja operacije, kada je bolest inicijalno inoperabilna[50]. Vrednost subtotalne resekcije ili procedura smanjenja tumorske mase (debulking) u III i

IV stadijumu ostaje kontroverzna. Takođe, uloga hirurgije u lečenju rekurentne bolesti se podržava, pristupa se kao inicijalno dijagnostikovanoj neoplazmi. Stopa recidiva bolesti je 1-5% za neinvazivne i oko 20% za invazivne kompletno resecirane tumore [51,52].

Radioterapija (RT) je takođe osnova lečenja, jer su timomi radiosenzitivni tumori [53]. Može se primeniti i pre i posle operacije, kao i u tretiranju rekurentne bolesti [54]. Generalno postoji saglasnost stava o postoperativnom zračenju invazivnih timoma (stadijum II i III) [55]. Adjuvantna radioterapija se svakakao uključuje kada postoji mikroskopska ili makroskopska invazija u okolno tkivo, bez obziora na kompletnost resekcije tumora (stopa recidiva je 5-28%, a 5-god. slobodni interval za stadijum II-IV je 18-62%). Takođe ima svoje mesto i u lečenju odmakle bolesti (III i IV stadijum). Preporučene doze su 30-60Gy tokom 3-6 nedelja [56].

Hemoterapija (HT) se sve više primenjuje u poslednjoj dekadi, stavovi su se menjali i dopunjavali [57]. Odavno je zaključeno da se najviše preporučuju režimi u kombinaciji sa platinskim derivatima. Invazivni timomi su senzitivni na hemoterapiju, ukupna stopa odgovora se postiže u 50% slučajeva [58]. Preporučuje se kao inicijalni pristup u terapiji III i IV stadijuma bolesti, ili posle relapsa [59,60,61,62]. Ispitivanja sa multikinaza-inhibitorima (sorafenib), EGFR inhibitorima, kao i inhibitorima angiogeneze su u toku. Skorašnje studije pokazuju visoku ekspresiju VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D kao i tirozin kinaza (TK) receptora [63,64,65], kao i mogućnost delovanja na IGF-1R (insulin-like growth factor 1 receptor) [66,67] se još uvek ispituju. CD20 antitela se primenjuju u miksnim spindle/limfocitni timomima – rituximab, posebno u terapiji refraktorne miastenije gravis kod pacijenata sa ili bez timoma [68].

Ranije preporučivan terapijski pristup prema stadijumima bolesti je podrazumevao:

I stadijum

Standardni pristup je hirurška resekcija. Radioterapija nije indikovana kod kompletne resekcije inkapsuliranog tumora. RT je indikovana u slučajevima kada je visok rizik za operativni pristup.

II stadijum

RT je indikovana postoperativno u slučajevima kada je patohistološki dokazana invazija kapsule ili okolnog tkiva. U slučajevima kada tumor nije kompletno resecirano ili je

neresektabilan, RT ili kombinovana primena RT i HT mora biti sprovedena. Ipak, stavovi su bili kontradiktorni.

III i IV stadijum

Terapijski pristup podrazumeva en bloc hiruršku resekciju i adjuvantnu radioterapiju. Indukciona terapija se preporučuje u slučajevima sa inicijalno neresektabilnim procesom, kao pokušaj da se proces učini operabilnim. Čak i kada se ne može učiniti kompletna resekcija tumora, prognoza za bolesnike sa parcijalno reseciranim timomom je bolja u odnosu na neoperisane. Ipak, u ovim stadijumima bolesti, hirurški pristup je limitiran, te je radiohemoterapija – terapija izbora.

Terapija relapsa i refraktorne bolesti

Relaps bolesti se najčešće konstatuje u višim stadijumima bolesti, a posebno kod timičnog karcinoma. Stopa relapsa za stadijum I, II, III, IV je 0,9%, 4,1%, 28,4% i 34,4 -51%. Prosečno vreme do pojave relapsa je 5 god. i to najčešće na pleuri. Prognoza zavisi od broja organa koji su recidivom zahvaćeni. Obzirom na moguć rest tumor ili kasni relaps bolesti, preporučuje se doživotno praćenje ovih bolesnika. Odluka o vrsti tretmana rekurentne ili refraktorne bolesti, zavisi od inicijalnog pristupa, tj. terapije. Hirurški retreatman se preporučuje kod lokalnih recidiva. Uočeno je da se prognoza poboljšava, dok na diseminovanu bolest hirurški tretman nema uticaja. Hirurški pristup je izvodljiv u više od polovine svih recidiva i kompletna resekcija se postiže u 62% reoperisanih bolesnika. RT ima ulogu u postoperativnoj terapiji kod nekompletne resekcije, kao i kod kompletne resekcije rekurentnih timoma. Ako hirurška resekcija nije moguća, terapiju zračenjem treba sprovesti kada je to moguće na osnovu pretretmana. Kortikosteroidi se primenjuju kod neresektabilnih tumora i onih koji su refraktorni na radioterapiju, i mogu dati dobre rezultate uz primenu hemoterapije, molekularne terapije i u novije vreme imunoterapije [69].

Savremene terapijske preporuke za lečenje timoma (ESMO vodič):

Terapijski pristup resektabilne bolesti:

- Najvažniji, prvi pristup u određivanju terapijske strategije je odrediti da li je tumor operabilan.
- Odluka o operativnom lečenju se zasniva na ekspertizi hirurga, međutim, savetuje se multidisciplinarni pristup.
- Ukoliko je radikalna operacija moguća, operacija je prvi korak u lečenju.

Hirurški principi:

- Standardan pristup je sternotomia mediana.
- Kompletna timektomija sa ekstirpacijom tumora, rezidualnog timusa i peritimičnog masnog tkiva se preporučuje.
- Timektomija bez ekstirpacije rezidualnog timusa i peritimičnog masnog tkiva se sprovodi u I stadijumu bolesti, ukoliko bolesnik nema pridruženu miasteniju gravis.
- Ukoliko je bolest ekstenzivna/diseminovana (stadijum III/IV), tada se sprovodi en bloc uklanjanje zahvaćenih struktura, uključujući plućni parenhim, perikard, velike krvne sudove, nerve i pleuralne implante nerves and pleural implants.
- Oblasti operativnog reza koje su nesigurnih margina moguće zahvaćenosti tumorom, obeležavaju se klipsama radi preciznog, sprovođenja PORT~a odgovarajuće regije, a tokode se na isti način obeležava i tkivo reseciranog tumora koje će se uputiti na patohistološku analizu
- Čuvanje freničnog nerva ne utiče značajno na ukupno preživljavanje, ali utiče na povećanje rizika od lokalnog recidiva bolesti.
- Ne preporučuje se pristup zamrzavanja sekcija tumora da bi se odredile slobodne granice margina pri operaciji.
- Minimalno invazivni hirurški pristup je preporučena opcija u I–II stadijumu tumora, pod kontrolom veštog hirurga.
- Izbor minimalno–invazivnog pristupa ne sme da ugrozi potrebu radikalnosti operacije koja zahteva klasičnu torakotomiju.
- Minimalno invazivni hirurški pristup se ne savetuje u III stadijumu zbog malog broja podataka dugoročnog praćenja ovih bolesnika.
- Rutinska ekstirpacija prednjih medijastinalnih i prednjih cervikalnih limfnih nodusa se preporučuje.
- Ohrabruje se uzimanje intratorakalnih uzoraka tkiva u stadijumu III/IV tumora.
- Sistemska limfadenektomija se preporučuje (N1 + N2) u slučaju timičnog carcinoma sa visokom stopom zahvatanja limfnih nodusa.

Principi komunikacije i funkcionisanja hirurga i patologa

- Uloge patologa i hirurga su da precizno stažiraju timusne tumore.
- Odgovornost je nadležnog hirurga (operatora) da odredi i označi zahvaćene structure organa ili regija mikroskopskim ili makroskopskim širenjem bolesti.
- Dovoljan broj reprezentativnih uzoraka mora biti pregledan, bez obzira na dijametar tumora; ukoliko je margina <1 mm, minimalno bar tri uzorka iz date regije treba dobiti.
- Kompletnost resekcije mora biti ostvarena, tako da okružujuće margine oko tkiva odakle je ekstirpiran patološki proces, budu slobodne od tumora.

Postoperativna radioterapija (PORT)

- PORT treba započeti unutar 3 meseca od sprovedene operacije.
- Preporučuje se upotreba 3D konformalne RT ili ciljane, na ležište tumora intensity-modulated RT.
- Klinički – target volumen uključuje celu regiju timusa, tumor sa tkivom u kome je registrovana, i prednji, gornji i srednji medijastinum.
- Preporučene standardne doze za RT medijastinuma se preporučuju
- Ukupna – doza od 45–50 Gy posle RO, 50–54 Gy posle parcijalne resekcije, sa dopunskom dozom zračenja onih regija gde je sumnja na reziduu, tj rest tumora, sa dozama kao se preporučuju u ovakvi slučajevima (korisno je obeležavanje ovakvih mesta pri samoj operaciji).
- Savetuje se primena konvencionalne frakcionirane dnevne doze po utvrđenoj šemi – 1.8 do 2 Gy tokom 4- do 6-nedelja.
- Polje zračenja može uključiti involvirane limfne noduse, kao i stranu gde je sprovedena resekcija pleure zahvaćene metastatskim (najčešće solitarnim) procesom.
- Profilaktička iradijacija supraklavikularnih limfnih nodusa se ne preporučuje.
- RT niskim dozama čitavog hemitoraksa se ne preporučuje

Posle sprovedene RO timoma:

- PORT nije indicovana kod I stadijuma thymoma po Masaoka-Koga klasifikaciji.
- PORT nije indicovana kod II stadijuma thymoma, ali može biti razmatrana kod agresivnog PH tipa (B2, B3) ili transkapsularne invazije (stadijum IIB).
- PORT se savetuje posle RO III/IVA stadijuma thymoma.

Posle RO timusnih karcinoma:

- PORT je za I stadijum opciona.
- PORT treba da se uzme u obzir za II stadijum.
- PORT se preporučuje za III/IVA stadijum.
- PORT se savetuje u slučaju mikroskopske (R1) ili makroskopske parcijalne (R2) resekcije, sa ukupnom dozom 50–54 i 60 Gy, prema navedenom redosledu, sa dodatnih 10-Gy na regiju suspektne rezidualne bolesti.

Postoperativna hemoterapije (POHT)

- POHT nije indicovana posle R0–R1 resekcije timoma.
- POHT se može razmatrati kao opcija u II/III/IV stadijumu timusnih karcinoma, posebno ukoliko nije primenjena indukciona HT.

Pristup uznapredovalo, diseminovanoj bolesti:

- Ukoliko se RO ne može sprovesti inicijalno, pristupa se primeni indukcione HT, delom zbog kurativnog efekta, sa strategijom implementiranja hirurškog pristupa i/ili RT u sledećoj fazi (u downstageingu bolesti). U slučaju nemogućnosti lokalnog terapijskog pristupa, primenjuje se samo palijativna HT.

Primarna/indukciona HT:

- Primena indukcione HT je terapijski standard kod neresektabilnog, lokalno uznapredovalog epitelijalnog tumora timusa.
- HT režimi bazirani na Cisplatinu treba da budu primenjeni; kombinacija cisplatin, doxorubicin i cyclophosphamide, i cisplatin i etoposide su opcije koje se preporučuju.
- Primarna hemoradioterapija sa platinom i etopozidom kao HT režimom se preporučuje za lečenje timusnih karcinoma.

- Uobičajeno se primenjuje dva do četiri ciklusa HT do procene odgovora i uvida u mogućnost resektabilnosti tumora.
- Operacija se razmatra kod pacijenta kod koga se nakon primenjene HT procenjuje mogućnost sprovođenja RO.
- Hipertermička intrapleuralna HT, kao i ekstrapleuralna pneumonektomija se može razmatrati u IV A stadijumu bolesti.
- PORT se savetuje.
- Subtotalna – resekcija, poznata i kao debulking resekcija, je opcija kod pojedinačnih izabranih slučajeva, u cilju olakšavanja primene naknadne definitivne RT.
- Debulking se ne savetuje kod carcinoma timusa.
- Postoperativna – hemoradioterapija (uključujući cisplatin, etopozid HT režim i ukupnu dozu RT 60 Gy) može da se razmatra posle subtotalne operacije (debulking/R2 resekcija).

Definitivna RT

- Kada pacijent nije kandidat za operativni pristup, RT se proporučuje u nastavku lečenja kao deo HT/RT režima.
- Kombinacija sa HT– (uključujući cisplatin, etopozid HT i ukupnu dozu RT sa 60–66 Gy) može se razmotriti.

Definitivna HT

- HT – treba da bude primenjena kao unimodalni režim lečenja kod uznapredovalog, neresektabilnog tumora, gde nema indikacija za sprovođenje RT ili kod metastatskih (IVB stadijum) timusnih epitelijalnih tumora.
- HT režimi bazirani na platinskim derivatima treba da budu primenjeni.
- Kombinacija cisplatin, doxorubicin i cyclophosphamide se preporučuje.
- Kombinacija carboplatin i paclitaxel je opcija kod timusnih karcinoma.
- Hirurški pristup i RT se sprovodi kod retkih, selektovanih slučajeva sa metastatskom bolešću, bez dokazanog benefita sprovedena pomenute terapije.
- RECIST v1.1 kriterijumi treba da služe za procenu odgovora nakon primenjene HT.

Tabela 8. Hemoterapijski režimi kod uznapredovalih tumora timusa bazirano na trajalima II faze (ESMO vodič)

Režimi	Agensi	Doze
ADOC	Doxorubicin	40 mg/m ² /3 nedelje
	Cisplatin	50 mg/m ² /3 nedelje
	Vincristine	0.6 mg/m ² /3 nedelje
	Cyclophosphamide	700 mg/m ² /3 nedelje
CAP	Cisplatin	50 mg/m ² /3 nedelje
	Doxorubicin	50 mg/m ² /3 nedelje
	Cyclophosphamide	500 mg/m ² /3 nedelje
PE	Cisplatin	60 mg/m ² /3 nedelje
	Etoposide	120 mg/m ² × 3 dana/3 nedelje
VIP	Etoposide	75 mg/m ² × 4 dana/3 nedelje
	Ifosfamide	1.2 g/m ² × 4 dana/3 nedelje
	Cisplatin	20 mg/m ² × 4 dana/3 nedelje
CODE	Cisplatin	25 mg/m ² /1 nedelja
	Vincristin	1 mg/m ² /2 nedelje
	Doxorubicin	40 mg/m ² /2 nedelje
	Etoposide	80 mg/m ² × 3 dana/2 nedelje
Carbo-Px	Carboplatin	AUC 5–6/3 nedelje
	Paclitaxel	200–225 mg/m ² /3 nedelje
CAP-GEM	Capecitabine	650 mg/m ² b.i.d. 14 dana/3 nedelje
	Gemcitabine	1000 mg/m ² × 2 dana/3 nedelje

Girard N et al. Ann Oncol 2015; 26 (supp 5):v40-v55.

Relaps bolesti

- Recidivu tumora se pristupa po strategiji novodijagnostikovanog primarnog tumora.
- RO recidiva se preporučuje kada je izvodljiva.
- Nekoliko konsektivnih HT linija pri progresiji bolesti se preporučuje kao i readministracija prethodno efikasnog HT režima.
- Preporučuju se režimi koji sadrže carboplatin i paclitaxel u drugoj HT liniji, i platina sa etopozidom; capecitabine plus gemcitabine je opcija takođe.
- Opcija za naknadne HT linije je pemetrexed i oralni etopozid.
- Kod pacijenata sa octreoscan-pozitivnim timomom koji nije kandidat za primenu dodatne HT, octreotide kao monoterapija ili sa prednizonom može predstavljati poželjnu opciju.

Target agensi

- KIT sequencing (exoni 9–17) je moguća opcija za refraktorne karcinome timusa bazirano na potencijalnoj mogućnosti primene specifičnih inhibitora.
- Ne preporučuje se primena imatiniba u odsustvu – KIT-senzitizirajućih mutacija.
- Sunitinib je opcija u drugoj liniji tretmana timusnih carcinoma nezavisno – KIT statusa.
- Everolimus može biti opcija za refraktorne tumore.

Praćenje

- Bazični CT thorax~a treba da se učini nakon 3 do 4 nedelje nakon sprovedene operacije.
- Nakon sprovedene RO I/II stadijuma timoma: CT scan treba da se načini svake godine tokom 5 godina, a potom na 2 godine.
- Za – III/IV stadijum timoma, timusnih carcinoma ili posle R1–2 resekcije (parcijalna resekcija zbog mikro/makroskopske invazije kapsule): CT scan kontrole treba da se sprovode na svakih 6 meseci tokom 2 godine, potom godišnje.
- Praćenje je indikovano tokom 10–15 godina.

- Pacijenti – sa klinički ispoljenom miastenijom gravis, ili čak izolovanim pozitivnim anti-acetyl choline receptor antitelima, treba da budu informisani i edukovani o rizicima za pojavu mijastenične krize u specifičnim situacijama kao što je stress ili primena određenih lekova.

Strategija i preporuke lečenja timoma prema stadijumu bolesti (Masaoka~Koga klasifikacija), prema ESMO preporukama:

I stadijum:

- Inicijalno operacija
- Ne indikuje se biopsija preoperativno
- Radikalna opearcija (RO): postoperativna RT (PORT) nije indikovana
- Parcijalna resekcija: PORT (50–54 Gy)

II A stadijum:

- Inicijalno operacija.
- Ne indikuje se biopsija preoperativno
- Radikalna operacija (RO).
 - o ~ Timomi A – B2: nije indikovana PORT
 - o ~Timom B3: razmotriti PORT (45–50 Gy)
- Parcijalna resekcija: PORT (50–54 Gy)

II B stadijum:

- Inicijalno operacija.
- Ne indikuje se biopsija preoperativno
- Radikalna operacija (RO)
 - o ~ Timomi A – B1: nije indikovana PORT
 - o ~Timom B2-B3: razmotriti PORT (45–50 Gy)
- Parcijalna resekcija: PORT (50–54 Gy)

III-IVA

Resektabilan tumor (TNM I–IIIA, T1–T3):

- Inicijalno operacija
- PORT (45–50 Gy), sa razmatranjem dodatne RT regije od značaja

Neresektabilan tumor (TNM IIIA-B, i.e. T3-T4, IVA):

- Biopsija
- Inicijalno HT (preporučuju se režimi bazirani na antraciklinu)
- Ukoliko tumor postane resektabilan:
 - o ~ Operativni pristup
 - o ~ PORT (45–50 Gy), sa dodatnom RT u oblastima od interesa
- Ukoliko tumor ostaje neresektabilan:
 - o ~ Definitivna RT (60 Gy)
 - o ~Opciono: hemoradioterapija
- Opciono: konkurentna hemoradioterapija (platina i etopozid, 60 Gy)

IV B stadijum

Definitivna hemoterapija

- Ukoliko tumor postane resektabilan, razmotriti:
 - o ~ Operacija i PORT
 - o ~ Definitivna RT [44,70]

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi ovog istraživanja bili su:

1. Sagledavanje osnovnih demografskih karakteristika bolesnika sa timomima (uzrast, pol i pušački status).
2. Uočavanje profila kliničke slike i radiografske prezentacije obolelih.
3. Utvrđivanje uticaja prisustva mutacija u genima na patogenezu i kliničko ispoljavanje timoma.
4. Sagledavanje pojave relapsa bolesti i dužine preživljavanja obolelih i uticaja navedenih parametara na ove ishode.

3. METODI ISTRAŽIVANJA

3.1. Tip studije, mesto i vreme

Ova retrospektivna studija je sprovedena u Institutu za plućne bolesti i tuberkulozu, kasnije, nakon promene naziva, od oktobra 2010. u Klinici za pulmologiju Kliničkog centra Srbije u Beogradu, u periodu od januara 1993. do decembra 2013. godine.

3.2. Ispitanici

U studiju su uključena 62 pacijenta koji su bili hospitalizovani i lečeni u našoj bolnici. Sve dijagnoze timoma ustanovljene su patohistološkim analizama preparata dobijenih pri operativnom postupku ili aspiracionim biopsijom tumorskog tkiva (FNAB) kod pacijenata u kojih operacija nije mogla biti sprovedena.

Timomi su klasifikovani prema patohistološkoj klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije (SZO, eng. World Health Organization~WHO) i stažirani prema Masaoka-Koga stejdžing sistemu.

Istorije bolesti su korišćene kao izvor podataka, a svaki pacijent je prošao proceduru kliničkog pregleda, uz obavljenju radiografsku obradu koja je podrazumevala ili radiografiju i/ili kompjuterizovanu tomografiju grudnog koša. Operativni nalaz ili PH dokaz dijagnoze timoma dobijen pri invazivnom dijagnostičkom postupku je bio osnovni uslov uključivanja u istraživanje.

Svi upitnici su šifrirani, podaci o obeležjima kodirani, napravljena je baza podataka u excel programu i izvršena kompjuterska obrada odgovarajućim statističkim tehnikama. Korišćen je softverski paket " SPSS 20.0 (IBM corp.)"

3.3. Statistička analiza

Analiza i obrada podataka sastojala se iz dva dela:

Prvi deo je činila deskripcija svih ispitivanih pacijenata.

U drugom delu posmatrana je statistička povezanost pojedinih varijabli

Analizirani su pol, starosna dob i pušački status i ispitivan njihov mogući uticaj na preživljavanje u pacijenata sa timomom.

Utvrđivali smo incidencu paraneoplastičkih sindroma, među kojima je posebna pažnja bila usmerena na mijasteniju gravis. Opisane su pridružene bolesti i simptomi bolesti, kao i dužina njihovog trajanja do postavljanja dijagnoze.

Razmatrani su uticaji na preživljavanje koje imaju veličina tumora, invazivnost tj diseminovanost timoma, klinički stadijum bolesti, PH nalazi tj tipovi timoma određeni PH tipom. Analizirana je i stopa preživljavanja u odnosu na primenjen terapijski pristup, pre svega u odnosu na to da li je operacija sprovedena i stepen radikalnosti operativnog postupka, tj da li je urađena kompletna ili parcijalna resekcija tumora. Takođe, analiziran je uticaj drugih načina lečenja na preživljavanje pacijenata.

Ispitivali smo pojavu relapsa bolesti kod pacijenata koji su bili radikalno operisani i moguć uticaj pušenja, kliničkog stadijuma bolesti, PH nalaza kao faktora rizika za pojavu relapsa.

Rezultati su prikazani kao broj (procenat), srednja vrednost \pm standardna devijacija i medijana, zavisno od vrste podataka.

Log rank test je bio primenjen da se utvrde signifikantni prediktori preživljavanja. Preživljavanje je prezentovano korišćenjem medijane ili aritmetičke sredine uz interval poverenja, ukoliko je indikovano. Obzirom na mali uzorak, Cox regresija je primenjena uz korišćenje Forward metode.

Obzirom na veliku razliku između aritmetičke sredine i medijane, neki rezultati su predstavljeni kao medijana, bez intervala poverenja.

Sve vrednosti p intervala manje od 0,05 smatraju se značajnim.

Neki parametri nemaju izračunat interval poverenja zbog malog uzorka.

Za gensku obradu podataka operativnog mapeterijala ili FNA bioptiranih preparata korišćen je: *TruSeq Amplicon - Cancer Panel priprema biblioteke i reakcija sekvenciranja*

“TruSeq Amplicon – Cancer Panel“ (TSACP, Illumina, Sjedinjene Američke Države) omogućava detekciju somatskih mutacija u 48 gena uključenih u kancerogenezu (*ABL1, AKT1, ALK, APC, ATM, BRAF, CDH1, CDKN2A, CSF1R, CTNNB1, EGFR, ERBB2, ERBB4, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HNF1A, HRAS, IDH1, JAK2, JAK3, KDR, KIT, KRAS, MET, MLH1, MLP, NOTCH1, NPM1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, PTPN11, RBI, RET, SMAD4, SMARCB1, SMO, SRC, STK11, TP53* and *VHL*). TSACP se sastoji od 212 amplikona, koji imaju visoku učestalost mutacionih događaja (mutaciona „hot spot“ mesta), za koje se u reakciji hibridizacije vezuje po par oligonukleotidnih proba dizajniranih da ograničavaju željene regione od interesa. Genomska DNK iz mononuklearnih ćelija 35 pacijenata obolelih od timoma je

ekstrahovana koristeći Qiagen Blood Mini kit (Valencia, CA, USA). Priprema biblioteke izvedena je sa 250ng genomske DNK, prema uputstvu proizvođača. Tokom koraka hibridizacije oligonukleotidnih proba, posebno dizajnirani oligonukleotidi (eng. oligos), koji ograničavaju željene sekvence, hibridizuju sa molekulom genomske DNK. Nakon koraka hibridizacije sledi korak prečišćavanja u kome se uklanjaju nehibridizovane oligonukleotidne probe, a zatim slede koraci elongacije vezanih oligonukleotidnih proba i umnožavanja dobijenih produkata lančanom reakcijom polimeraze. Korak umnožavanja lančanom reakcijom polimeraze dovodi do amplifikacije selektovanih "hot spot" regiona, koji su dobijeni upotrebom oligonukleotidnih proba. Proces amplifikacije se odvija upotrebom specifičnih prajmera koji se sastoje od sekvenci indeksa (i5 i i7), kao i adaptera (P5 i P7) radi formiranja klastera (eng. "cluster generation"). Korak prečišćavanja produkata lančane reakcije polimeraze izveden je upotrebom „Agencourt AMPure XP“ magnetnih kuglica (Beckman Coulter International SA, Švajcarska). Jednake zapremine normalizovanih biblioteka su spojene zajedno i pripremljene za naredni korak formiranja klonalnih klastera uzoraka DNK i za reakciju sekvenciranja na MiSeq platformi (Illumina, Sjedinjene Američke Države). Reakcija sekvenciranja jednog DNK lanca sa oba kraja (eng. „pair end read“) izvedena je upotrebom MiSeq Reagent Kit-a v3 (600 ciklusa). Kvalitet sekvenciranja je predstavljen procentom baza koje imaju Q30 vrednost (1 greška u 1000 baza) i iznosio je 97.2%.

Bioinformatička obrada podataka

Identifikacija detektovanih sekvenci sa referentnim hg19 genomom je izvršeno pomoću Smith-Waterman algoritma. Somatic Variant Caller, razvijen od strane Illumina, izabran je za detekciju varijanti (eng. "variant calling"). U cilju identifikacije i interpretacije varijanti bitnih za patogenezu bolesti, iz VCF (eng. "Variant Call Format") datoteke, korišćen je Illumina VariantStudio. Takođe, za anotaciju pojedinačnih dobijenih varijacija korišćen je "Variant Effect Predictor" softver [71]. Integrated Genomics Viewer softver [72] je korišćen za vizuelnu evaluaciju podataka. U cilju formiranja izveštaja sa rezultatima detektovanih alteracija u onkogenima u ovoj grupi pacijenata, korišćen je OncoPrinter [73].

Zaključak:

U ovoj studiji korišćene su deskriptivne i analitičke statističke metode.

Od deskriptivnih metoda korišćeni su:

- apsolutni i relativni brojevi (n,%)
- mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana)
- mere disperzije (standardna devijacija, percentili)

Od analitičkih statističkih metoda korišćeni su testovi razlike:

- parametarski (t test)
- neparametarski (Hi-kvadrat test, Fišerov test tačne verovatnoće).

Izbor testa za testiranje razlike zavisio je od tipa podataka i raspodele.

Za analizu povezanosti korišćena je Pirsonova korelaciona analiza.

Preživljavanje je ispitivano pomoću Kaplan-Majerove krive preživljavanja i Log rank testom. Za multivarijantnu analizu korišćena je Koksova regresiona analiza.

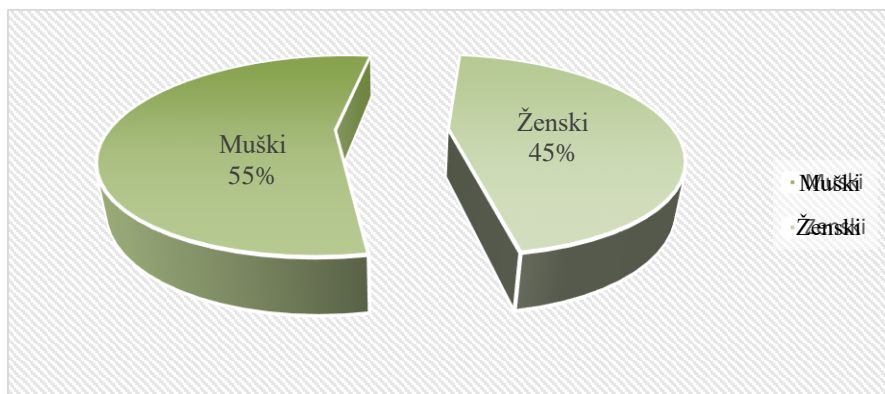
Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

Svi podaci obrađeni su u SPSS 20.0 (IBM korporacija) softverskom paketu.

Etički odbor Kliničkog centra Srbije je odobrio sprovođenje studije.

4. REZULTATI

U studiju su bile uključene 34 (54,8%) žene i 28 (45,2%) muškaraca, u odnosu 1.2:1, sa prosečnom starosnom dobi $55,7 \pm 13,0$ godina (u rasponu od 21 do 75 godina).



Grafikon 1. Distribucija pacijenata sa timomom prema polu

Najveći broj pacijenata je bio u sedmoj deceniji života, 20 (32,3%), a slede ih po brojnosti pacijenti u šestoj deceniji, 17 (27,4%).

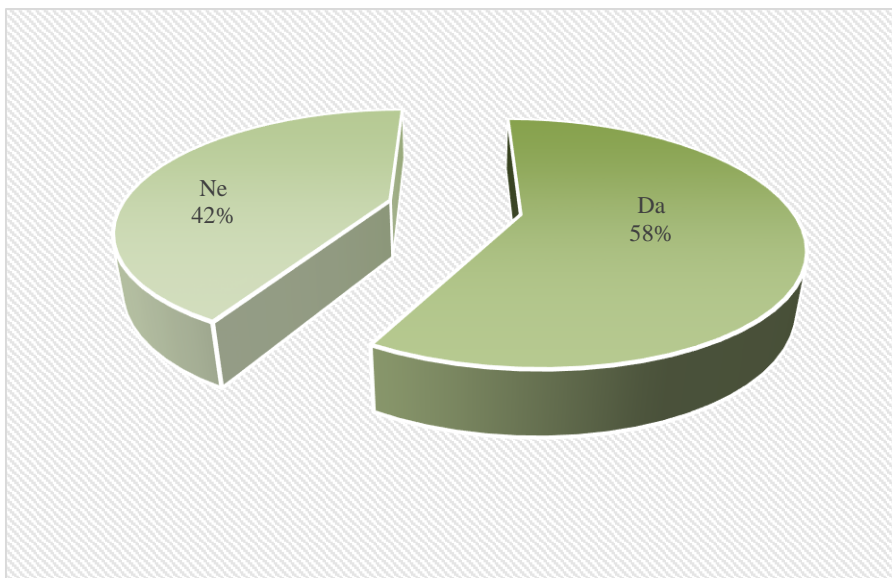
Kliničke karakteristike pacijenata su prikazane u Tabeli 9.

Tabela 9. Deskripcija, bazične karakteristike 62 pacijenta sa timomom

Deskripcija	N (%) / A.S. \pm SD*
Pol: muškarci/žene	28 (45,2%) / 34 (54,8%)
Starost	$55,7 \pm 13,0$
Pušačke navike	36 (58,1%)
Simptomi	44 (71%)
Trajanje simptoma (n=44)	
1 mesec	12 (26,7%)
6 meseci	21 (46,7%)
1+ godina	11 (25%)
Paraneoplastički Sy	9 (14,5%)
Komorbiditeti	30 (48,4%)

* Rezultati su prezentovani kao broj pacijenata (N) i procenti (%), aritmetička sredina (A.S.) i standardna devijacija (SD)

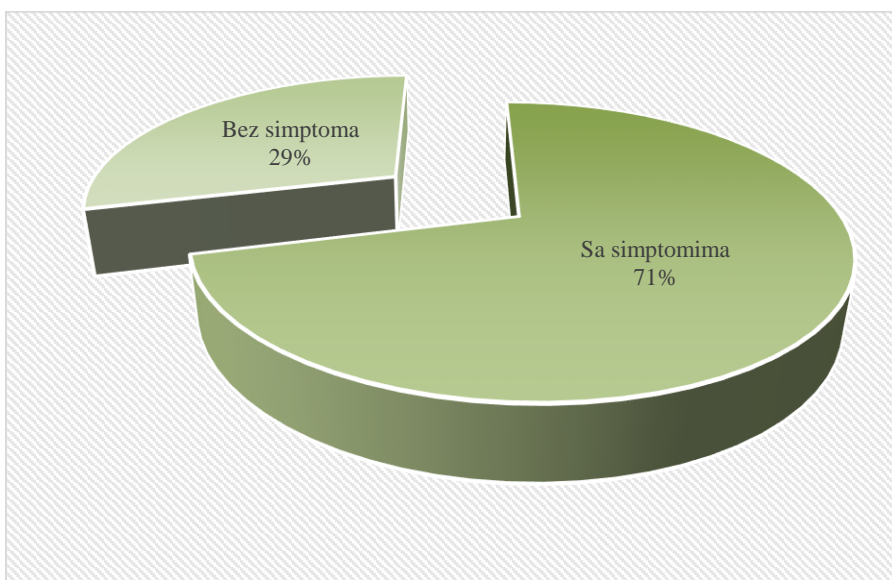
Među obolelim pacijentima je više bilo pušača u odnosu na nepušače (grafikon 2).



Grafikon 2. Distribucija pušača i nepušača

Klinička prezentacija timoma je bila raznovrsna.

Gotovo trećina pacijenata je bila asimptomatska (29%), a ostali su imali simptome izražene u manjoj meri (grafikon 3):



Grafikon 3. Distribucija pacijenata u odnosu na prisustvo simptoma

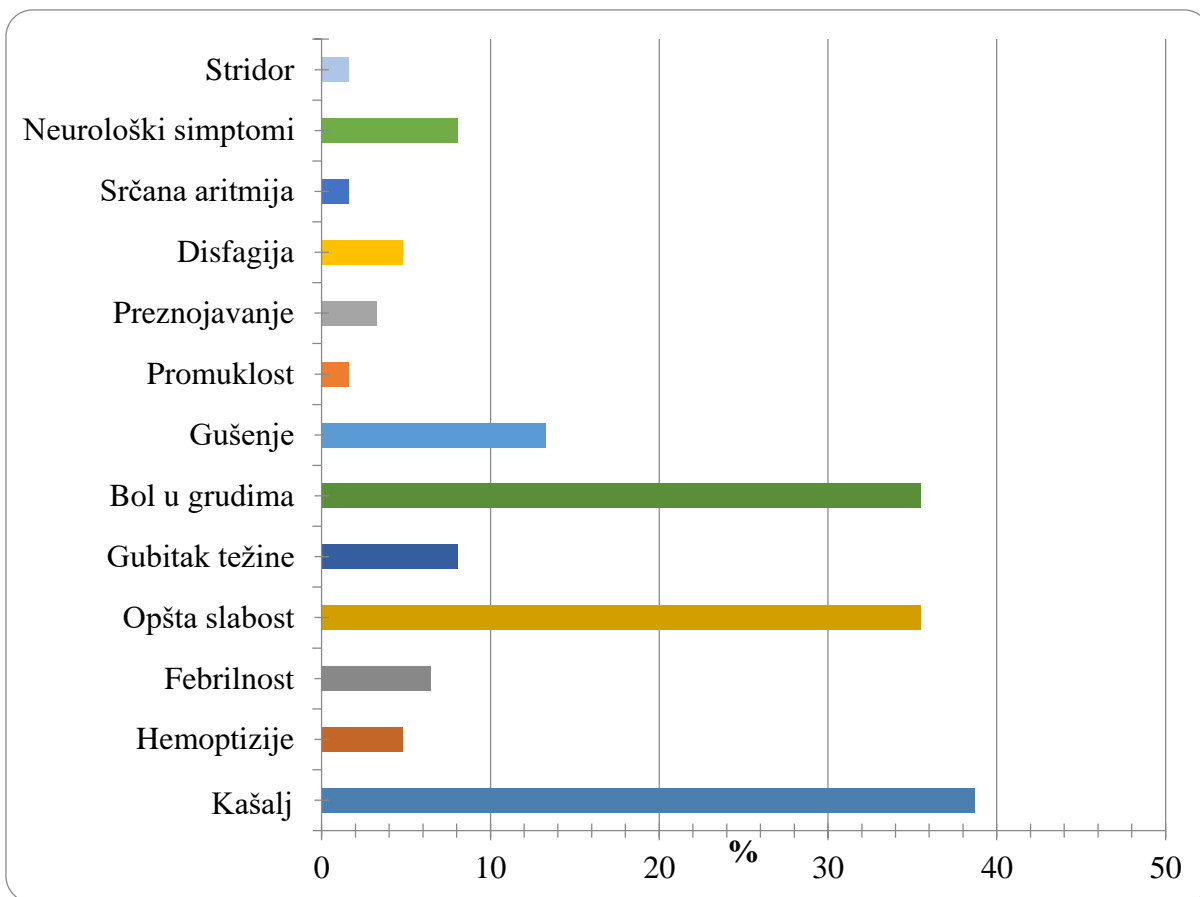
Dominantan je bio kašalj, u 24 (38,7 %) pacijenata, po učestalosti potom praćen malaksalošću i bolom u grudnom košu, podjednako u 22 (35,5%) pacijenata.

Polineuropatija kao paraneoplastički sindrom je bio prisutan kod 1 (1,6%) pacijenta, dok je mijastenija gravis bila zastupljena u 8 (12,9%) pacijenata, od kojih je 5 bilo ženskog pola (62,5%) (grafikon 4).

Dužina trajanja simptoma do postavljanja dijagnoze je varirala od mesec dana do preko godinu dana. Kod oko polovine pacijenata (46,7%) simptomi su trajali oko 6 meseci, dok su mesec i više od godinu dana trajali kod približno istog broja pacijenata, sledećim redosledom: 12 (26,7%) i 11 (25%).

Komorbiditet je registrovan u gotovo polovine pacijenata 30 (48,4%), uglavnom u žena 21 (70%). Najčešća je bila arterijska hipertenzija kod 13 (43,3%) pacijenata, a 4 (13,3%) pacijenta su imali strumu tiroidne žlezde. Dva pacijenta (6,6%) su imali bronhiektazije, anginu pektoris i srčane aritmije. Ostale bolesti (degenerativne bolesti kičmenog stuba i hronični alkoholizam) su bili zastupljeni u pojedinačnim slučajevima. Sekundarni maligniteti su konstatovani u 4 (13,3%) pacijenta, i svi su prethodno lečeni radikalnim operativnim pristupima, bez rest/recidiva tumora na redovnim kontrolama.

Paraneoplastički sindrom je konstatovan kod 9 (14,5%) pacijenata, od kojih je najzastupljenije bilo prisustvo mijastenije gravis i to kod 8 (88,9%) pacijenata, a jedan pacijent je imao polineuropatiju.



Grafikon 4. Distribucija simptoma kod 62 pacijenta sa timomom

Solitarna promena je bila najčešći radiografski nalaz kod naših pacijenata (61,3%) i svi su bili lokalizovani u prednjem medijastinumu, dok su atipične prezentacije (21%) i metastatski procesi (17,7%) bili ređe zastupljeni (tabela 10).

Tabela 10. Kliničke karakteristike 62 pacijenta sa timomom

N (%)	
RADIOGRAFSKI NALAZ	
Solitarni tumor	38 (61,3%)
Atipični	13 (21%)
Metastatski	11 (17,7%)
VELIČINA TUMORA	
>5cm	36 (58,1%)
<5cm	26 (41,9%)
INVAZIVNOST TUMORA	
Neinvazivni	32 (52,5%)
Invazivni u masno tkivo	11 (18%)
Metastatski	18 (29,5%)
MASAOKA-KOGA STAŽIRANJE	
I	29 (46,5%)
II (IIA I IIB)	17 (27,4%)
III	5 (8,1%)
IV (IVA I IVB)	11 (17,7%)
DIJAGNOSTIČKI PRISTUP	
Invazivni	8 (12,9%)
OP	54 (87,1%)
WHO HISTOLOŠKI TIP	
A	16 (25,8%)
AB	16 (25,8%)
B1	18 (29%)
B2	4 (6,5%)
B3	8 (12,9%)
OPERACIJA (n=55)	
Radikalna/kompletna Resekcija	50 (90,9%)
Palijativna/parcijalna Resekcija	5 (10,1%)
TERAPIJA	
Operacija	55 (90,9%)
Ostalo	16 (25,8%)
SMRTNI ISHOD (N=61)	25 (40,9%)

*Rezultati su prezentovani kao broj pacijenata (N) i procenat (%)

Masivni tumori, veći od 5 cm, verifikovani radiografskim nalazima i/ili pri operaciji, su bili najzastupljeniji, u 58,1% pacijenata.

Neinvazivni timomi su bili najčešći, u 52,5% pacijenata.

Većina pacijenata je bila u I stadijumu bolesti (46,5%), dok je 27,4% bilo u II stadijumu, 8,1% u III i 17,7% IV stadijumu.

Patohistološke analize (PH) pokazuju da je B1 tip bio najčešći, u 29% pacijenata, koji je po učestalosti praćen tipom A i AB, i koji su podjednako bili zastupljeni, u po 25,8% slučajeva, potom B3 i B2 tip, pomenutim redosledom u 12,9 i 6,5% pacijenata.

Dijagnoza sa PH verifikacijom procesa je u najvećem broju slučajeva postavljena tokom samog operativnog pristupa (87,1%), a kod ostalih pacijenata (12,9%) dijagnoza je postavljena korišćenjem invazivnih dijagnostičkih procedura, perkutanom biopsijom tumorske promene /fine needle aspiration biopsy (FNAB)/ kod svih pacijenata osim kod jednog kome je uradjena medijastinotomija sa biopsijom tumora.

Većina pacijenata je operisana (88,7%). Radikalna operacija (RO) je sprovedena u značajno većem broju slučajeva u odnosu na inkompletnu, parcijalnu resekciju (palijativna operacija), i to u odnosu 90,9 prema 10,1% pacijenata.

Terapijski modaliteti koji su bili primenjeni kod neoperisanih bolesnika podrazumevali su primenu hemoterapije (HT), radioterapije (RT) i suportivne terapije (Best supportive care ~ BSC), podjednako zastupljeno u po dva pacijenta (3,2%), izuzev BSC koja je primenjena u 3 pacijenta (4,8%).

Smrtni ishod je konstatovan kod 40,9% pacijenata, od kojih su 3 (12%) umrli u prvoj nedelji nakon sprovedene operacije zbog posledica komplikacije sprovedene operacije.

Stope preživljavanja su prezentovane u tabeli 11.

Tabela 11. Stope preživljavanja (%) kod 62 pacijenta sa timomom, prema stadijumu bolesti, PH nalazima, sprovedenom operativnom terapijskom pristupu

Stope preživljavanja	1 godina	5 godina	10 god.
Ukupno	58,2	69,9	62,8
I stadijum	92,9	92,9	92,9
II stadijum	94,1	70,6	48,1
III stadijum	40,0	40,0	40,0
IV stadijum	72,7	27,3	27,3
PH nalazi			
Tip A	86,7	73,3	65,2
Tip B1	77,8	60,0	60,0
Tip B2	75,0	75,0	75,0
Tip B3	87,5	50,0	50,0
Tip AB	93,7	87,5	72,2
Operacija			
Da	85,5	75,7	67,8
Ne	83,0		12,5

Zaključno sa decembrom 2013, medijana ukupnog preživljavanja u pacijenata sa timomom bila je 204 meseci (95% Confidence Interval /CI/: 116,7-291,3). Konstatuje se da su 1-, 2-, 5- i 10-to godišnje stope preživljavanja bile 85,2, 75,3, 69,9 i 62,8%, istim redosledom, a 1- i 10-to godišnje preživljavanje je bilo najbolje kod pacijenata u I stadijumu bolesti, sa AB patohistološkim tipom, praćen odmah potom i tipom A po učestalosti. Kod pacijenata koji su operisani, 1-, 5- i 10-to godišnje stope preživljavanja bile su 85,5, 75,7 i 67,8%, a kod onih koji nisu bili operisani, 1- no godišnje preživljavanje bilo je u 83% slučajeva, sa 10-to godišnjim preživljavanjem konstatovanim kod jednog pacijenta (12,5%).

Poređenje medijana preživljavanja u odnosu na različite kliničke karaktersitike pacijenata prikazane su u tabeli 12.

Tabela 12. Preživljavanje 62 pacijenta sa timomom, prema kliničkim karakteristikama

	Median (95% CI)	p
Ukupno	204 (116,7-291,3)	
Pol		
Muškarci	108 (0-226,5)	0,036
Žene	240 (10,8-376,1)	
Starost		
≤ 55	240 (nema IP)	0,231
> 55	168 (88,2-247,8)	
Pušač		
Ne	204 (125,3-282,7)	0,246
Da	240 (19,3-460,7)	
Myasthenia gravis		
Ne	240 (71,4-408,6)	0,679
Da	204 (nema IP)	
Radiografski nalaz		
Solitarni tumor	204 (nema IP)	0,015
Atipična prezentacija	168 (64,8-271,2)	
Metastatski	17 (0-58,8)	
Veličina tumora		
> 5 cm	108 (0-240,9)	0,074
< 5 cm	204 (134,5-273,4)	
Invazivnost tumora		
Neinvazivni	204 (nema IP)	0,003
Invazivni u masno tkivo	108 (49,3-166,7)	
Metastatski	21 (4,7-37,6)	
Masaoka~Koga stažiranje		
I	214,6 (172,1-257,1)*	0,001
II (IIA i IIB)	108 (no IP)	
III	12 (0,191-23,8)	
IV (IVA i IVB)	21 (10,2-31,8)	
WHO histološki tip		

A	117.8 (81,8-153,9)*	0,694
B (B1,B2,B3)	204 (0-494,6)	
AB	168 (no IP)	
Operacija		
Ne	17 (4,9-29,0)	0.002
Da	204 (124,4-281,5)	
Radikalnost (n=55) OP		
Radikalna/kompletna resekcija	204 (125,7-282,2)	0,215
Palijativna/parcijalna resekcija	54 (0-118,6)	

*A.S. (95% Interval poverenja, IP) umesto Mediane (95% IP)

Statistički značajno duže preživljavanje je uočeno kod žena, 240 meseci (95%CI: 10,8-376,1) u poređenju sa muškarcima, 108 meseci (95%CI: 0-226,5) $p=0,036$. Nije dokazana statistički značajna razlika u preživljavanju u odnosu na starosnu dob, ali se duže preživljavanje uočava kod pacijenata mlađih od 55 godina: 240 meseci (nema CI) $p=0,231$.

Nije uočena statistički značajna razlika u preživljavanju kod pušača 240 (19,3-460,7) u odnosu na nepušače 204 (125,3-282,7), $p=0,246$.

Prisustvo mijastenije gravis (MG) nije imalo statističkog značaja u preživljavanju, ali pacijenti bez MG su imali bolje preživljavanje 240 (71,4-408,6) $p=0,679$ u odnosu na one koji su imali MG 204 (nema CI).

Pacijenti koji su imali solitarni tumor u grudnom košu su živeli duže u odnosu na pacijente koji su imali atipičnu radiografsku prezentaciju timoma, a takođe i u odnosu na one koji su imali metastatsku bolest ($p=0,015$).

Blizu konvencionalnog nivoa statističke značajnosti u preživljavanju ($p=0,05$) su imali pacijenti koji nisu imali masivnu tumorsku promenu (TU promena manja od 5 cm) 204 (134,5-273,4) $p=0,074$ u odnosu na tumor veći od 5 cm, 108 (0-240,9).

Pacijenti sa neinvazivnim timomom su imali statistički značajno bolje preživljavanje u odnosu na one koji su imali invaziju u masno tkivo ili metastatsku bolest ($p=0,003$).

Najduže preživljavanje su imali pacijenti u I stadijumu bolesti, poređenjem sa bolesnicima u II, III i IV stadijumu bolesti.

Nije bilo statistički značajne razlike u preživljavanju u odnosu na patohistološki tip timoma, mada je duže preživljavanje registrovano kod pacijenata sa timomom tip B 204 (0-494,6) $p=0,694$ u odnosu na AB 168 (nema CI) i A 117,8 (81,8-153,9)*. Statistički značajna razlika u preživljavanju je bila kod pacijenata koji su bili operisani 204 (124,4-281,5) $p=0,002$ u odnosu na one koji nisu operisani 17 (4,9-29,0), ali nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na to da li je operacija bila radikalna 204 (125,7-282,2) $p=0,215$ ili paliativna 54 (0-118,6), međutim, uočava se da je preživljavanje duže kod radikalno operisanih pacijenata.

Među radikalno operisanim pacijentima relaps bolesti je imalo 8 (16,0%). Sedmero je umrlo (87,5%), a jedna pacijentkinja (12,5%), kojoj je relaps bolesti konstatovan nakon godinu dana, je živa. Inicijalno je bila u II stadijumu bolesti sa tipom A timoma, pušač. Lečenje je nastavljeno primenom HT i RT, sa 10-to godišnjom stopom preživljavanja. Kod ostalih pacijenata, relaps bolesti je evidentiran nakon 6 meseci kod 4 pacijenata (50,0%), dvoje od njih su bili u III stadijumu, oboje tip B1, svi su bili pušači osim jednog pacijenta, sa 1-no godišnjom preživljavanjem uprkos sprovedenog lečenja primenom HT i RT nakon relapsa bolesti. Jedan pacijent je imao relaps bolesti nakon godinu dana, pušač sa preoperativnim II stadijumom bolesti B3 timoma. Ponovo se pristupilo operaciji, a primenjena je i HT i RT sa 5- to godišnjim preživljavanjem. Kod dva pacijenta, relaps bolesti je nastupio posle 5 godina, jedan pacijent je bio pušač, sa preoperativnim III stadijumom B3 timoma, i 10-to godišnjim preživljavanjem, a drugi pacijent nepušač, inicijalno u II stadijumu timoma A tipa, nepušač sa 5-to godišnjim preživljavanjem.

Na osnovu analize rezultata preživljavanja, utvrđeno je da su statistički značajni prediktori preživljavanja pol, prisustvo solitarne tumorske promene, invazivnost tumora, klinički stadijum bolesti i terapijski pristup sprovođenjem operacije. Pored ovih, veličina tumorske promene (mase) je blizu konvencionalnog nivoa značajnosti od 0,05, pa i nju uzimamo u obzir pri analizi.

Značajni prediktori preživljavanja utvrđeni Cox regresionom analizom su prezentovani u tabeli 13. Pol i klinički stadijum bolesti su bili značajni prediktori dužeg preživljavanja.

Tabela 13. Signifikantni prediktori preživljavanja, prema Cox regresionoj analizi

	P vred.	HR (95% IP)
Pol / muškarci	0,004	4,129 (1,114-12,025)
Klinički stadijum		
I	0,002	1 – ref. kategorija
II	0,029	3,709 (1,114-12,025)
III	0,002	14,971 (2,787-80,416)
IV	0,001	7,253 (2,293-22,946)

HR – hazard ratio; IP – interval poverenja

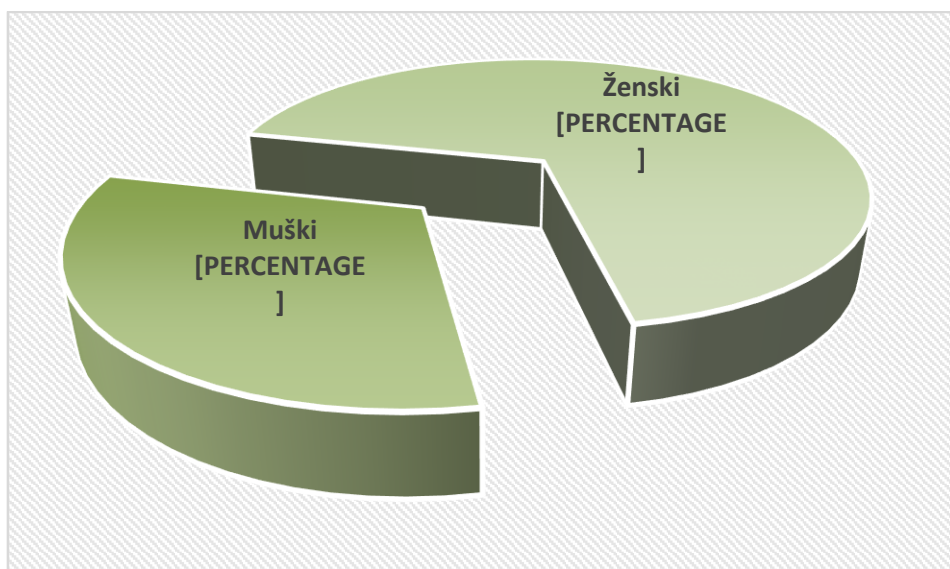
Karakteristike pacijenata sa timomom kod kojih je rađeno gensko ispitivanje u odnosu na starosnu dob prikazane su u tabeli 14:

Tabela 14. Starost u vreme dijagnoze

N	A.S.	SD	Min	Max
35	56,89	12,347	21	75

Najviše je bilo pacijenata u šestoj deceniji života, pri čemu je najmlađi pacijent bio 21 godinu star, a najstariji je imao 75 godina.

Karakteristike pacijenata sa timomom kod kojih je rađeno gensko ispitivanje u odnosu na pol prikazane su grafikonom 5.

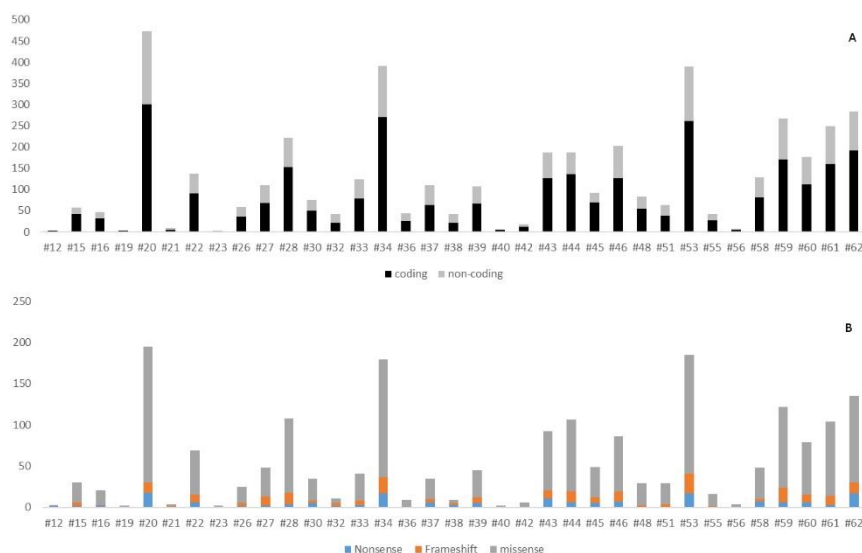


Grafikon 5. Karakteristike pacijenata sa timomima kod kojih je rađeno gensko istraživanje u odnosu na pol

Ženski pol je bio najzastupljeniji, u više od 2/3 pacijenata.

U ovoj studiji, korišćeno je ciljano sekvenciranje nove generacije (eng. Next Generation Sequencing, NGS) u svrhu analize $1,225 \times 10^6$ bp DNK kod 35 pacijenata obolelih od timoma. TruSeq Cancer Panel (TSACP) platforma korišćena je za detekciju somatskih mutacija u specifičnim genomskim regionima, gde dolazi do umnožavanja 212 amplikona u 48 gena povezanih sa kancerom. Prosečna pokrivenost čitanja sekvenci iznosila je $145 \times$ po amplikonu. Ukupan broj detektovanih varijanti u kodirajućim i nekodirajućim regionima u ovoj studiji bio je 4447, od kojih je 2906 bilo u kodirajućim regionima (medijana po pacijentu 83, opseg: 2-300), a 1541 u nekodirajućim regionima (medijana po pacijentu 44, opseg: 0-172) (Grafikon 6A). Prilikom dalje analize u obzir su uzimane samo varijante koje potencijalno mogu izazvati promene u strukturi i funkciji proteina, tzv. „protein-changing“ varijante – mutacije. Ove mutacije uključuju nonsense (N), frameshift (F), i missense (M) mutacije, (NFM). U ovoj grupi pacijenata identifikovali smo 1963 varijante koje potencijalno mogu izazvati promene u strukturi i funkciji proteina, gde je medijana po pacijentu bila 56, sa opsegom varijanti 2-195. Najveći broj varijanti imalo je osam pacijenata, koji su sadržali više od 100 NFM varijanti. Redni brojevi ovih osam pacijenata su: #20 (PH tip B3), #28 (PH tip B1), #34 (PH tip AB), #44 (PH tip A), #53 (PH tip B3), #59 (PH tip B1), #61 (PH tip AB), i #62 (PH tip A), među kojima je pacijent broj #20 sadržao 195 varijanti (grafikon 6B). Kod polovine ovih

pacijenta bio je zastupljen PH tip B timom, međutim razmatrajući i podtipove, gotovo podjednaka je bila zastupljenost svih tipova timoma, po dva pacijenta tip A, AB, B1 i B3, a samo timo tip B2 nije bio prisutan među ovim pacijentima.



Grafikon 6 (A i B). Broj mutacija po pacijentu sa timomom. (A) Ukupan broj mutacija u kodirajućim i nekodirajućim regionima identifikovanim ciljanim sekvenciranjem nove generacije (NGS). (B) Distribucija nonsense (N), frameshift (F) i missense (M) mutacija u kodirajućim regionima targetovanih gena.

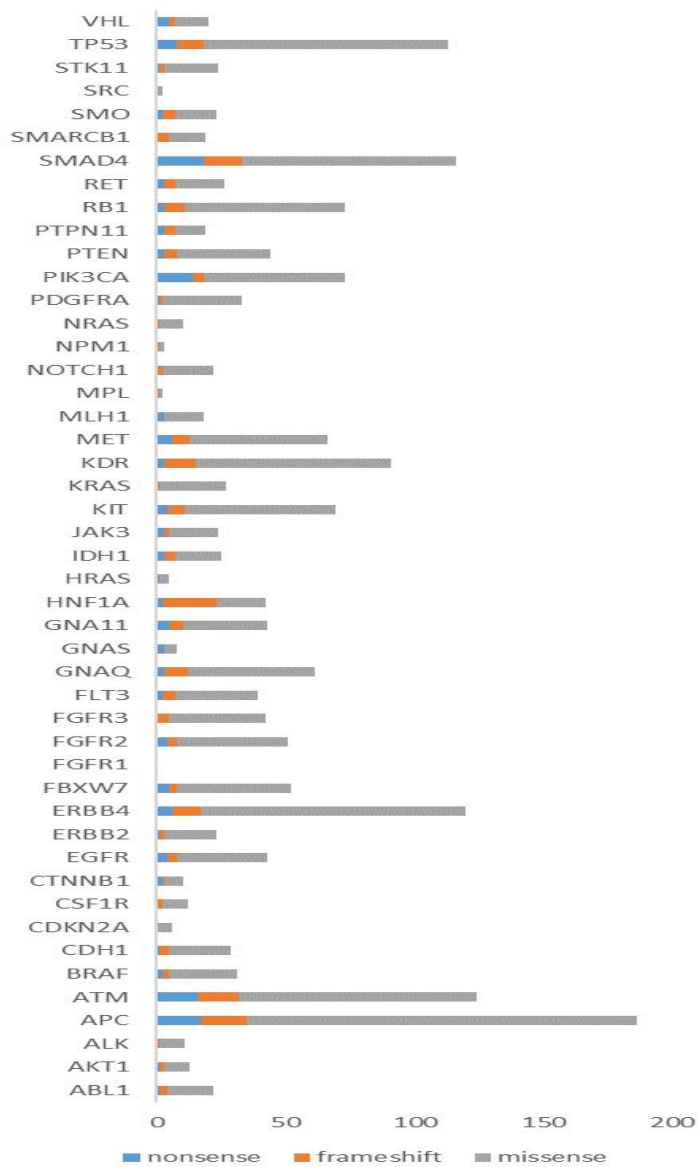
Četri gena: *APC*, *ATM*, *ERBB4* i *SMAD4*, sadržala su najveći broj mutacija, više od 100 NFM varijanti, što ukazuje na potencijalnu ulogu ovih gena u patogenezi timoma. Takođe, *EGFR*, *FBXW7*, *FGFR3*, *FGFR2*, *GNAQ*, *GNA11*, *HNF1A*, *KIT*, *MET*, *PIK3CA*, *PTEN*, *IRB1* geni sadržali su veliki broj mutacija, više od 40 NFM varijanti. *TP53* i *KDR* gen sadržali su više od 90 NFM varijanti, od kojih je većina predstavljala već dobro poznate polimorfizme (rs1042522 i rs1870377) (tabela 15).

Tabela 15. Najčešće zastupljene mutacije u genima

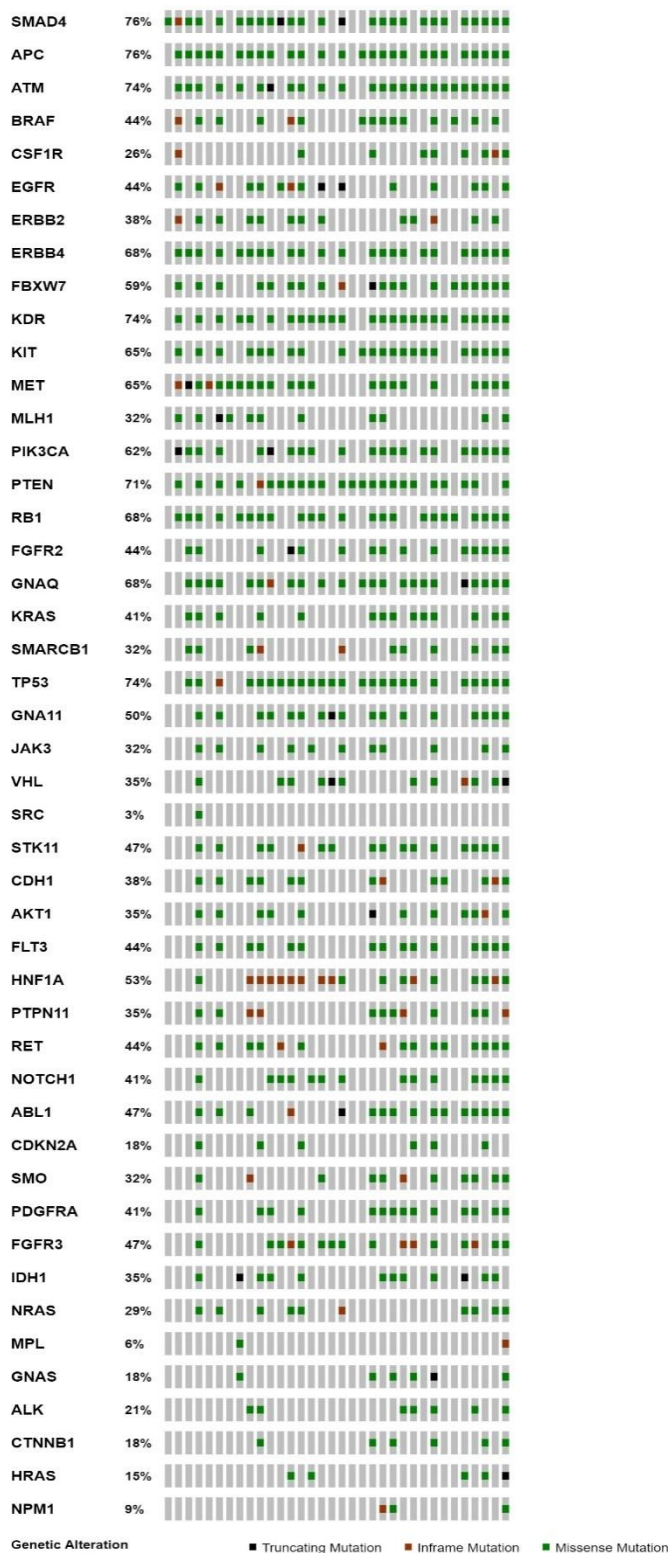
		N	%
EGFR	ne	20	57,1
	da	15	42,9
MET	ne	13	37,1
	da	22	62,9
ALK	ne	28	80,0
	da	7	20,0
KRAS	ne	21	60,0
	da	14	40,0
TP53	ne	11	31,4
	da	24	68,6
SMAD4	ne	9	25,7
	da	26	74,3
APC	ne	9	25,7
	da	26	74,3
ATM	ne	10	28,6
	da	25	71,4
ERBB4	ne	12	34,3
	da	23	65,7

S druge strane, neki od gena sadržanih na TSACP platformi, kao što su *FGFR1*, *MPL*, *NPM*, i *SRC*gen, imali su manje od 5 NFM varijanti (grafikon 7).

Varijante koje potencijalno mogu izazvati promene u strukturi i funkciji proteina u *SMAD4*, *APC*, *ATM*, *PTEN*, *KDR* i *TP53* genima bile su prisutne kod više od 70% analiziranih uzoraka. Distribucija tipova somatskih mutacijau selektovanim 48 gena povezanih sa kancerom u ovoj grupi pacijenata predstavljena je u OncoPrint-u (grafikon 8). Takođe, u ovoj studiji je otkriveno 168 rekurentnih varijanti, koje su bile prisutne kod najmanje dva uzorka u analiziranoj kohorti pacijenata, od kojih je 25 varijanti uvodilo stop kodon, 9 varijanti se nalazilo u okviru čitanja, a 134 su bile varijante tipa zamene.



Grafikon 7. Broj mutacija po targetovanom genu. Distribucija NFM mutacija u kodirajućim regionima targetovanih gena.



Grafikon 8. OncoPrint prikaz distribucije genetičkih alteracija u 48 ciljanih gena tumor supresora i onkogeni kod 35 pacijenata sa timomom. Tip mutacije je prikazan bojom, označenom u legendi, pojedinačni geni prikazani su u redovima, a uzorci tumora u kolonama.

EGFR

Mutaciju u EGFR genu imalo je 42,8% pacijenata. Najviše je bila zastupljena u žena, u 60% slučajeva. Manje je bilo prisutnih mutacija u EGFR genu kod bolesnika sa diseminovanom bolešću, u 20% slučajeva: kod dva pacijenta u IV stadijumu (timom tipa A i B1) i jedan pacijent u III stadijumu (tip B3), ostali su bili u I i II stadijumu bolesti. Mutacija u exonu 18 bila je prisutna kod 7 pacijenata, mutacija u exonu 19 bila je prisutna kod 4 pacijenata, mutacija u exonu 21 bila je prisutna kod 7 pacijenata, pri čemu su kod 3 pacijenta bile zastupljene mutacije u 3 exona (18,19,21)~dva pacijena timomi tip B1, jedan pacijent timom A. Kod jednog pacijenta sa timomom AB, uočene su mutacije u 2 exona (19,21). Najviše zastupljenih mutacija je bilo kod pacijenata sa tipom B timoma (9 pacijenata: 7 pacijenata sa tipom B1, 2 pacijenta sa tipom B3, a nijedan sa tipom B2), potom u pacijenata sa timomom AB (4 pacijenta), i najmanje kod timoma tipa A (2 pacijenta). Deo tabele sa genskim analizama, predstavljenim EGFR mutacijama je predstavljen u tabeli 16.

Tabela 16. EGFR mutacije u exonu 18 – 21 gena

Patinent No.	Gene	DNA change (ref.seq NM_005228.3)	Protein change (ref.seq. NP_005219.2)	Exon
#15	EGFR	c. 2261A>G	p. Lys754Arg	19/28
#15	EGFR	c. 2266A>G	p. Asn756Asp	19/28
#53	EGFR	c. 2192G>C	p. Trp731Ser	19/28
#59	EGFR	c. 2215A>G	p. Lys739Glu	19/28
#60	EGFR	c. 2252C>T	p. Thr751Ile	19/28
#62	EGFR	c. 2215A>T	p. Lys739Ter	19/28
#62	EGFR	c. 2266A>T	p. Asn756Tyr	19/28
#20	EGFR	c. 2623A>T	p. Lys875Ter	21/28
#28	EGFR	c. 2608C>A	p. His870Asn	21/28
#34	EGFR	c. 2951C>T	p. Ala864Val	21/28
#59	EGFR	c. 2606A>T	p. Tyr869Phe	21/28
#60	EGFR	c. 2620G>T	p. Gly874Cys	21/28
#62	EGFR	c. 2608C>T	p. His870Tyr	21/80
#62	EGFR	c. 2611G>T	p. Ala871Ser	21/28
#27	EGFR	c. 2136_2137insA	p. Ile715AspfsTer14	18/28
#27	EGFR	c. 2154delG	p. Gly719AlafsTer29	18/28
#32	EGFR	c. 2174C>T	p. Thr725Met	18/28
#45	EGFR	c. 2138A>T	p. Lys713Ile	18/28
#59	EGFR	c. 2137A>G	p. Lys713Glu	18/28
#60	EGFR	c. 2143A>T	p. Ile715Phe	18/28
#62	EGFR	c. 2159C>T	p. Ser720Phe	18/28

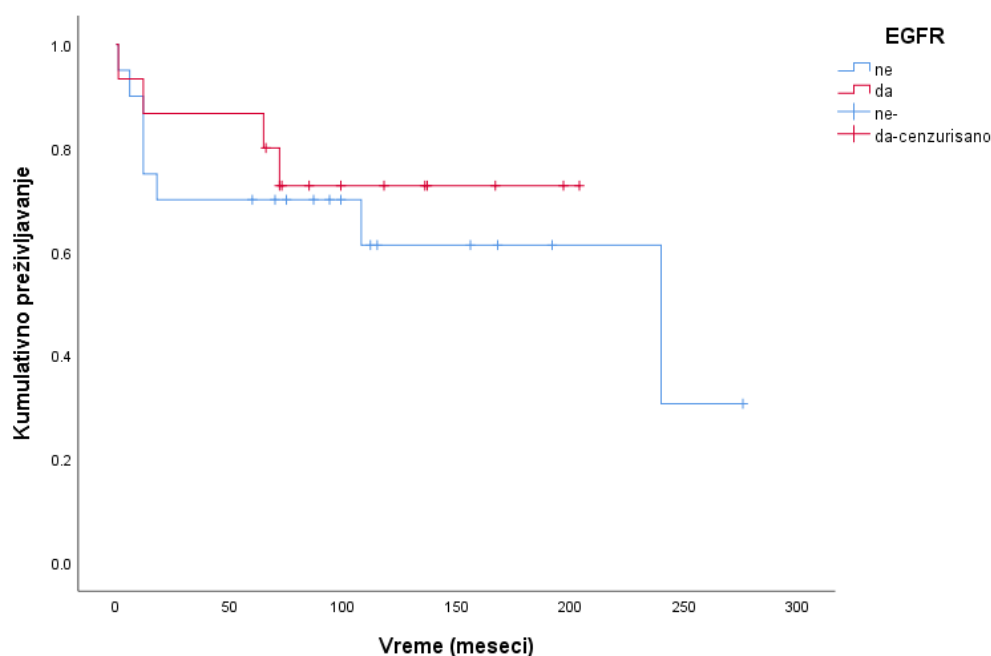
Deskriptivna i analitička statistika preživljavanja u odnosu na prisustvo EGFR mutacije je prikazana u tabeli 17.

Tabela 17. EGFR mutacija u odnosu na preživljavanje

	EGFR mutacija	
	da (n=15)	ne (n=20)
Smrtni ishod	4 (26,7%)	8 (40%)
A.S. preživljavanja	158,8 (120,2-197,4)	170,5 (116,4-224,6)
Medijana preživljavanja	240,0 (50,0-429,9)	
Long Rank test	$X^2=0,313$; $p=0,576$	

Smrtnih ishoda je bilo gotovo dva puta više u grupi pacijenata koji nisu imali mutaciju u EGFR genu. Međutim, aritmetička sredina preživljavanja je za 12 meseci veća u grupi pacijenata bez mutacije, ali bez statističke značajnosti.

Preživljavanje u odnosu na pomenute grupe je prikazano i grafički (grafikon 9).



Grafikon 9. EGFR mutacija u odnosu na preživljavanje

MET

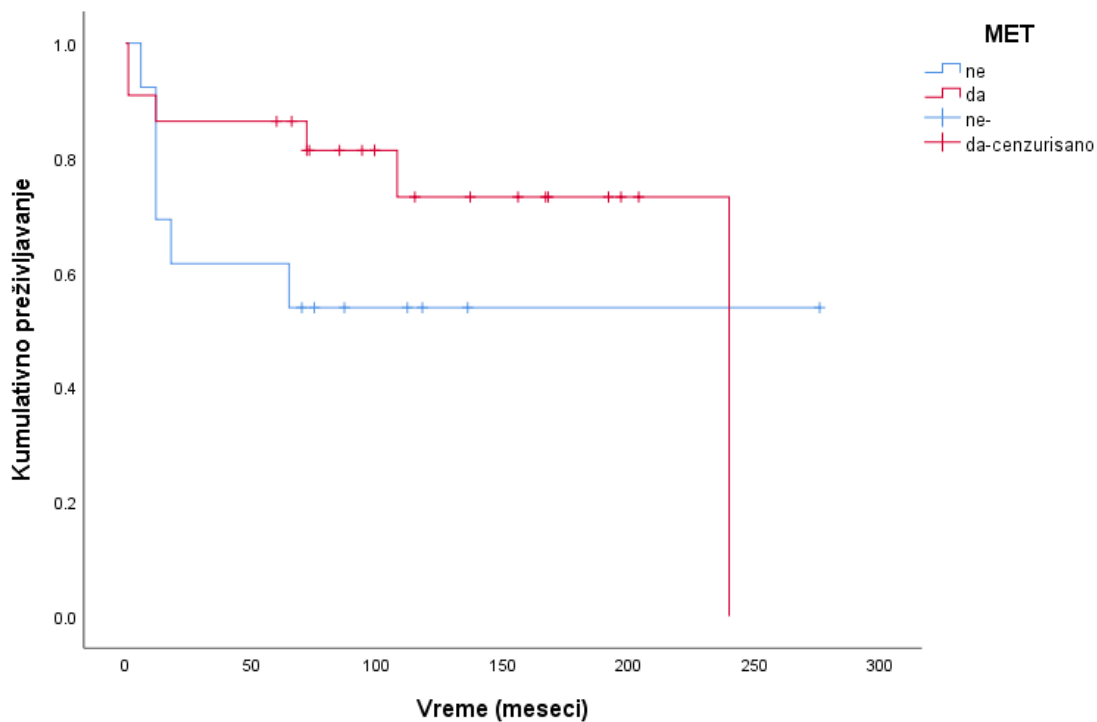
Deskriptivna i analitička statistika preživljavanja u odnosu na prisustvo MET mutacije je prikazana u tabeli 18.

Tabela 18. MET mutacija u odnosu na preživljavanje

	MET mutacija	
	da (n=22)	ne (n=13)
Smrtni ishod	6 (17,3%)	6 (46,2%)
A.S. preživljavanja	188,6 (145,4-231,8)	158,2 (88,6-227,7)
Medijana preživljavanja	240,0	
Long Rank test	$X^2=1,088$; $p=0,297$	

Broj smrtnih ishoda je bio isti u obe grupe pacijenata, sa gotovo tri puta većim procentom u grupi pacijenata koji nisu imali mutaciju. Aritmetička sredina preživljavanja je za 30 meseci veća u grupi pacijenata sa mutacijom, ali bez statističke značajnosti.

Preživljavanje u odnosu na pomenute grupe je prikazano i grafički (Grafikon 10).



Grafikon 10. MET mutacija u odnosu na preživljavanje

ALK

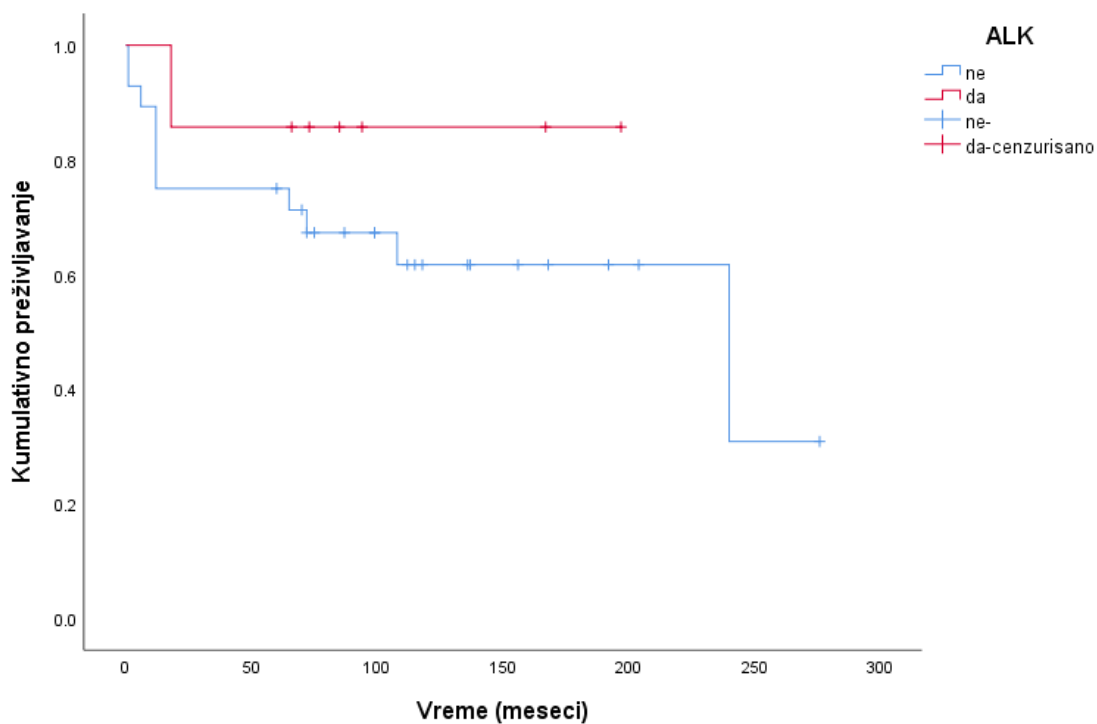
Deskriptivna i analitička statistika preživljavanja u odnosu na prisustvo ALK mutacije je prikazana u tabeli 19.

Tabela 19. ALK mutacija u odnosu na preživljavanje

	ALK mutacija	
	da (n=7)	ne (n=28)
Smrtni ishod	1 (14,3%)	11 (39,3%)
A.S. preživljavanja	171,4 (125,0-217,8)	172,5 (127,3-217,7)
Medijana preživljavanja	240,0	
Long Rank test	$X^2=1,006$; $p=0,316$	

Smrtnih ishoda je bilo gotovo tri puta više u grupi pacijenata koji nisu imali mutaciju. Aritmetička sredina preživljavanja je gotovo identična u obe ispitivane grupe, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike.

Preživljavanje u odnosu na pomenute grupe je prikazano i grafički (grafikon 11).



Grafikon 11. ALK mutacija u odnosu na preživljavanje

KRAS

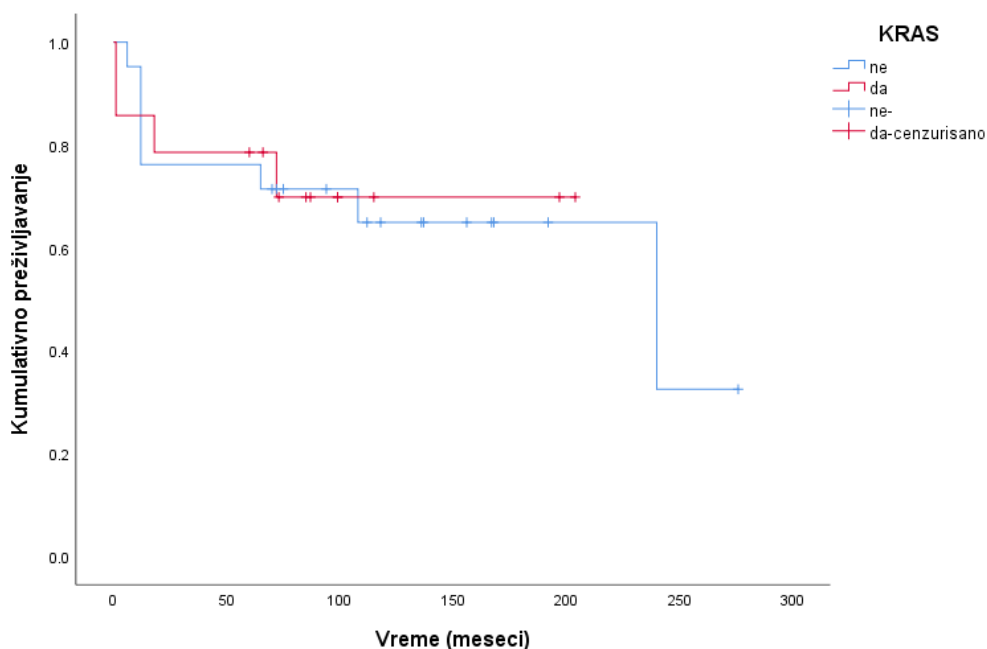
Deskriptivna i analitička statistika preživljavanja u odnosu na prisustvo KRAS mutacije je prikazana u tabeli 20.

Tabela 20. KRAS mutacija u odnosu na preživljavanje

	KRAS mutacija	
	da (n=14)	ne (n=21)
Smrtni ishod	4 (28,6%)	8 (38,1%)
A.S. preživljavanja	150,2 (105,5-194,8)	180,2 (130,2-230,2)
Medijana preživljavanja	240,0	
Long Rank test	$X^2=0,003$; $p=0,958$	

Broj smrtnih ishoda je bio veći u grupi pacijenata koji nisu imali mutaciju, sa nešto većim procentom kod onih koji nisu imali mutaciju. Aritmetička sredina preživljavanja je nešto veća u grupi pacijenata koji nisu imali mutaciju, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike.

Preživljavanje u odnosu na pomenute grupe je prikazano i grafički (grafikon 12).



Grafikon 12. KRAS mutacija u odnosu na preživljavanje

TP53

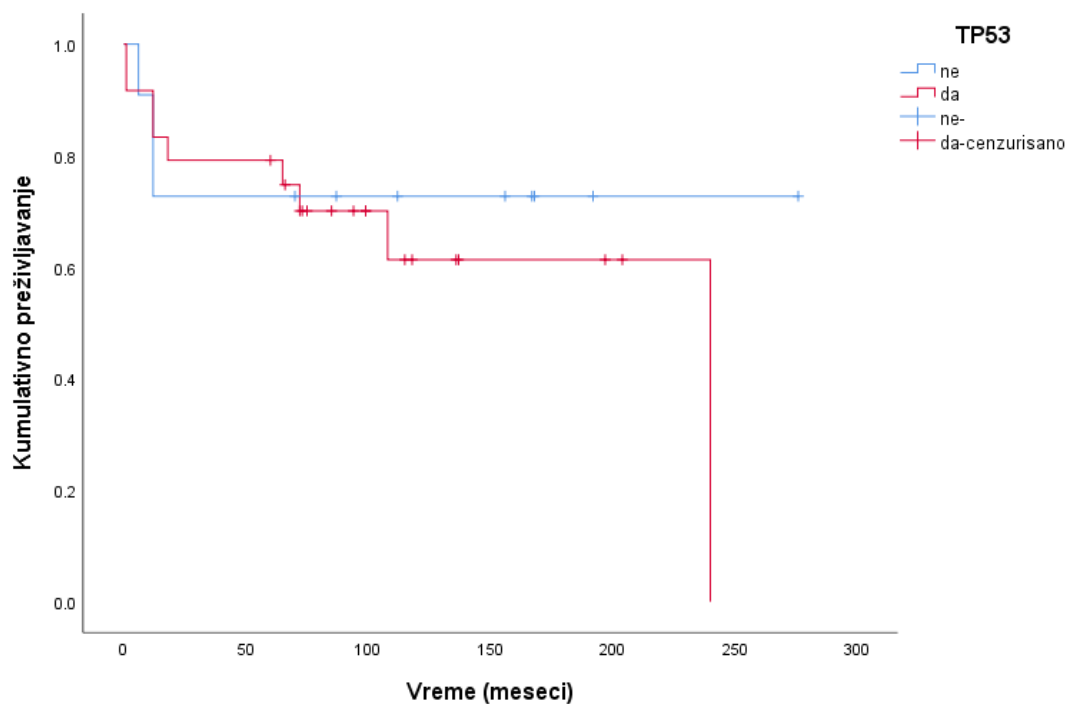
Deskriptivna i analitička statistika preživljavanja u odnosu na prisustvo **TP53** mutacije je prikazana u tabeli 21.

Tabela 21. **TP53** mutacija u odnosu na preživljavanje

	TP53 mutacija	
	da (n=24)	ne (n=11)
Smrtni ishod	9 (37,5%)	3 (27,3%)
A.S. preživljavanja	164,7 (119,6-209,9)	203,5 (133,4-273,5)
Medijana preživljavanja	240,0	
Long Rank test	$X^2=0,424$; $p=0,515$	

Iz tabele se vidi da je broj smrtnih ishoda bio veći u grupi pacijenata sa mutacijom, i sa nešto većim procentom u grupi pacijenata koji su imali mutaciju. Aritmetička sredina preživljavanja je nešto veća u grupi pacijenata koji nisu imali mutaciju, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike.

Preživljavanje u odnosu na pomenute grupe je prikazano i grafički (grafikon 13).



Grafikon 13. TP53 mutacija u odnosu na preživljavanje

SMAD4

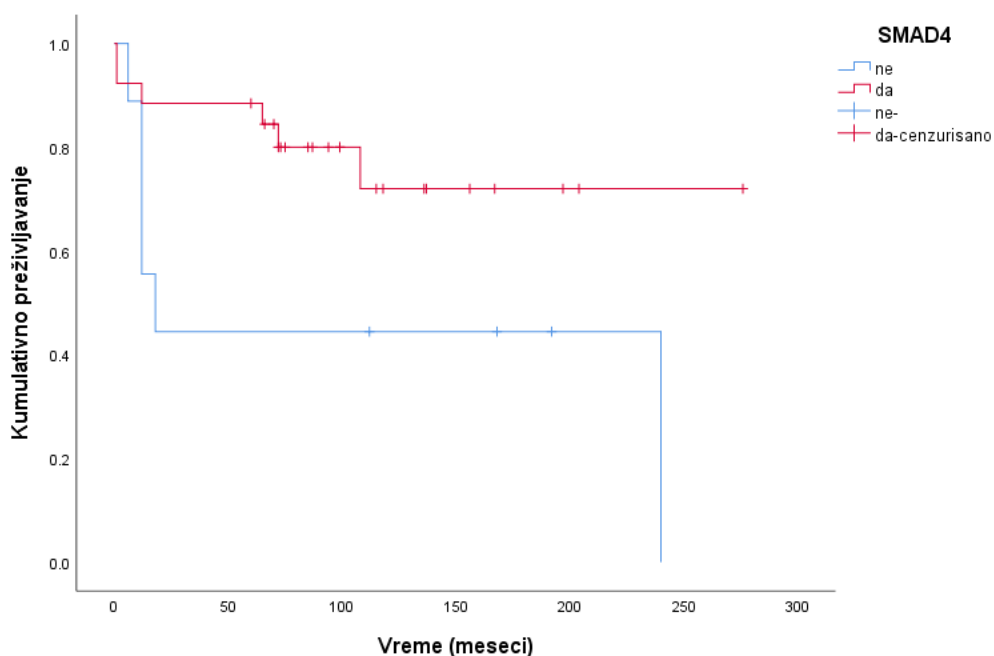
Deskriptivna i analitička statistika preživljavanja u odnosu na prisustvo SMAD4 mutacije je prikazana u tabeli 22.

Tabela 22. SMAD4 mutacija u odnosu na preživljavanje

	SMAD4 mutacija	
	da (n=26)	ne (n=9)
Smrtni ishod	6 (23,1%)	6 (66,7%)
A.S. preživljavanja	213,7 (169,8-257,5)	113,3 (32,2-194,4)
Medijana preživljavanja	18 (0,47-35,5)	
Long Rank test	$X^2=4,022$; $p=0,045$	

Broj smrtnih ishoda je bio isti u ispitivanim grupama, ali sa dvostruko većim procentom u grupi pacijenata koji nemaju mutaciju. Aritmetička sredina preživljavanja je manja u grupi pacijenata koji nisu imali mutaciju, a statističkom analizom je utvrđeno da postoji značajna razlika između ispitivanih grupa po preživljavanju.

Preživljavanje u odnosu na pomenute grupe je prikazano i grafički (Grafikon 14).



Grafikon 14. SMAD4 mutacija u odnosu na preživljavanje

APC

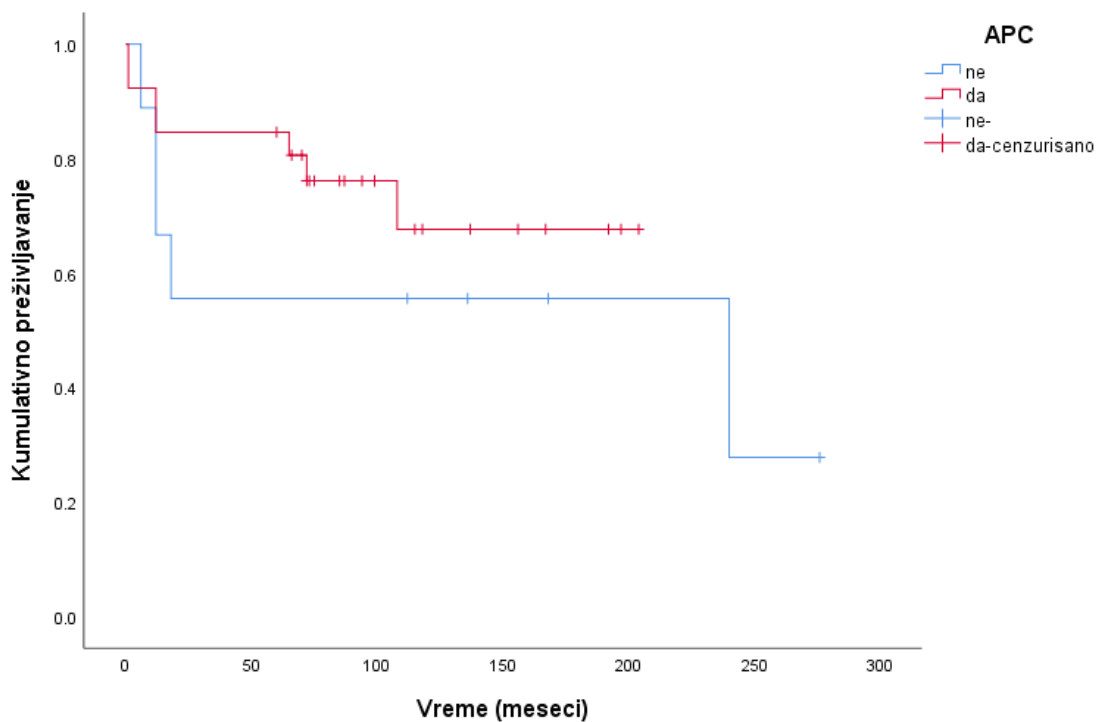
Deskriptivna i analitička statistika preživljavanja u odnosu na prisustvo APC mutacije je prikazana u tabeli 23.

Tabela 23. APC mutacija u odnosu na preživljavanje

	APC mutacija	
	da (n=26)	ne (n=9)
Smrtni ishod	7 (26,9%)	5 (55,6%)
A.S. preživljavanja	153,9 (122,3-185,7)	148,7 (67,6-229,7)
Medijana preživljavanja	240,0	
Long Rank test	$X^2=0,770$; $p=0,380$	

Smrtnih ishoda je bilo gotovo dva puta više u grupi pacijenata koje nisu imale mutaciju. Aritmetička sredina preživljavanja je približno ista, nešto veća u grupi pacijenata koji su imali mutaciju, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike.

Preživljavanje u odnosu na pomenute grupe je prikazano i grafički (grafikon 15).



Grafikon 15. APC mutacija u odnosu na preživljavanje

ATM

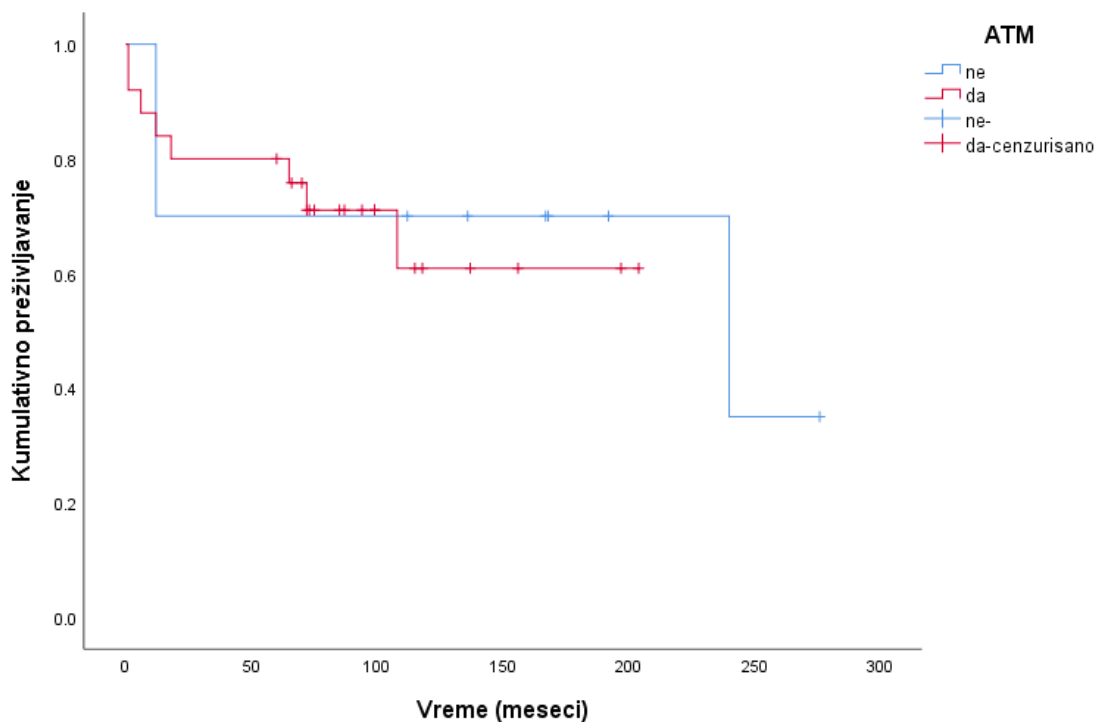
Deskriptivna i analitička statistika preživljavanja u odnosu na prisustvo ATM mutacije je prikazana u tabeli 24.

Tabela 24. ATM mutacija u odnosu na preživljavanje

	ATM mutacija	
	da (n=25)	ne (n=10)
Smrtni ishod	8 (32,0%)	4 (40,0%)
A.S. preživljavanja	142,9 (107,9-177,8)	184,2 (112,2-256,2)
Medijana preživljavanja	240,0	
Long Rank test	$X^2=0,090$; $p=0,764$	

Smrtnih ishoda je bio približno isti u ispitivanim grupama, sa nešto većim procentom u grupi pacijenata bez mutacije. Aritmetička sredina preživljavanja je veća u grupi pacijenata koji nisu imali mutaciju, za 42 meseca, ali statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike.

Preživljavanje u odnosu na pomenute grupe je prikazano i grafički (Grafikon 16).



Grafikon 16. ATM mutacija u odnosu na preživljavanje

ERBB4

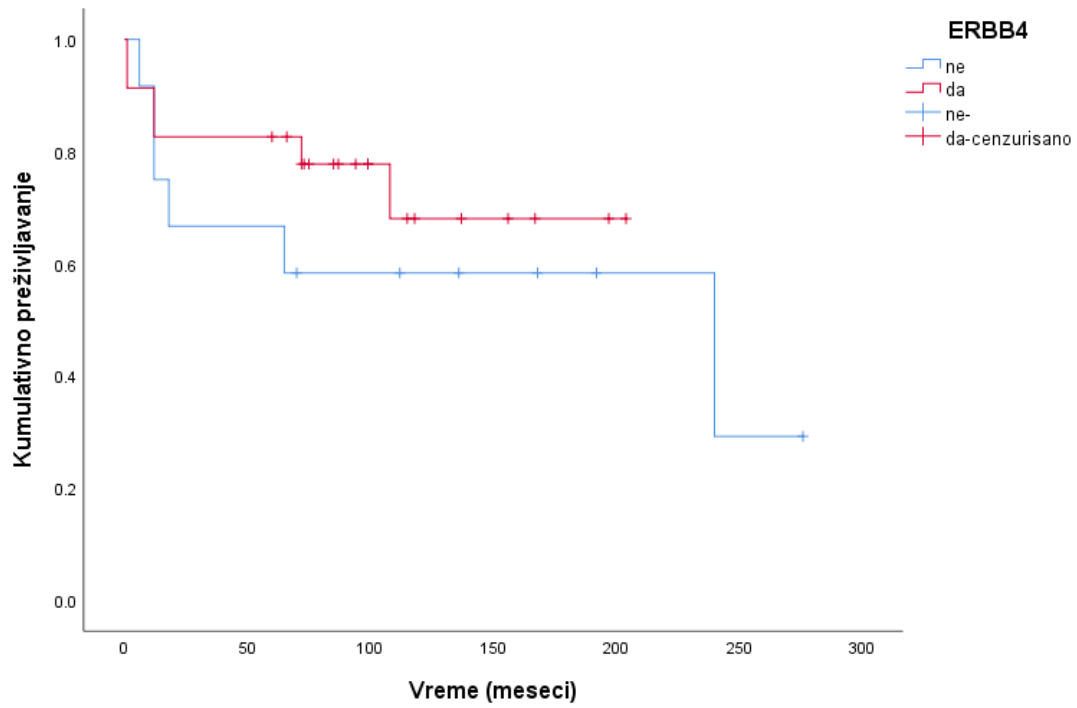
Deskriptivna i analitička statistika preživljavanja u odnosu na prisustvo **ERBB4** mutacije je prikazana u tabeli 25.

Tabela 25. **ERBB4** mutacija u odnosu na preživljavanje

	ERBB4 mutacija	
	da (n=23)	ne (n=12)
Smrtni ishod	6 (26,1%)	6 (50,0%)
A.S. preživljavanja	153,9 (119,5-188,3)	159,9 (92,2-227,6)
Medijana preživljavanja	240,0	
Long Rank test	$X^2=0,672$; $p=0,412$	

Smrtnih ishoda je bilo gotovo dva puta više u grupi pacijenata bez mutacije. Aritmetička sredina preživljavanja je približno ista u obe grupe pacijenata, minimalno veća u grupi pacijenata koji nisu imali mutaciju, za 6 meseci, a statističkom analizom je utvrđeno da nema značajne razlike.

Preživljavanje u odnosu na pomenute grupe je prikazano i grafički (Grafikon 17).



Grafikon 17. ERBB4 mutacija u odnosu na preživljavanje

PH nalaz

Distribucija pacijenata prema PH nalazu u odnosu na ispitivane gene je prikazana u tabeli 26.

Tabela 26. PH nalaz u odnosu na gene

PRISUTNA MUTACIJA (+)	PH nalaz						P vrednosti
	A		B		AB		
	N	%	N	%	N	%	
EGFR +	7	63,6	4	25,0	4	50,0	0,156
MET +	7	63,6	8	50,0	7	87,5	0,216
ALK +	5	45,5	1	6,3	1	12,5	0,036
KRAS +	7	63,6	4	25,0	3	37,5	0,119
TP53 +	8	72,7	9	56,3	7	87,5	0,299
SMAD4 +	9	81,8	10	62,5	7	87,5	0,504
APC +	8	72,7	10	62,5	8	100,0	0,114
ATM +	8	72,7	10	62,5	7	87,5	0,504
ERBB4 +	7	63,6	9	56,3	7	87,5	0,203

*Fišerov test tačne verovatnoće

Jedina statistički značajna razlika između grupa pacijenata sa timomom određenih PH nalazom je po ALK mutaciji. Naime, procenat onih koji imaju PH nalaz timoma tipa A imaju prisutnu u daleko većem broju ALK mutaciju. Ostali geni takođe pokazuju varijacije u procentima, poredeći PH grupe, ali bez značajnosti.

Relaps bolesti

Distribucija pacijenata prema ispitivanim genima u odnosu na relaps bolesti je prikazana u tabeli 27.

Tabela 27. Mutacija gena u odnosu na relaps bolesti

	Relaps bolesti				p vrednosti	
	Ne		Da			
	N	%	N	%		
EGFR	ne	12	70,6	5	29,4	0,427
	da	11	84,6	2	15,4	
MET	ne	7	63,6	4	36,4	0,372
	da	16	84,2	3	15,8	
ALK	ne	17	73,9	6	26,1	0,653
	da	6	85,7	1	9,1	
KRAS	ne	13	68,4	6	31,6	0,215
	da	10	90,9	1	9,1	
TP53	ne	7	70,0	3	30,0	0,657
	da	16	80,0	4	20,0	
SMAD4	ne	2	28,6	5	71,4	0,007
	da	21	91,3	2	8,7	
APC	ne	2	37,5	5	62,5	0,007
	da	20	90,9	2	9,1	
ATM	ne	5	55,6	4	44,4	0,153
	da	18	85,7	3	14,3	
ERBB4	ne	5	45,5	6	54,5	0,026
	da	18	94,7	1	5,3	

*Fišerov test tačne verovatnoće

Značajne razlike po relaps bolesti između pacijenata u odnosu na prisustvo mutacije u genu postoje kada su zastupljeni SMAD4, APC i ERBB4 geni. Regstruje se da je procenat pacijenata sa relapsom bolesti daleko veći kod pacijenata koji nemaju mutacije u SMAD4, APC i ERBB4 genima.

Distribucija pacijenata prema ispitivanim genima u odnosu na pušenje je prikazana u tabeli 28.

Tabela 28. Mutacija gena u odnosu na pušenje

	Pušenje (Da)		p vrednosti
	N	%	
mut_ALK	ne	16 57,1	1,000
	da	4 57,1	
mut_APC	ne	6 66,7	0,700
	da	14 53,8	
mut_ATM	ne	6 60,0	1,000
	da	14 56,0	
mut_EGFR	ne	18 60,0	0,741
	da	8 53,3	
mut_ERBB4	ne	7 58,3	1,000
	da	13 56,5	
mut_KRAS	ne	13 61,9	0,511
	da	7 50,0	
mut_SMAD4	ne	6 60,0	1,000
	da	14 56,0	
mut_TP53	ne	6 54,5	1,000
	da	14 58,3	
mut_MET	ne	6 46,2	0,481
	da	14 63,6	

Iz tabele se konstatuje da nema statistički značajne razlike u procentima pušača između grupa pacijenata koji imaju ili nemaju mutaciju u genima.

5. DISKUSIJA

Prema objavljenim podacima, timomi su heterogena grupa retkih tumora medijastinuma, sa godišnjom incidencom 1,3 do 3,2 na million [74]. Timomi čine oko 0,2-1,5% svih maligniteta. Incidenca u SAD je 0,13 na 100 000 ljudi, raste u poslednjoj dekadi, pretpostavlja se zbog produženja životnog veka ljudi [75]. Svi uzrasti su zastupljeni u SAD, ali dominiraju bolesnici u osmoj dekadi života. Pojava timoma je najverovatnije povezana sa genskim faktorom kao faktorom rizika. Zastupljeniji su kod crne rase i azijsko/pacifičkih ostrvljana, nego kod bele ili hispano populacije [76]. Malo je podataka o timomima u našem region, na Balkanu, uključujući i našu zemlju i zemlje Južne Evrope takođe. Timomi su najčešći kod pacijenata u šestoj deceniji života, ali se mogu pojaviti kako kod dece, tako i u starijoj životnoj dobi, ali ipak ređe [77]. Whittaker i Lynn su izvestili o 105 slučajeva dece sa medijastinalnim lezijama viđenih na Mayo Klinici. Pojedinačne slučajeve su opisali Furman i saradnici. La Franchi i Fonkalsrud su opisali 4 benigna i 3 maligna timoma u osoba mlađih od 20 godina; najmlađi je imao 4, a najstariji 19 godina. Welch i sar. su prijavili 5 malignih lezija, samo troje je bilo mlađe od 16 godina. Kod Lewis-a i sar. u seriji ispitanika na Mayo Klinici, nije bilo pacijenata mlađih od 16 godina. Ramon i Cajal, Suster i Pescarmona su otkrili 10, i 5 tipičnih timoma u dece, redsledom kako je nabrojano [78]. Kod odraslih, distribucija po polu je podjednaka u žena i muškaraca. U različitim studijama, moguće je da blago preovlađuju bolesnici jednog ili drugog pola, ili životnog doba, ali značajna razlika ipak nije uočena.

Rezultati naših analiza pokazuju da je bilo više žena nego muškaraca (odnos polova 1.2:1) sa timomom, najviše u sedmoj deceniji, ali aproksimativno, isti broj pacijenata je bio u šestoj deceniji života takođe, po oko 30%, što se podudara sa podacima iz različitih regiona. Međutim, postoje studije sa drugačijim rezultatima istraživanja. Weis i sar. [79] su ispitivali 4221 bolesnika sa timomima u periodu od 1983. do 2012. sa WHO verifikovanih histotipom iz ITMIG-ove baze podataka. Studija je sprovedena sa ciljem da se raspoznaju najčešće kliničke prezentacije timoma kako bi se poboljšale terapijske opcije lečenja ovih bolesnika obzirom na raritetnost bolesti i manjak informacija iz singl centara. Prema rezultatima pomenute studije, pol kao faktor rizika nije ključan u pojavi timoma, javljaju se podjednako u oba pola (49% muškarci i 51% žene). A i AB timomi se uočeni kod starijih pacijenata u odnosu na tip B1-3.

Dužina trajanja simptoma je bila oko 6 meseci u gotovo polovine naših pacijenata (46,7%) pre postavljanja dijagnoze, dok je mesec dana trajanja simptoma i više od godinu dana bilo približno isto, 26.7 i 25%, pomenutim redosledom. Brzo postavljanje dijagnoze najverovatnije je posledica očiglednih kliničkih simptoma koji su vodili sumnji na bolest, a potom i verifikovanju postojanja tumora.

Oko 40% medijastinumskih masa su asimptomatske i otkrivaju se slučajno pri sistematskim pregledima rutinskim radiografskim pretragama. Preostalih 60% slučajeva imaju simptome vezane za kompresiju ili direktnu invaziju okolnih medijastinalnih struktura, ili u sklopu paraneoplastičkog sindroma [80]. Dejvis i saradnici su utvrdili da su 85% bolesnika sa malignitetom sa izraženim simptomima, a samo 46% bolesnika sa benignim neoplazijama su imali tegobe. Prema većini podataka iz literature, oko 30% do 40% bolesnika ima simptom lokalnog rasta tumora, a 30% to 50% ima sistemske simptome u sklopu paraneoplastičkog Sy. Preklapanje simptoma ove dve kategorije se takodje uočava [81]. Paraliza dijafragme se javlja kao posledica invazija n. phrenicusa, a promuklost je izazvana zahvatanjem n. laryngeusa rec. Oni su retki, ali zloslutni znaci ekstenzivne maligne bolesti. Prisustvo pleuralnog ili perikardnog izliva je takođe ozbiljan klinički nalaz. Retki slučajevi su i spontane rupture timoma, sa rezultujućom akutnom medijastinalnom hemoragijom, a praćeno intenzivnim bolom i gušenjem. Indikovana je hitna timektomija. Takve slučajeve su opisali Samo je nekoliko slučajeva opisano u literature, kao Wright i Wain [82] su takođe prezentovali primere infakta timoma. Ovi autori preporučuju u ovakvim slučajevima kompletnu eksciziju žlezde, tada je prognoza za ove bolesnike zadovoljavajuća. Gotovo trećina bolesnika je bila asimptomatska u našem istraživanju.

Kašalj je dominirao u više od trećine bolesnika, praćen opštom slabošću (malaksalošću) i bolom u grudnom košu 35,5% pacijenata, dok je mali broj pacijenata (4,8%) imao disfagiju, a samo jedan je imao i stridor i promuklost, što očigledno pokazuje da bolest nije bila u odmaklom stadijumu u najvećem broju slučajeva. Ostale tegobe su podrazumevale nespecifične, opšte simptome kao gubitak težine, febrilnost, preznojavanje, ali i hemoptizije i srčanu aritmiju. Naša iskustva se podudaraju sa literaturnim podacima. Bol u grudnom košu, kašalj i dispnea su najčešći simptomi lokalnih manifestacija zbog kompresije na strukture medijastinuma, kao i promuklost zbog pritiska na rekurentni laringealni nerv, a i oštećenje freničnog nerva i sindrom

Gornje šuplje vene takođe mogu biti prisutni. Presentacija timoma sa perikardnom ili pleuralnom efuzijom su pokazatelji metastatske, uznapredovale bolesti i loše prognoze. Naše istraživanje se ne razlikuje od drugih centara u kojima je potvrđeno da se trećina do polovina slučajeva dijagnostikuje slučajno, jer su bolesnici asimptomatski, dok trećina bolesnika ima simptome lokalnog rasta tumora.

Paraneoplastički sindrom je prisutan u oko 40% pacijenata, poput sistemskih i neuroloških manifestacija bolesti [83]. MG, jedan od pomenutih sindroma, je odlično proučena, zbog njene učestale pojave, tj dijagnostikuje se u 30-50% pacijenata sa timomom, a s druge strane, 10-15% pacijenata sa MG ima timom. 5% pacijenata sa timomom koji imaju MG, mogu imati nekoliko paraneoplastičkih sindroma [84, 85]. Prouzrokovana je patološkim autoantitelima usmerenim prema acetilholinskim receptorima skeletnih mišića. Specifična antitela u ostalim paratimičnim sindromima tek treba da budu identifikovana. Incidenca postoperativne MG je 1,5-28%, timektomija je ne prevenira. Povišenje nivoa antitela kod ovih bolesnika bez znakova relapsa timoma ukazuje na ekstratimični mehanizam produkcije antitela [86].

MG u našoj studiji je observirana ređe, konstatovana je u 12.9% pacijenata. MG je bila češća u žena, a samo jedan pacijent je imao polineuropatiju. Neurološki simptomi su bili prisutni u više od polovine pacijenata sa paraneoplastičkim sindromom.

Prisustvo komorbiditeta registrovano je u oko polovine slučajeva (48,4%) i to pretežno kod žena (70%). Najčešće je bila prisutna arterijska hipertenzija (43,3%). Ostale hronične bolesti, kao struma gl. thyroidee, angina pectoris, srčana aritmija su uočeni kod pojedinačnih slučajeva, dok su degenerativne bolesti kičme i alkoholizam uočeni kod još manjeg broja bolesnika. Bolesti koje predstavljaju faktor rizika za pojavu malignih bolesti pluća su bile prisutne kod dva bolesnika (6,6%) koji su imali hroničnu opstruktivnu bolest pluća. Sekundarni maligniteti su bili prisutni kod 4 bolesnika u našoj studiji (13,3%), oni su prethodno lečeni zbog karcinoma dojke, mokraćne bešike, kože i materice. Neke studije pokazuju da su pacijenti sa timomom u velikom riziku da se razbole od drugog primarnog karcinoma (pluća, tiroidee, prostate, limfoma, sarkoma, leukomije itd.), verovatno zbog genetskih faktora rizika ili imunoloških poremećaja [87]. Pored toga, faktori zagađenja okoline, kao i specifična onkološka terapija koja se primenjuje bolesnicima sa timomom (HT/RT) su takođe odgovorni za pojavu ovih bolesti [88]. Uticaj pušačke istorije, sekundarnih maligniteta posebno onih koji su uzrokovani

virusima, kao što je EBV, HIV na pojavu timoma, još nije jasno dokazan [89]. Incidenca drugog primarnog malignog tumora drugog organa u bolesnika sa timomom je impresivna. Konstatovano je u 17% bolesnika od strane Lewis i sar. Sa Mayo Klinike i Couture i Mountain iz M. D. Anderson Cancer Center izveštavaju o incidenci od 21%. Studije pokazuju signifikantno viši rizik za pojavu sekundarnih karcinoma kod bolesnika sa timomima u odnosu na opštu populaciju [90]. MG se uglavnom javlja kod bolesnika sa timomom, ređe kod obolelih od timusnog karcinoma (28:20,3%) [91]. Nema razlike u pojavi ekstratimičnih maligniteta u bolesnika sa timomom u odnosu na prisutvo (tj. odsustvo) MG.

Timomi su najčešće, čak do u 75% slučajeva situirani u prednjem medijastinumu, prednjem gornjem medijastinumu u 15%, a u ostalim odeljcima u 5-10% slučajeva [92]. Marchevsky i Kaneko konstatuju da se oko 95% thymoma nalazi u prednjem medijastinumu. Oni su takođe utvrdili prisustvo timoma izvan granice medijastinuma na primer u vratu, kao i Ridenhour, Fukuda, i Hsu i sar. Lokalizaciju u predelu levog hilusa su konstatovali Cosio-Pascal i Gonzalez-Mendez; plućnom parenhimu - McBurney, Yeoh, Kung, Moran, i Veynovich i sar [93,94]. Unutar medijastinuma, timomi su opisani u srednjem odeljku od strane Kojima i Kanzaki i sar., kao i supradijafragmalnoj regiji od strane Perera i Wilson-a, i Carr i O'Keefe. Cooper i Narodick su otkrili slučaj pojave timoma u paravertebralnom sulkusu, a al-Salem u zadnjem medijastinumu. Von Wadon je opisao timom u vidu intratrahealnog polipa. Timomi su opisani i kao retki primarni tumori pleure. Miller i sar. su opisali kod dva starija bolesnika timome u okviru miksoma u levom i desnom atrijumu, Burke i Virmani su konstatovali prisustvo tkiva timoma u kardijalnim miksomima, Helm i saradnici u abdomen, a Vladislav i sar. takođe ekstratorakalne metastaze [95,96].

Radiografski nalazi grudnog koša u našoj studiji pokazuju da su solitarne promene bile najčešće, u dve-trećine (61,3%) pacijenata, lokalizovane u prednjem medijastinumu. Atipične lezije i metastatski procesi su značajno ređe bili prisutni (21% i 17,7%, pomenutim redosledom). Svi pacijenti su imali patološki nalaz na radiografijama.

Masivni tumori, veći od 5 cm, su bili najzastupljeniji, u više od polovine slučajeva (58,1%). FNAB kao invazivna dijagnostička procedura je sprovedena kod 12,9% naših pacijenata. To je bio mali broj pacijenata koji nisu mogli biti operisani zbog toga što je process bio diseminovan ili zbog prisustva komorbiditeta koji su predstavljali faktor

rizika za sprovođenje operacije. Naš pristup je u saglasnosti sa preporukama savremenih vodiča o načinu sprovođenja dijagnostičkog postupka kod timusnih neoplazmi [44,97]. Preoperativna PH verifikacija procesa biopsijom tumora nije neophodna ukoliko je dijagnoza timoma visoko suspektna, tada je indikovani operativni pristup. Biopsija tumora je indikovana u svim ostalim situacijama, cito-histološka potvrda je indikovana ukoliko je tumor neresektabilan. Pristupi koji se preporučuju su perkutana biopsija tumora širokom iglom ili hirurška biopsija tumora medijastinotomijom ili malom torakotomijom. Da bi se postavila dijagnoza tumora timusa potreban je multidisciplinarni pristup koji podrazumeva blisku saradnju kliničara, radiologa, hirurga i patologa, kako bi se bolest otkrila u ranoj fazi kada su izgledi za izlečenje dugo preživljavanje, uz ostvarivanje dobrog kvaliteta života najveći. Radiolog uz postojeće imidžing metode je od presunog značaja u diferencijalno dijagnostičkom postupku i daljem praćenju efekata lečenja. Kompjuterizovana tomografija (CT) se sprovodi pri dijagnostikovanju timoma kada se postavi sumnja na postojanje patološkog procesa, i potom radi praćenja ovih bolesnika, radi procenjivanja efekta specifičnog onkološkog lečenja. MRI je od velike koristi u preoperativnoj pripremi sa ciljem da se otkrije moguća infiltracija srca i velikih krvnih sudova, limfnih žlezda i njihove međusobne odnose. PET scan se koristi za diferenciranje benignih od malignih neoplazija, i radi planiranja operativnog pristupa kada se postavi sumnja na diseminovanu bolest [98]. Ponekad postoje poteškoće da se radiografijom grudnog koša, PA snimkom, uoči tumor, pogotovu ako je malih dimenzija i smešten u prednjem medijastinumu, pa se ne može vizuelizovati jer se supreponira sa organima sredogruda. To je jedan od razloga zbog kojih se dijagnoza može ustanoviti kasno, te se radikalna operacija (RO) ne može sprovesti pravovremeno. Fukui i saradnici su potvrdili da je veličina tumora jedan od krucijalnih prognostičkih faktora i prediktora boljeg preživljavanja [99].

Neinvazivni timomi, u našem radu, su bili najučestaliji, kod više od polovine pacijenata (52,5%), a invazivni timomi sa prodorom u masno tkivo su observirani u 18% pacijenata. Metastatska bolest je konstatovana u 29,5% pacijenata. Skorašnja istraživanja su pokazala rastući broj obolelih sa metastatskom bolešću (MT) u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD). Na primer, 17 slučajeva je dijagnostikovano 1973, a 2008, registrovano je 90 pacijenata u SEER bazi podataka. Matthew i saradnici su ustanovili da se kod muškaraca češće dijagnostikuje bolest u uznapredovaloj fazi, što su Engels i sar.

objasnili mogućim uticajem profesionalne ekspozicije rizičnim faktorima za nastanak bolesti. Ovi autori su utvrdili prisustvo pleuralnih i perikardnih metastaza u 6,8% slučajeva [7,75,100]. Kaufman i sar. su opisali da je mogućnost da se sprovede RO u ranom, I stadijumu bolesti gotovo 100%, 85% u II (opseg, 43–100%). Prosečna stopa operabilnosti upadljivo opada u kasnim, uznapredovalim stadijumima, sa svega 47% operisanih u III i 26% u IV stadijumu. Stopa operabilnosti (RO) razumljivo varira u III i IV stadijumu u zavisnosti od brojnih faktora kao što su lokacija tumora, stepen invazije okolnih struktura, kao i od različitog strateškog pristupa operaciji visoko specijalizovanih medicinskih centara [101]. Naše analize pokazuju da je većina pacijenata, gotovo polovina, bila u I stadijumu bolesti, ali se uočava velika varijabilnost u broju obolelih od II do IV stadijuma. Vincenzo i sar. konstatuju da je približno 40% pacijenata otkriveno u I stadijumu, po 25% u II i III stadijumu, 10% u IVa i 1%–2% u IVb stadijumu. Invazija u medijastinalni prostor (II i III stadijum) se nalazi u oko 50% timoma. Pleuralna invazija se najčešće uočava, praćena pulmonalnom i perikardijalnom, prilikom diseminacije bolesti. Oko 30% infiltrira venu Inominatu ili venu Cavu superior, a 20% zahvata frenični nerv [102].

Što se tiče PH nalaza, naše istraživanje pokazuje da je najčešće bio zastupljen B1 tip timoma, praćen zatim tipom A i AB (podjednako reprezentovani u po oko trećine pacijenata), a B2 i B3 timomi su bili najmanje prisutni. Margaritora i sar. [103] su prikazali seriju 317 pacijenata sa timomom, ali je u grupi takođe bilo i pacijenata sa timusnim karcinomom (timom tip C). Utvrđena je najveća učestalost B2 timoma (57,5% slučajeva), sledi ga tip B1 (19,2%) i zatim, finalno, tip AB (9,5% slučajeva). Brojne studije ukazuju na značaj ustanovljene WHO patohistološke klasifikacije timusnih neoplazmi, koja potvrđuje da patohistološki podtipovi izražavaju određene specifičnosti i zakonomernosti u biološkom i kliničkom ispoljavanju [104]. Weis i sar. u multicentričnoj analizi pretpostavljaju da raznolikost u nalazima potiče od različitih geografskih predispozicija; tako da je pojava tipa A timoma približno ista u Evropi i SAD (15% i 14%, istim redosledom), ali značajno niža u Aziji (6%). Timomi tipa AB se češće javljaju u Aziji nego Evropi ili SAD (27%, 23% i 18%, redom). Učestalost B2 timoma je približna u Evropi (31%) i SAD (32%), ali značajno niža u Aziji (20%). Tip B3 timoma su uočeni češće u Aziji u odnosu na Evropu ili SAD (32%, 15% i 16%, redom). Međutim, za tip B1 nije uočena značajna raznolikost prema geografskoj rasprostranjenosti, tj. nije

uočena značajna razlika po učestalosti pojavljivanja u različitim geografskim regionima (16–20%). Kod pacijenata sa timomom tipa A, stadijum je, generalno, bio niži (90% pacijenata u stadijumu I-II), slični rezultati su uočeni kod AB timoma, za razliku od timoma B1 to B3, gde je 38% B3 timoma bilo u III stadijumu bolesti [105].

Najčešći terapijski pristup u lečenju timoma u našoj Klinici je bio operativni (88,7% pacijenata), pri čemu je najveći broj bolesnika bio radikalno tj. kompletno operisan (90,9%), a kod 10,1% pacijenata je sprovedena parcijalna operacija. Kod pacijenata koji nisu mogli biti operisani, primenjeni su sledeći modaliteti lečenja: kod 3,2% pacijenata je administrirana HT i RT, a kod 4,8% pacijenata su primenjene mere najbolje suportivne nege (BSC). Obzirom da su timomi retki tumori, našom studijom je prikazana i analizirana mala, a vrlo heterogena grupa bolesnika tokom dugog, dvo~decenijskog vremenskog intervala od 1993 godine, u kome su se stavovi o pristupu lečenja menjali i bili dopunjavani, dok najzad nisu ustanovljene smernice i preporuke u lečenju timoma prema zvaničnim evropskim i svetskim vodičima [44,97]. Ove činjenice objašnjavaju mali broj primena neoadjuvantne/adjuvantne HT/RT i drugih modaliteta specifičnog onkološkog lečenja u analiziranoj grupi pacijenata.

Srednja vrednost ukupnog preživljavanja u pacijenata sa timomom u našoj studiji je bio 204 meseca. Gotovo dve trećine pacijenata je imalo desetogodišnje preživljavanje, i većina ovih pacijenata je bila u I stadijumu bolesti, koji je najpogorniji za optimalni vid lečenja, radikalnu operaciju, koji vodi sa najvećom verovatnoćom izlečenju, i ovi podaci se podudaraju sa literaturnim. Pacijenti u I stadijumu su imali najbolje stope preživljavanja u svim našim kategorijama praćenja (1-,2-,5-,10-to godišnje preživljavanje) poredeći sa drugim stadijumima bolesti, što je u saglasnosti sa ostalim centrima [106]. Konstatovano je u našoj studiji statistički značajno duže preživljavanje u žena u poređenju sa muškarcima. Nije dokazana statistički značajna razlika u preživljavanju u odnosu na starosnu dob, ali se duže preživljavanje uočava kod pacijenata mlađih od 55 godina. Nije uočena statistički značajna razlika u preživljavanju kod pušača u odnosu na nepušače. Podaci koji se odnose na uticaj starosne dobi na preživljavanje se podudara sa literaturnim podacima, nije pronađena uzajamnost uticaja pola pacijenata, a preciznih podataka u literaturi o uticaju pušačkih navika kao faktora rizika na pojavu timoma nema [107].

U našoj populaciji, među pacijentima koji su imali registrovan paraneoplastički sindrom, najzastupljenija je bila MG, u 88,9% slučajeva. Prisustvo mijastenije gravis (MG) nije imalo statističkog značaja u preživljavanju, ali pacijenti bez MG su imali bolje preživljavanje u odnosu na one koji su imali MG.

Naši rezultati nisu pokazali značajnu povezanost imunoloških poremećaja, sekundarnih maligniteta i preživljavanja, ali neka istraživanja su pokazala jaku vezu između sistemskih sindroma i timoma. Tako, za A i AB timome nije utvrđena jaka povezanost sa MG, dok se za B1 i B2 smatra da su udruženi sa MG, što može predstavljati važan prognostički faktor. Okumura i sar. [42,51] u svojim istraživanjima su utvrdili da tip A timoma i tip C karcinoma nisu pronađeni kod slučajeva sa MG, dok su AB, B1, B2, i B3 pronađeni u 6,8%, 40%, 55,6% i 10% slučajeva, redom. U dosadašnjim studijama, podaci su kontradiktorni. Rani radovi [108] sugerišu da pacijenti sa MG imaju lošiju prognozu, međutim, u savremenim publikacijama, zaključuje se da je prisustvo MG kod bolesnika sa timomom kao prognostički faktor diskutabilno, tj nema uticaja, a s druge strane, da naprotiv, takvi pacijenti imaju bolju prognozu. Tako Wang i sar. u 2016 sugerišu da MG ima pozitivan impact na dužinu preživljavanja bolesnika sa timomom [109]. Druge studije [110] su takođe naglasile značaj povezanosti MG i ranog Masaoka~Koga stadijuma bolesti. Objašnjenje može biti i to što pojava simptoma MG ukazuje na bolest, tako da se detektuje u ranoj fazi, kada je lečenje sa kurativnim, a ne samo palijativnom efektom, moguće. Kod naših pacijenata, MG je bila gotovo ravnomerno zastupljena u svih tipova timoma: po dva bolesnika su imala tip AB timoma i tip B1 timoma, tri bolesnika tip A timoma i jedan bolesnik tip B2 timoma, ali nije bio nijedan slučaj sa B3 timomom.

Statistički značajna razlika u preživljavanju konstatovana je u našem radu kod pacijenata koji su imali solitarni tumor u odnosu na pacijente koji su imali atipičnu radiografsku prezentaciju timoma, a takođe i u odnosu na one koji su imali metastatsku bolest. Blizu konvencionalnog nivoa statističke značajnosti u preživljavanju su imali pacijenti koji nisu imali masivnu tumorsku promenu. Pacijenti sa neinvazivnim timomom su imali statistički značajno bolje preživljavanje u odnosu na one koji su imali invaziju u masno tkivo ili metastatsku bolest. Podaci se podudaraju sa literaturnim [111]. Pacijenti u I stadijumu bolesti su imali bolje preživljavanje u odnosu na pacijente u II, III i IV stadijumu bolesti u našoj studiji, što je u saglasnosti sa ispitivanjima u svetu kao o najvažnijem, tj rani

stadijum bolesti kao najbolji prognostički faktor preživljavanja [112]. Korelacija WHO klasifikacije i stadijuma bolesti može najbolje opisati kliničku sliku I prognostičke faktore kod timoma [113].

Naša studija nije pokazala statistički značajnost u preživljavanju u odnosu na PH nalaze, ali je registrovano duže preživljavanje u bolesnika sa tipom B u odnosu na AB i A tip timoma. Iako je još uvek diskutabilno i istraživanja su u toku, zaključeno je da je stadijum bolesti najvažni prediktor preživljavanja bolesnika sa timomom, mnogi autori ipak, uključujući Carillo i sar. koji ukazuju na činjenicu da PH nalazi predstavljaju prognostičke faktore: počevši od tipa A do B3, prognoza se pogoršava [114,115]. Pacijenti u ranom stadijumu bolesti su kandidati za RO, što zavisi i od opšteg stanja bolesnika i prisustva komorbiditeta, što takođe može limitirati pristup operativnom lečenju [116].

Statistički značajna razlika u preživljavanju u analizi sprovedenoj u našem centru, bila je kod onih bolesnika koji su operisani u odnosu na one koji nisu operisani, ali nije utvrđena statistički značajna razlika u preživljavanju upoređivanjem radikalno u odnosu na parcijalno operisane bolesnike. Ipak, duže preživljavanje je potvrđeno u grupi radikalno operisanih bolesnika.

Relaps bolesti u I i II stadijumu su retki, u 3% i 13% slučajeva, istim redosledom. Međutim, kod invazivnih timoma, lokalni recidiv je prisutan kod oko 27%, a u IV stadijumu u 54% pacijenata navode Monden i sar. [117]. Obzirom na indolentnu prirodu bolesti, Tseng Y~C. i sar. [118] zaključuju da je relaps bolesti bolji pokazatelj ishoda lečenja u odnosu na vreme preživljavanja, i da je dugoročno praćenje veće kohorte pacijenata neophodno da bi se istražilo biološko~onkološko ponašanje ovih tumora.

Među radikalno operisanima u našem centru, relaps bolesti je imalo 16,0% bolesnika od kojih je jedna pacijentkinja živa. Inicijalno je bila u II stadijumu bolesti sa tipom A timoma, pušač. Lečenje je nastavljeno primenom HT i RT, sa 10-to godišnjom stopom preživljavanja. Kod ostalih pacijenata, relaps bolesti je evidentiran nakon 6 meseci kod 4 pacijenata, do 5 godina, sa vremenom preživljavanja do 240 meseci. 5 godina, jedan pacijent je bio pušač, sa preoperativnim III stadijumom B3 timoma, i 10-to godišnjim preživljavanjem, a drugi pacijent nepušač, inicijalno u II stadijumu timoma A tipa, nepušač sa 5-to godišnjim preživljavanjem. Smrtni ishod u našem istraživanju je konstatovan kod 40,9% pacijenata, od kojih su 3 (12%) umrla u prvoj nedelji nakon

sprovedene operacije zbog posledica komplikacije sprovedene operacije. Prema podacima iz literature, operativni mortalitet pri resekciji timoma je nizak, bilo da se radi o inkapsuliranoj ili invazivnoj formi. Lewis i sar. su konstatovali samo 3,1% stopu mortaliteta u 227 bolesnika sa totalnom resekcijom neoplazme. Bergh i sar. su referisali da nije bilo smrtnih ishoda za stadijume I i II, a 3 smrtna ishoda od 14 bolesnika (21%) u III stadijumu bolesti, sa stopom mortaliteta od 7,7%. Shamji i sar. nisu uočili smrtno ishode među 52 bolesnika (25 u I stadijumu i 27 u II stadijumu bolesti) [119]. Maggi i sar. su registrovali stopu operativnog mortaliteta 2,9%; 71% smrtnih ishoda pripisano je krizama mijastenije gravis. Moore i sar. na navode da se među 77 pacijenata dogodio jedan postoperativni smrtni ishod, i to kao komplikacija u bolesnika sa MG (1,2%). U seriji Blumberg-a i Regnard-a i sar., operativna stopa mortaliteta je bio 2% i 1,6%. Operativni morbiditet se učestalo dešava u pacijenata sa MG ili prethodnom kardiovaskularnom bolešću. Lewis i sar. su naveli 39% ne fatalnih komplikacija na 227 pacijenata sa kompletnom resekcijom timoma. Moore i sar. su imali stopu komplikacija 25,9% (20 od 77 pacijenata), a Regnard i sar. stopu morbiditeta od 6,7% [120,121].

Obzirom da priroda timoma u većini slučajeva nije agresivna, čak i u operisanih pacijenata se preporučuje dugoročno praćenje i redovne kontrole, i naučnici su jedinstveni u ovom stavu. Najčešće je lokoregionalno mesto relapsa bolesti [122], ali se često konstatuje i na pleuri ($\leq 92,0\%$) [123]. Weis i sar. [105] su zapazili da je vreme do relapsa bolesti duže u bolesnika sa ranim stadijumom bolesti i tipom A ili AB timoma (stopa relapsa, 1–2%) u poređenju sa timomima B1 do B3 (2–7%). Naša studija je analizirala malu, heterogenu grupu pacijenata, starosne dobi u rasponu od 21 do 61 godine, sa različitim pušačkim navikama. Takođe, razlikovali su se i prisustvom različitih komorbiditeta. Svi stadijumi bolesti i PH nalazi su bili zastupljeni u ovoj grupi ispitanika. Obzirom na sve navedeno, generalni zaključak se ne može izvesti o predisponirajućim faktorima za relaps bolesti nakon sprovedene operacije. Ipak, rukovodeći se rezultatima sprovedenih istraživanja multicentričnih studija, zaključujemo: rani stadijum bolesti, A i AB tip timoma, radikalnost operacije su faktori koji mogu uticati na bolju prognozu, duže preživljavanje i duže vreme do pojave relapsa bolesti [124]. Patohistološki tip i stejdžing (klinički stadijum) timoma su osnovni parametri koji ukazuju na prognozu bolesti, jer određuju operabilnost tumora, koja je najznačajniji prognostički faktor. Starosna dob, pol, slobodan interval do ponovne pojave bolesti (disease - free interval), prisustvo MG nisu

obavezni, nezavisni pokazatelji preživljavanja, tj. prognoze bolesti. Neka proučavanja pokazuju da lošu prognozu imaju epitelijalne varijante (po staroj klasičnoj klasifikaciji) i prisustvo autoimune bolesti (RCA, hipogamaglobulinemija, SLE). Resekcija u ranom stadijumu timoma, medularna forma tumora (po Marino i Muller-hermelinkovoj šemi) ili A-AB histološki tipovi, su prediktori dugotrajnog preživljavanja. Obzirom da su timomi indolentni tumori, zaključci se o petogodišnjem preživljavanju ne mogu dobiti, jer se relaps bolesti može pojaviti i posle 10-20 godina. Zato je potrebno doživotno praćenje ovih bolesnika [47,48,49]. Pri pojavi relapsa bolesti, ukoliko je promena solitarna, ponovo je indicirana hirurška resekcija, što produžava slobodan interval do pojave bolesti (free time interval) [125]. Podaci iz literature potvrđuju pozitivnu korelaciju između kliničkog~Masaoka stadijuma bolesti i preživljavanja. Detterbeck je utvrdio i objavio 5-to godišnje preživljavanje od 92%, 82%, 68% and 61% i 10-godišnje preživljavanje od 88%, 70%, 57% i 38% za Masaoka I-IV stadijume u 10 trajala za više od 2000 pacijenata [112].

Prema dosadašnjim iskustvima, tretman timoma treba da se planira i sprovodi uključivši u razmatranje opšte stanje pacijenta, prisustvo komorbiditeta, lokalizaciju i veličinu tumora, histološki tip tumora, stadijum bolesti i terapijske opcije. Cilj je da se tumor ukloni u potpunosti. Terapijske opcije su: hirurški pristup, primena hemoterapije, radioterapije i simptomatske terapije (BSC). Lečenje se sprovodi pojedinačnom primenom neke od pomenutih terapijskih opcija ili kombinovanim pristupom [126].

Uloga hirurgije u lečenju timoma je nesporna. Stopa resektabilnosti je uslovljena stadijumom (100%, 85%, 47%, 26% za stadijum I, II, III, IV). Stopa preživljavanja posle operacije je ohrabrujuća (78%, 73%, 30%, 10% tokom 15 godina za stadijume I, II, III, IV). 38% bolesnika umire od timoma; ostali bolesnici umiru iz drugih razloga uključujući postoperativne komplikacije (7%), prisustvo mijastenije gravis (20%), ostale autoimune bolesti (8%), razne druge faktore, uključujući druge karcinome [127,128].

Pojava relapsa bolesti je takođe jedan od važnih prediktivnih prognostičkih faktora. Prognoza bolesti je utoliko gora, ukoliko se relaps javi ranije nakon sprovedene operacije. Prema studijskim ispitivanjima, prosečno vreme do pojave relapsa bolesti je 5 godina, i može biti lokalni (80%), udaljeni (10%), a zastupljenost oba se viđa u 10% slučajeva [129, 130,131,132,133].

Standardizovan hirurški pristup ne postoji, planira se prema lokalizaciji, veličini i invazivnosti tumora. International Thymic Malignancy Interest Group (ITMIG), organizacija formirana 2009., čini je grupa eksperata koja je posvećena unapređivanju znanja o tumorima timusa, preporučuje en bloc resekciju uključujući kompletnu timektomiju sa resekcijom okružujućeg medijstinalnog masnog tkiva, obzirom na mogućnost transkapsularnog rasejavanja nevidljivih mikrometastaza i invazije tumorom. Druge vodeće organizacije koje se bave usaglašavanjem i standardizacijom pristupa u lečenju tumora timusa su: European Society of Thoracic Surgeons (ESTS) thymic working group, Japanese Association for Research in Thymoma (JART). Neophodna je resekcija okružujućih struktura kao što su perikard, pleura, pluća, perikardio-dijafragmalno masno tkivo, ukoliko su bolešću zahvaćeni. Kod bolesnika sa MG, resekcija medijastinalne pleure i limfnih žlezda u aorto-pulmonalnom prozoru se preporučuje, ukoliko su prisutne metastaze, kao i uklanjanje okolnog masnog tkiva u prevenciji daljeg rasejanja mikrometastatskih promena, čak i u slučajevima kada je sprovedena kompletna resekcija tumora [44]. Neurolozi sugerišu da bolesnici sa MG moraju biti odličnog kliničkog stanja da bi se pristupilo operaciji [9]. Najčešći hirurški pristup je sternotomija medijana. Ostali metodi su video-asistitirana torakoskopija, transcervikalna timektomija (visoka je stopa relapsa, stoga se ne preporučuje, mala sternotomija. Posterolateralna torakotomija je korisna u slučajevima kada je potrebno pristupiti plućima ili pleuri, ali se kao standardna procedura ne koristi zbog lošeg pristupa vratu i prednjem medijastinumu, te se kompletna timektomija ne može uspešno izvesti. Pomenute procedure se preporučuju samo u slučaju ako nije zahvaćen frenični nerv i krvni sudovi u okruženju. Ukoliko je kapsula tumora perforirana, ili kompletna resekcija nije moguća, pristupa se eksplorativnoj torakotomiji [35,70]. Prema dostupnim podacima, veliki procenat timoma je resektabilan: 42% u stadijumu IV, do 100% u stadijumima I-II u studiji od 1320 bolesnika, dok kompletna resekcija može da se obavi u oko trećine slučajeva. Stopa smrtnosti koja se opisuje u literaturi je 2,8%. Pojava smrtnog ishoda neposredno posle resekcije timoma sada je retkost, manja od 1% [54,56,57]. Istorijski, većina letalnih ishoda bila je kod bolesnika sa MG kod kojih bolest nije bila dobro kontrolisana, a neposredni uzrok smrti su bile respiratorne komplikacije. Moderna preoperativna priprema, jedinice intenzivne nege i u pojedinačnim slučajevima primena plazmafereze, smanjile su rizik od smrtnog ishoda [36]. U većini obimnih, retrospektivnih

studija, rezultati pokazuju da je 92% stopa preživljavanja u pacijenata kod kojih je sprovedena RO. Stopa preživljavanja za 5 i 10 godina u I stadijumu bolesti je bila 100%, u II stadijumu približno pomenutim rezultatima: 98%. Međutim, već u III stadijumu, rezultati su lošiji: 5-to godišnje preživljavanje se beleži kod 89% slučajeva, a 10-to godišnje u 78%. Pacijenti u IV stadijumu prate ovu tendenciju lošijih nalaza u preživljavanju, pa je 5-to godišnja stopa 71%, a 10-to godišnja 47%. Ovakve analize pokazuju da i pacijenti čija je bolest ekstenzivna mogu imati dugo vreme preživljavanja, što nije svojstveno drugim malignitetima. Ako je vena cava infiltrirana, može se izvršiti angioplastika sa ili bez rekonstrukcije, te se potom može izvesti kompletna resekcija tumora. U slučaju invazije pleure, indikovana je ekstrapleuralna pneumonektomija, postiže se kompletna resekcija u više od 60% slučajeva, a 5-to godišnje preživljavanje je 60% za Masaoka IV stadijum. Ovaj pristup je agresivan, te zbog visokog rizika nastajanja postoperativnih komplikacija, za njega se ne mogu kvalifikovati svi pacijenti [127,128,129]. Ukoliko se operacija ne može završiti radikalnim pristupom (bilo inicijalno, bilo nakon sprovedenog neoadjuvantnog lečenja), preporučuje se maksimalni debulking, a potom primena postoperativne HT/RT [59]. Bolesnici sa lokalnim recidivom koji podležu operaciji imaju slično petogodišnje preživljavanje u poređenju sa bolesnicima koji nisu imali relaps bolesti. Reoperacija je u ovim slučajevima prihvatljiva zbog kratkoročnih i dugoročnih razloga. Od 28 bolesnika koji su podlegli reoperaciji Regnard i saradnici su konstatovali da je 19 od njih imalo kompletnu resekciju [49]. Kod rekurentnih timoma posle reoperacije, 5- i 10-to godišnje vreme preživljavanja je 51% i 43%, i 64% i 53% kod onih sa kompletnom resekcijom [51].

Operativni pristup ima još jednu važnu ulogu: čak i u neresektabilnih slučajeva, eksplorativna torakotomija omogućava postavljanje precizne patohistološke verifikacije timoma, i u prevenciji diseminacije bolesti tokom invazivnih dijagnostičkih procedura kao što je FNAB. Pri pojavi relapsa bolesti, uvek se savetuje proceniti mogućnost reoperacije, i potom nastaviti lečenje primenom HT i/ili RT, u zavisnosti od stadijuma bolesti [52,58].

Pacijenti sa raširenom bolešću imaju benefit od postoperativne RT (PORT). Studije su pokazale značaj primene adjuvantne RT u preživljavanju pacijenata sa stadijumom II-III timoma, posebno posle sprovedene nekompletne resekcije. Adjuvantna RT može biti razmatrana u III i IV stadijumu (Masaoka klasifikacija) kao deo multuidisciplinarnog

pristupa, posebno u slučajevima nepotpune resekcije [134,135]. Chen i sar. u studiji od 200 bolesnika su doneli zaključak da adjuvantna RT može poboljšati preživljavanje u bolesnika sa tipom B2 i B3 timoma i timusnog karcinoma [136]. Posle postoperativne RT, očekuje se petogodišnje preživljavanje od 85%. Obzirom da bolesnici sa timomom imaju dobru dugoročnu prognozu, neophodno je maksimalno zaštititi plućni parenhim i srce prilikom primene RT [137,138]. Ukupna doza do 40-50 Gy u konvencionalnim frakcijama od 1,8 do 2,0 Gy/dan se preporučuje kod izvršene kompletne resekcije timoma. Posle nekompletne resekcije sa rezidualnim tumorom, doze su značajno veće: 60 Gy. Lokalna kontrola bolesti se održava sa 81%, tj. 74% prema jednom istraživanju, a prema drugima, kod kompletne resekcije je u rasponu od 65-85% [139,140,141].

Kada je pacijent inoperabilan ili kod nekompletne resekcije tumora, RT se savetuje u kombinaciji sa HT, u zavisnosti od stadijuma bolesti, opšteg stanja bolesnika, prisutnih komorboditeta, što uključuje multidisciplinarni pristup.

Kompleksan je HT pristup u lečenju ovih hemosenzitivnih bolesti. Osim u neoadjuvantnom i adjuvantnom režimu, HT se primenjuje kod inoperabilnih pacijenata sa diseminovanom bolešću, ili kod bolesnika čije opšte stanje ili prisutni komorboditeti ne dozvoljavaju operativni pristup, kao jedina terapijska strategija ili u kombinaciji sa primenom RT [142]. Takođe, kod pacijenata koji su inicijalno bili inoperabilni, primenom HT se može postići downstaging, te usled regresije tumora potom može pristupiti operaciji. Kunitoh i sar. su konstatovali da oko 50% inicijalno inoperabilnih timoma, posle primene CODE protokola podležu kompletnoj resekciji. U trajalu po CAP protokolu, praćeno hirurškom intervencijom uz prateću primenu RT i HT, petogodišnje vreme preživljavanja dostiže 95%[54,59,61,118,120,126,]. Osnovna korist od indukciono hemoterapije (IHT) ogleda se osim u down-staging-a tumora, u prevenciji pojava metastaza, tj. relapsa bolesti.

U postoperativnom toku, primena HT u adjuvantnom režimu sa ili bez RT, ima cilj prevencije relapsa bolesti. Hemoterapijom može da se postigne dugotrajan kompletan ili parcijalan odgovor, neke od kompletnih remisija su potvrđene potonjom operacijom, navodi se u literaturi [50,57]. Kao monoterapija, primenjivani su cisplatin i ifosfamid. Efekat cisplatina je ograničen, rezultati u kombinaciji sa glikokortikoidima su bolji, ali ipak nisu zadovoljavajući [143,144]. Ima izveštaja o boljem dejstvu monoterapije Ifosfamidom [145]. Ifosfamid primenjen kao monoterapija pokazao je stopu odgovora od

62% u 13 tretiranih bolesnika (58) i 46% u 15 tretiranih bolesnika (59%). Različite stope remisije se opisuju, od 30-100%, sa različitim kombinacijama citostatika. Najviše ima kombinacija sa platinskim derivatima (cisplatin), kao CAP protokol (ciklofosfamid, cisplatin, doxorubicin), ili ADOC protokol (ciklofosfamid, adriamicin, vinkristin, cisplatin) [146]. *Adjuvantna* terapija treba da bude primenjena tj. kreirana prema histološkom tipu timoma, kliničkom stadijumu bolesti i pre svega statusu operativnog nalaza, tj. postignutoj resektabilnosti tumora. Studija sa pacijentima koji su imali neresektabilan tumor i bili lečeni PAC protokolom, potom primenom RT, pokazala je da se postiže 5-to godišnje preživljavanje od 52%. U studiji sa 30 pacijenata koji su bili u IV stadijumu bolesti ili imali lokalno progresivnu, rekurentnu bolest, posle primenjene RT i potom PAC protokola, postignuta je stopa odgovora 50%, uključujući i u 3 slučaja potpun odgovor-complete response (CR), sa srednjim vremenom trajanja odgovora od 12 meseci i 5-to godišnjim preživljavanjem od 32%. ADOC protokol ima stopu odgovora 92%, uključujući CR u 43% i 83% stopu odgovora u drugom trajalu. U kombinaciji sa hirurškim pristupom, Rea i sar. su konstatovali odgovor na svakog 16-tog tretiranog bolesnika. Obzirom da antraciklinski preparati mogu prouzrokovati miokardiopatiju, u rizičnim grupama je poželjno birati protokole bez ovog citostatika, posebno kod bolesnika kojima sledi primena RT. VIP protokol (etoposid, ifosfamid, cisplatin) je pokazao slične, skromne rezultate [118,120].

Timomi su retki tumori, a pacijenti su vrlo heterogene grupe različitog starosnog doba, raznovrsnih komorbiditeta, paraneoplastičkih sindroma, navika (pušački status), tako da je sistematizovanje znanja i donošenje zaključaka u pogledu dijagnostike, lečenja, praćenja ovih pacijenata ne samo naš regionalni, već i globalni, svetski problem.

Većina dostupnih podataka je iz studija faze I i II, čak i iz iskustava prikazanih slučajeva singl centara. Osnovni problem je nedovoljan broj kliničkih studija faze III.

Znanja i prikupljeni podaci su objedinjeni uglavnom iz retrospektivnih multicentričnih analiza, i na taj način su ustanovljeni evropski i svetski vodiči u dijagnostikovanju i lečenju timoma, kao što su: European Society for Medical Oncology (ESMO), National Comprehensive Cancer Network (NCCN), Cancer Care Ontario program. The European society of thoracic surgeons (ESTS) thymic group, the Japanese Association for Research in Thymus (JART), ITMIG i International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) su imali značajnu ulogu u razvijanju 8-me edicije TNM klasifikacije torakalnih maligniteta (tabela 7), koja je zvanično prihvaćena i odobrena od strane Union of the international cancer control (UICC) i

American joint committee of cancer (AJCC), i globalno implementirana 2017, ali je AJCC odložio implementiranje do 2018. Nova klasifikacija TNM staging može pomoći da se utvrdi zvanična strategija resektabilnosti tumora [147].

Savremene preporuke za primenu sistemske terapije u prvoj liniji su sledeći protokoli: CAP (cisplatin, doxorubicin, cyclophosphamide), CAP sa prednisonom, ADOC (cisplatin, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristin), PE (cisplatin, etoposide), cisplatin ifosfamide etoposide, carboplatin/paclitaxel [97]. U drugoj liniji sistemske terapije se savetuju: sunitinib (samo za timusne karcinome), pemetrexed, everolimus, paclitaxel, octreotide sa ili bez prednizona, gemcitabine, 5-FU i leucovorin, etoposide, ifosfamid [148,149,150,151,152,153,154]. Prema sprovedenim istraživanjima, zaključuje se da se primena CAP protokola favorizuje kod timoma, a paclitaxel/carboplatina kod timusnih karcinoma.

Poslednjih godina došlo je do ekspanzije znanja vezano za molekularnu biologiju thymoma, što je dovelo do otkrića brojnih značajnih mutacija i razmatranja terapijskih opcija vezanih za genetiku [155,156], što se naziva personalizovanom medicinom. Takođe, jedna od revolucionarnih, savremenih terapijskih strategija, zvana checkpoint blokada, daje prve ohrabrujuće rezultate. Imunoterapija prekida blokadu imunskog odgovora koji izaziva tumor blokiranjem imunopresije korišćenjem inhibitora protiv specifičnih checkpoint receptora, i na taj način se pojačava imunski odgovor organizma na tumor čime se ubijaju maligne ćelije. Brojni su izveštaji koji potvrđuju povoljan sistemski odgovor na primenu imunoterapije [157,158]. Ukoliko brojne studije potvrde povoljno dejstvo molekularne i imunoterapije na bolesnike sa timomom, i ovi lekovi se odobre i uključe kao regularni terapijski režimi prema smernicama državnih zdravstvenih fondova, očekuje se duže preživljavanje ovih bolesnika uz poboljšanje kvaliteta života, jer se ove terapije značajno bolje podnose uz manju pojavu neželjenih toksičnih efekata.

Ciljano sekvenciranje nove generacije je korišćeno u ovoj studiji (eng. Next Generation Sequencing, NGS) u svrhu analize $1,225 \times 10^6$ bp DNK kod 35 pacijenata obolelih od timoma. Među 35 pacijenata kojima su rađena genska ispitivanja, najviše je bilo pacijenata u šestoj deceniji života, pri čemu je najmlađi pacijent bio 21 godinu star, a najstariji je imao 75 godina. Ženski pol je bio najzastupljeniji, u više od 2/3 pacijenata (68.6%). TruSeq Cancer Panel (TSACP) platforma korišćena je za detekciju somatskih

mutacija u specifičnim genomskim regionima, gde dolazi do umnožavanja 212 amplikona u 48 gena povezanih sa kancerom. Četri gena: *APC*, *ATM*, *ERBB4* i *SMAD4*, sadržala su najveći broj mutacija, više od 100 NFM varijanti, što ukazuje na potencijalnu ulogu ovih gena u patogenezi timoma. Takođe, *EGFR*, *FBXW7*, *FGFR3*, *FGFR2*, *GNAQ*, *GNA11*, *HNF1A*, *KIT*, *MET*, *PIK3CA*, *PTEN*, i *RBI* geni sadržali su veliki broj mutacija, više od 40 NFM varijanti. *TP53* i *KDR* gen sadržali su više od 90 NFM varijanti, od kojih je većina predstavljala već dobro poznate polimorfizme (rs1042522 i rs1870377). Cilj ovog rada je da se utvrde i sagledaju genske mutacija kod timoma, njihov prognostički i prediktivan značaj, radi razvoja terapijskih opcija vezanih za genetiku timoma. Opredelili smo se da detaljnije proučimo gene koji su imali najveći tj. veliki broj mutacija: *APC~186 mutacija po genu*, *ATM~124 mutacija po genu*, *ERBB4~120 mutacija po genu*, *SMAD4~116 mutacija po genu*, *TP53~113 mutacija po genu*, kao i one gene za koji postoji terapijski pristup u toraknoj onkologiji u lečenju bolesnika koji imaju mutacije u specifičnim exonima ovih gena, *EGFR*, *ALK*, *MET*, *KRAS*, zbog značaja potvrđivanja mogućnosti i benefita lečenja pacijenata sa timomom primenom molekularne terapije, tj personalizovane medicine.

Otkriće mutacija je dovelo do nove klasifikacije nesitnoćelijskog karcinoma pluća na osnovu molekularnih podtipova. Kod 60% adenokarcinoma i 50-80% skvamocelularnih karcinoma su poznate onkogene driver mutacije [159,160]. Ove mutacije u receptorima ili protein kinazama mogu da dovedu do nekontrolisanog rasta, proliferacije i izbegavanja ćelijske smrti.

EGFR (receptor za epidermalni faktor rasta) je prvi od četiri tirozin kinaznih receptora u okviru *ErbB* familije proteina (*ErbB1* ili *HER1*). Autofosforilacija *EGFR* i drugih članova familije je glavni korak u aktiviranju nekoliko puteva uključenih u ćelijsku proliferaciju. Opisana su tri glavna mehanizma koja dovode do aktivacije *EGFR*: povećana ekspresija *EGFR* na malignim ćelijama; povećana proizvodnja liganda od strane malignih ćelija; i aktivirajuće mutacije u *EGFR* unutar maligne ćelije. Iako je *EGFR* pojačano ekspresiran u 40-80% NSCLC, otkriveno je da aktivirajuće mutacije u *EGFR* predstavljaju glavnu terapijsku metu. Pokazano je da su pacijenti koji imaju pojačanu ekspresiju *EGFR* rezistentni na hemioterapiju i zračenje. Poznate *EGFR* aktivirajuće mutacije su smeštene od 18-21 egzona unutar tirozin kinaznog domena. Najčešće među njima su delecija 19 (60%) i tačkasta mutacija u egzonu 21, L858 (35%). U retke mutacije spadaju I L861Q,

G719X i S768I koje su osjetljive na EGFR TKI, ali i insercije/delecije u egzonu 20 i one obično nisu osjetljive na EGFR TKI [161]. U prvu generaciju EGFR tirozin- kinaznih inhibitora (TKI) spadaju gefitinib i erlotinib. Vezuju se mehanizmom reverzibilne kompetitivne inhibicije sa ATP-om za intracelularni domen EGFR, potom blokiraju nishodne signalne puteve koji regulišu ćelijsku proliferaciju i apoptozu. U drugu generaciju EGFR TKI spadaju afatinib, dakomitinib i neratinib, deluju tako što se ireverzibilno vezuju za EGFR, ErbB2/HER2, ErbB4/HER4. Pokazano je da inhibiraju i HER3/ErbB3 in vitro.

Iako su EGFR TKI u prvoj terapijskoj liniji kod EGFR mutiranog NSCLC veoma efikasni, do progresije bolesti dolazi najčešće u roku od 10-15 meseci zbog razvoja rezistencije. Otkriveno je nekoliko mehanizama koji dovode do razvoja rezistencije kod EGFR pozitivnih NSCLC, vrlo različitih koji impliciraju i potpuno različite specifične terapijske pristupe. Najčešći mehanizam rezistencije je mutacija T790M u egzonu 20 EGFR koja se sreće u 50-60% slučajeva. Postoje slučajevi sa tzv. primarnom rezistencijom na EGFR TKI zbog primarne mutacije T790M u egzonu 20 EGFR pored postojanja aktivirajućih EGFR mutacija. Metoda prevazilaženja stečene rezistencije je razvoj EGFR TKI treće generacije: Rociletinib (CO-1686), AZD9291 tj. Tagrisso (Osimertinib u SAD) i HM61713[162,163].

MET amplifikacija je prisutna u oko 4% adenokarcinoma pluća i razne mutacije u njegovom egzonu 14 (exon 14 skipping mutations). One se javljaju samo ako ne postoje mutacije u PIK3CA. Često je udružena sa lošijom prognozom. Predstavlja drugi najčešći uzrok stečene rezistencije na EGFR TKI. MET spada u tirozin kinaze, aktivira se svojim ligandom HGF, koji je uključen u ćelijsku proliferaciju, migraciju, invaziju i metastaziranje. Različiti inhibitori su u fazi ispitivanja. Tivatinib se vezuje za defosforilisanu MET kinazu [164].

ALK rearanžman tj. translokacija, u ALK genu se javlja u 2-7% NSCLC, odnosno 5-7% adenokarcinoma i u 1.8% skvamocelularnih karcinoma. Učestalost ALK pozitivne mutacije je čak 33% među EGFR negativnim NSCLC u par objavljenih studija. Nastaje fuzijom proteina, pojačanom ekspresijom ALK ili tačkastom mutacijom ALK sa EML4. NSCLC sa ALK mutacijom isključuju istovremeno postojanje EGFR i KRAS mutacije. Krizotinib je ALK, MET i ROS1 inhibitor, pripada ALK inhibitorima prve generacije. Krizotinib zaustavlja ćeliju u G1-S fazi i indukuje apoptozu [165]. Različiti su mehanizmi

koji dovode do rezistencije, najčešće dolazi do sekundarne mutacije u ALK domenu (29%), L1196M i G1269A su najčešće među njima. U mutacije u ALK kinaznom domenu još spadaju L1152R, 1151 T-ins, C1156Y, I1171T, F1174L, G1202R i S1206Y. Ceritinib spada u drugu generaciju ALK inhibitora. Alektinib je takođe ALK inhibitor druge generacije, koji takođe može da inhibira brojne krizotinib - rezistentne mutacije kao što su L1196M, G1269A, C1156Y i F1174L. Pokazano je da deluje i kod diseminacije u CNS jer se ne transportuje pomoću ABCB1[166].

KRAS pripada familiji GTP-aza koja sprovodi signale rasta od mnogih tirozin kinaza uključujući EGFR i MET. KRAS mutacija se međusobno isključuje sa EGFR i ALK (2, 4, 10), kao i sa BRAF, HER2 i ROS1. Najčešće se javlja u kodonima 12 ili 13, a sa manjom učestalošću i u kodonu 61 [167]. Na žalost, molekularna terapija nije dostupna za ove pacijente. MEK1/MEK2 su dve nizvodne kinaze u RAS-RAF-MEK-ERK putu i inhibicija MEK-a je jedna od strategija za blokiranje prenosa signala. Selumetinib je selektivni inhibitor MEK1/2 kinaza i preklinički podaci pokazuju da on značajno inhibira rast tumora [168,169].

Rezultati deskriptivne i analitičke statistike preživljavanja naše studije u odnosu na prisustvo mutacije u genima pokazuju da je smrtnih ishoda bilo više u grupi pacijenata koji nisu imali mutacije u genima, kod svih izuzev kod pacijenata koji su imali mutaciju u TP53 genu. Naša studija je pokazala da je aritmetička sredina (A.S.) preživljavanja bila veća u grupi pacijenata bez mutacije u 4 gena, EGFR, KRAS, ATM, ERBB4, podjednako kao i u grupi sa prisutnom mutacijom, takođe u 4 gena, MET, TP53, SMAD4, APC, a A.S. preživljavanja je bila podjednaka kod pacijenata kod kojih je potvrđena mutacija kao i kod onih kod kojih nije postojala mutacija u ALK genu. Statističkom analizom utvrđeno je da postoji značajna razlika između ispitivanih grupa u preživljavanju jedino kod pacijenata kod kojih je detektovana mutacija u SMAD4 genu. Jedina statistički značajna razlika između grupa pacijenata sa timomom određenih PH nalazom je po ALK mutaciji. Naime, procenat timomi tipa A imaju u daleko većem broju prisutnu ALK mutaciju. Ostali geni takođe pokazuju varijacije u procentima, poredeći PH grupe, ali bez značajnosti. Značajne razlike po relaps bolesti između pacijenata u odnosu na prisustvo mutacije u genu postoje kada su zastupljeni SMAD4, APC i ERBB4 geni. Regstruje se da je procenat pacijenata sa relapsom bolesti daleko veći kod pacijenata koji nemaju mutacije u SMAD4, APC i ERBB4 genima. Nije utvrđena statistički značajna razlike

između grupa pacijenata u odnosu na prisustvo mutacije u genima korelirano sa pušačkim statusom u našoj studiji.

Brojni checkpoint proteini su ispitivani kod timoma sa idejom i ciljem da se dokaže njihov prognostički i prediktivni značaj u praćenju bolesnika. Nekoliko studija se bavilo analiziranjem multiplih faktora kao elemenata koji utiču na preživljavanje ili relaps bolesti, ali je osnovni problem retkosti timomma, te je insuficijentnost ovih istraživanja najčešće nedostak kontrolne grupe i dugotrajnog praćenja bolesnika. U studiji Cui F. i sar., u seriji od 43 timoma iako multivarijantnim analizama nije dokazan EGFR kao nezavisan prognostički faktor, ipak je uočeno da kod kompletno operisanih pacijenata sa EGFR ekspresijom je statistički značajna pojava relapsa bolesti u odnosu na pacijente kod kojih nije prisutna EGFR mutacija kod timoma u II stadijumu bolesti, sugerišući da EGFR ima ulogu u patogenezi i utiče na progresiju ovih tumora. Ovakvi podaci bi pomogli da se razvije pristup standardnog testiranja bolesnika na prisustvo mutacija u svrhu praćenja bolesnika [170]. Već su sprovedeni različiti trajali bazirani na aplikaciji target terapije na EGFR receptore kod uznapredovalih timoma. Brojni trajali su pokazali povoljno dejstvo i dobar terapijski odgovor, dokazujući da ovi lekovi mogu biti uključeni u specifično lečenje timoma [171,172]. Morreira A. i saradnici u svojoj studiji zaključuju i nalaze uporište i u drugim radovima, da je nalaz mutacije u TP53 gena pokazatelj loše prognoze, jer je u njihovoj seriji pacijenata je manji procenat 5~to godišnjeg preživljavanja u grupi pacijenata sa mutacijom. Za SMAD4 postoje slični podaci kod obolelih od kolorektalnog karcinoma i karcinoma pankreasa [173,174,175]. Girard N. i autori su u svom istraživanju utvrdili postojanje somatskih RAS mutacija u 3 (7%) od ispitivanih 45 timusnih epitelijalnih tumora (TET): heterozygot G sa C substitucijom na poziciji nukleotida 35 u egzonu 1 KRAS gena, rezultujući u zameni alanina glicin amino kiselinom na poziciji 12 (G12A) kod timoma tipa B2 (jedan slučaj); heterozygot G sa T substitucijom na poziciji nukleotida 35 u egzonu 1 KRAS gena, rezultujući u zameni valina glicin amino kiselinom na poziciji 12 (G12V) kod timusnog carcinoma (jedan slučaj); I heterozygot G sa T substitucijom na poziciji nukleotida 38 u egzonu 1 HRAS gena, rezultujući u zameni valina glicin amino kiselinom na poziciji 13 (G13V) kod timoma tipa A (jedan slučaj). EGFR ekspresija je bila visoka kod KRAS i umerena kod HRAS mutiranih tumora. Nisu detektovane mutacije u EGFR kinaznom domenu niti u bilo kom drugom od testiranih signalnih puteva EGFR gena [176]. Song Z. i sar. su sprovedeli kod 52 pacijenta NGS analize.

Kod jednog pacijenta je utvrđena EGFR mutacija (E746_750de), a dva slučaja su imala PIK3CA mutaciju (obe E545Q). Kod ostalih 49 pacijenata nisu pronađene molekularne aberacije. Serpico D. i sar. su analizirali molekularne aberacije u TET i molekularni pristup u lečenju ovih bolesnika. Zaključili su da je ova tema slabo istražena, najpre zbog malog broja prekliničkih modela. Genske alteracije timoma je teško ispitivati zbog retkosti ovih tumora i velike heterogenosti među subtipovima ovih tumora. Uvid u biologiju TET dobijen je uglavnom na temelju sporadičnih slučajeva i kliničkih odgovora na primenu target terapij [177]. Neke studije su istraživale mogućnost eksploatacije dobijenih saznanja u razvijanju biološke i target terapije za TET. Ovo uključuje inhibitore stem~ćelijskih faktor receptora (SCFR/KIT/CD117), vaskularnog endotelijalnog faktora rasta (VEGF) receptor (VEGFR), epidermal growth factor receptor (EGFR), insulin-like growth factor-1 receptor (IGF1R), somatostatin (SST) receptora, histone deacetylase (HDAC), tropomyosin-related kinase A (TrkA), cyclin-dependent kinase (CDK), sarcoma protein (Src), i mammalian target of rapamycin (mTOR). U novije vreme, podaci uključuju niz-komparativnu hibridizaciju i NGS, čime su identifikovane brojne genske alteracije omogućavajući time dobijanje novih perspektiva u odnosu na molekularne aberacije koje definitivno razlučuju indolentne timome od agresivnih tipova i timusnih karcinoma. Ovo se posebno odnosi na rekurentnu GTF2I mutaciju, koja kodira TFII-I, i sa visokom učestalošću se nalazi kod indolentnih tumora i predstavlja prediktor dobre, a može biti korisna i u klasifikaciji ovih tumora [178]. Molekularni markeri BCL2 i CDKN2A mogu potencijalno imati značaj za dijagnozu i utvrđivanja prognoze TET, prekliničke studije sugerišu da deregulisana antiapoptotska BCL2 familija protein reprezentuje potencijalni pogodni target za tretman TET [41]. Rekurentne KIT mutacije su ustanovljene [179]; Međutim, njihova uloga još uvek nije definisana. Arbour K.C. i autori opisuju da je od 12 pacijenata procenjenih na *PIK3CA* mutaciju (7 NGS~om; 6 singl gen PCR sekvencioniranjem, uključujući i jednog kome je ispitivanje rađeno i NGS~om), jedan pacijent (8%) je imao *PIK3CA* mutaciju (S553T) u egzonu 9. Jedan od 13 pacijenata (8%) koji su analizirani na *EGFR* mutaciju (7 NGS~om; 8 singl gen PCR sekvencioniranjem, uključujući i dva pacijenta kojima je ispitivanje rađeno i NGS~om) imao je mutaciju T785I u egzonu 20. Rezultati pokazuju da su 12 pacijenata ispitivanih na *KRAS* mutaciju, 9 na *NRAS* mutaciju, i 9 na *BRAF* mutaciju, bili negativni, wild-type. Nijedan od 6 pacijenata ispitivanih na PTEN IHC~om nisu bili pozitivni i nijedan od 7

pacijenata ispitivanih NGS-om nisu pokazale PTEN abnormalnosti (ukupno=11 pacijenata ispitivanih na PTEN od kojih dvoje na oba načina, NGS i PTEN IHC-om). NGS analize su rađene na tumorsko tkivu kod 7 pacijenata. Jedan pacijent je imao *APC* mutaciju (E1536), *TP53* mutaciju (R282W) i *MCL1* amplifikaciju. Drugi pacijent je imao *RET* mutaciju (E768Q) i *CDKN2A/B* deleciju. *MCL1* amplifikacija je identifikovana kod trećeg pacijenta i *AKT1* mutacija (E17K) kod četvrtog. Nijedna molekularna aberacija NGS analizom nije identifikovana u ostala 3 pacijenta [180]. Avci N. i autori podsećaju da su aktivirajuće *KRAS* mutacije najčešće detektovane kod malignih bolesti uopšte (Schubbert et al., 2007) [181]. Analizom serije pacijenata u Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, *KRAS* mutacije su identifikovane kod samo 3 of 45 TET-a. Mutacije su uključivale G12A, G12V i G13V [182]. *KRAS* mutacije su ispitivane i u drugim serijama ispitanika, na primer u seriji 17 timusnih tumora, gde nijedna mutacija nije uočena [183,184,185]. Rezultati Gurrard i sar. [176] pokazuju da nijedan od 45 tumora nije imao verifikovanu EGFR mutaciju u tirozin kinaznom domenu, što je preduslov za postojanje senzitivnosti na ciljanu, target terapiju tirozin kinaznim inhibitorima (TKI: gefitinib, erlotinib, afatinib). Sledeći nalaz je postojanje dve *KIT* mutacije među 45 timusnih tumora. Jedna je bila V560 delecija u egzonu 11, a druga H697Y mutacija u egzonu 14. Za razliku od RAS mutacija, *KIT* mutacije su detektovane samo kod timusnih carcinoma. Prethodno, od 106 timusnih tumora koji su kolektivno testirani, samo su 3 *KIT* mutacije ustanovljene, i sve one su takođe pronađene kod timusnih carcinoma. Ove mutacije su udružene sa senzitivnošću na *KIT* inhibitore. Utvrdili su testovima in vitro da u pacijenti koji imaju pomenutu mutaciju osetljivi na terapiju imatinibom i sunitinibom, a ova mutacija je takođe pronađena kod imatinib senzitivnog GIST-a [186]. Druga *KIT*-mutacija timusnog carcinoma prezentovana u literaturi je L576P mutacija u egzonu 11, takođe prethodno opisana kod GIST-a i melanoma, osetljiva na imatinib [187]. Treća opisana mutacija je D820E u egzonu 17, kod timusnog carcinoma, osetljiva na sorafenib [188]. D820Y *KIT* mutacija je povezana sa rezistencijom na imatinib, osetljiva na sorafenib kod GIST-a [189]. Konačno, poznata je i *KIT* H697Y mutacija, identifikovana u egzonu, koja je senzitivna na sunitinib vs. imatinib. Takođe, ispitivanjem u ovoj studiji, nisu utvrđene TP53 mutacije kod timusnih carcinoma.

Prema tome, ekspresija i genomsko grupisanje tumora timusa dokazuje da podela ovih tumora prema SZO klasifikaciji pokazuje i posebno molekularno ispoljavanje koje odvaja

timusne karcinome i B3 timome od A, B1 i B2 timoma, a konstatuje se i da B2 timomi imaju prevashodno biološki aktivne limfocite, što ih odvaja od ostalih timusnih tumora koji su prevashodno epitelijalni. Takođe, molekularna komparacija timusnih carcinoma i skvamoznih carcinoma pluća pokazuje da su i ova dva entiteta različita. Kelly R. i autori [190] tvrde da su *EGFR* mutacije ekstremno retke kod timusnih maligniteta, izuzev retkih slučajeva u Azijskoj populaciji. *EGFR* gen amplifikacija se javlja aproksimativno u 20% timoma, utvrđeno metodom fluorescentne hibridizacije in situ, posebno kod tipa B3, timusnih carcinoma (TC), i povezan najčešće sa uznapredovalim stadijumom i invazijom kapsule. Imunohistohemijski (IHH) je utvrđena u 46 do 85% timoma mutacija u egzonu 18. Ipak, nije utvrđena jasna konekcija sa kliničkopatološkim karakteristikama timoma. Studija faze II proučavala je delovanje kombinacije erlotiniba i bevacizumaba u 18 hemonaivnih pacijenata (11; 7) kod uznapredovalih TET. Režim doziranja sproveden je na sledeći način: Erlotinib 150 mg ordiniran je jednom dnevno i bevacizumab 15 mg/kg i.v. na svake tri nedelje (21 dan) [191]. Rezultati su pokazali da je 11 pacijenata imalo SD odgovor, 7 progresiju bolesti (PD). Medijana preživljavanja nije objavljena, ali imponuje da pomenuta kombinacija lekova ima limitirano delovanje. *Ras mutacija* je detektovana kod 3 od 63 timusnih tumora koji su analizirani: jedan TC (*KRAS* mutacija, G12V), jedan tip B2 thymoma (*KRAS* mutacija, G12A), i jedan timom A tipa (*HRAS*, G13V), ali ni jedan slučaj sa *HER2* gen amplifikacijom metodom amplifikacije fluorescentne hibridizacije in situ nije detektovan, i za autore ovih istraživanja, rezultati su bili razočaravajući, tj nisu našli dovoljan dokaz u datom momentu da je opravdana primena molekularne terapije u ovih pacijenata. Rezultati Suzuki E. i saradnika [192] se podudaraju sa analizom prethodnih autora u konstataciji da je *EGFR* ekspresija, potvrđena IHH analizama, veća u pacijenata sa uznapredovalim stadijumom bolesti, III i IV, kao i studijama Girrard N, Zucali PA, Tsuta K. [193,194,195]. Rezultati opisanih studija, gde je *EGFR* ekspresija konstatovana u 20-70% timoma i 50-100% timusnih carcinoma, je u diskrepanci sa velikom potvrđenom pozitivnošću rezultata na *EGFR* analizu u studiji Mimmae T. [196]. Ispitivanjem 140 bolesnika, otkrivena je ekspresija u 90% timoma i 94% TC. Moguć razlog za ove oprečne rezultate je u korišćenju različitih antitela u ispitivanjima, a drugi razlozi su drugačije populacije bolesnika i različit broj ispitanika u studijama. Rezultati pomenute studije pokazuju da je najveći broj bolesnika sa pozitivnom *EGFR* mutacijom bio u nižem stadijumu bolesti. Naši rezultati se

podudaraju sa pomenutom analizom. U našoj studiji, mutaciju u EGFR genu je imalo 2/5 pacijenata, sa najzastupljenijim mutacijama u exonima 18 i 21. Mutacije su detektovane najviše u žena (u 3/5 slučajeva), i najviše u nižem stadijumu bolesti (I i II stadijum, u 80% slučajeva). Najviše zastupljenih mutacija je bilo kod pacijenata sa tipom B timoma, kod 3/5 pacijenata, a potom u pacijenata sa timomom AB, u nešto manje od 1/3 slučajeva. Takođe, uočen je veliki broj prisutnih mutacija u ispitivanim genima kod pacijenata sa timomima u našoj populaciji. Među 35 pacijenata, 15 pacijenata su bili EGFR pozitivni, 22 MET pozitivnih, 7 ALK, 14 KRAS, 24 pozitivnih TP53, 26 SMAD4, 26 APC, 10 ATM i 23 ERBB4 pozitivnih pacijenata. Rezultati su ohrabrujući i ukazuju na potrebu da se razmotri uvođenje obaveznog testiranja pacijenata sa timomom na genske mutacije u našoj populaciji, sa ciljem da se ispita uticaj primene tirozin kinaznih inhibitora kao moguće opcije personalizovanog lečenja u ovih bolesnika. Nakagiri T. [197] zaključuje da nema dovoljno naučnih dokaza o efikasnosti TKI kod bolesnika sa timom obzirom da su ovo retki tumori, pri čemu su i EGFR mutacije prisutne u malog broja bolesnika. Kod 10% bolesnika u Japanu je detektovana ova mutacija, navode Yoh i autori, i smatraju da bolesnici mogu imati koristi od ove vrste molekularne terapije [198].

Retrospektivna priroda naše studije je jedan od faktora koji su uticali na rezultate naših analiza. U cilju donošenja značajnih zaključaka koji bi poboljšali tretman pacijenata sa timomom, neophodno je sprovesti studiju u zemljama regiona, na Balkanu i šire, u zemljama Jugoistočne Evrope, kao multicentričnu studiju i u kooperaciji sa državama širom sveta, kako bi se objedinila saznanja i nalazi. Takođe, budući projekti bi trebalo da intenziviraju genomska istraživanja sa formiranjem baze podataka pacijenata sa timomom.

6. ZAKLJUČCI

1. U studiju su bile uključene 34 (54,8%) žene i 28 (45,2%) muškaraca, u odnosu 1.2:1, sa prosečnom starosnom dobi $55,7 \pm 13,0$ godina (u rasponu od 21 do 75 godina).
2. Najveći broj pacijenata je bio u sedmoj deceniji života, 20 (32,3%), a slede ih po brojnosti pacijenti u šestoj deceniji, 17 (27,4%).
3. Klinička prezentacija timoma je bila raznovrsna.
4. Gotovo trećina pacijenata je bila asimptomatska.
5. Dominantan je bio kašalj, u više od $1/3$ pacijenata, potom praćen malaksalošću i bolom u grudnom košu, podjednako u po 35,5% pacijenata.
6. Polineuropatija kao paraneoplastički sindrom je bio prisutan kod samo jednog pacijenta, dok je mijasthenia gravis bila zastupljena u oko 10% pacijenata, od kojih je više bilo ženskog pola u oko $3/5$ slučajeva.
7. Dužina trajanja simptoma do postavljanja dijagnoze je varirala od mesec dana do preko godinu dana. Kod oko polovine pacijenata simptomi su trajali oko 6 meseci, dok su mesec i više od godinu dana trajali kod približno istog broja pacijenata, kod oko $1/4$ pacijenata.
8. Komorbiditet je registrovan u gotovo polovine pacijenata, uglavnom u žena (70%). Najčešća je bila arterijska hipertenzija kod $2/5$ pacijenata. Ostale bolesti (struma tiroidne žlezde, bronhiektazije, angina pectoris i srčane aritmije) su bile ređe zastupljene ili u pojedinačnim slučajevima (degenerativne bolesti kičmenog stuba i hronični alkoholizam).
9. Sekundarni maligniteti su konstatovani u nešto više od $1/10$ pacijenta, i svi su prethodno lečeni radikalnim operativnim pristupima, bez rest/recidiva tumora na redovnim kontrolama.
10. Paraneoplastički sindrom je konstatovan kod oko $1/7$ pacijenata, od kojih je najzastupljenije bilo prisustvo miastenije gravis u oko $9/10$ pacijenata, a jedan pacijent je imao polineuropatiju.
11. Solitarna promena je bila najčešći radiografski nalaz kod naših pacijenata, u oko $3/5$ slučajeva, i svi su bili lokalizovani u prednjem medijastinumu, dok su atipične prezentacije i metastatski procesi bili ređe zastupljeni.

12. Masivni tumori, veći od 5 cm, verifikovano radiografskim nalazima i/ili pri operaciji, su bili najzastupljeniji, u 3/5 pacijenata.
13. Neinvazivni timomi su bili najčešći, u nešto više od polovine pacijenata.
14. Većina pacijenata je bila u I stadijumu bolesti, u gotovo polovine slučajeva.
15. Patohistološke analize (PH) pokazuju da je B1 tip bio najčešći, u 1/3 pacijenata, koji je po učestalosti praćen tipom A i AB, i koji su podjednako bili zastupljeni, u po 1/4 slučajeva, potom B3 i B2 tip.
16. Dijagnoza sa PH verifikacijom procesa je u najvećem broju slučajeva postavljena tokom samog operativnog pristupa, u oko 9/10 slučajeva, a kod ostalih pacijenata dijagnoza je postavljena korišćenjem invazivnih dijagnostičkih procedura i to perkutanom biopsijom tumorske promene /fine needle aspiration biopsy (FNAB)/ kod svih pacijenata osim kod jednog kome je urađena medijastinotomija sa biopsijom tumora.
17. Većina pacijenata je operisana (9/10). Radikalna operacija (RO) je sprovedena u značajno većem broju slučajeva u odnosu na inkompletnu, parcijalnu resekciju (palijativna operacija), u 9/10 pacijenata.
18. Terapijski modaliteti koji su bili primenjeni kod neoperisanih bolesnika podrazumevali su primenu hemioterapije (HT), radioterapije (RT) i suportivne terapije (Best supportive care ~ BSC), podjednako zastupljeno u po dva pacijenta (3,2%), izuzev BSC koja je primenjena u 3 pacijenta (4,8%).
19. Smrtni ishod je konstatovan kod 2/5 pacijenata, od kojih je 1/10 umrla u prvoj nedelji nakon sprovedene operacije zbog posledica komplikacije sprovedene operacije.
20. Medijana ukupnog preživljavanja u pacijenata sa timomom bila je 204 meseci.
21. 1-, 2-, 5- i 10-to godišnje stope preživljavanja bile su 85,2, 75,3, 69,9 i 62,8%, istim redosledom, a 1- i 10-to godišnje preživljavanje je bilo najbolje kod pacijenata u I stadijumu bolesti, sa AB patohistološkim tipom, praćen odmah potom i tipom A po učestalosti.
22. Kod pacijenata koji su operisani, 1-, 5- i 10-to godišnje stope preživljavanja bile su 85,5, 75,7 i 67,8%, a kod onih koji nisu bili operisani, 1- no godišnje preživljavanje bilo je u 83% slučajeva, sa 10-to godišnjim preživljavanjem konstatovanim kod jednog pacijenta (12,5%).

23. Statistički značajno duže preživljavanje je uočeno kod žena, 240 meseci, u poređenju sa muškarcima.
24. Nije dokazana statistički značajna razlika u preživljavanju u odnosu na starosnu dob, ali se duže preživljavanje uočava kod pacijenata mlađih od 55 godina.
25. Statistički značajno, više od dvostruko dužeg preživljavanja je uočeno kod žena.
26. Nije uočena statistički značajna razlika u preživljavanju kod pušača u odnosu na nepušače.
27. Prisustvo mijastenije gravis (MG) nije imalo statističkog značaja u preživljavanju, ali pacijenti bez MG su imali bolje preživljavanje u odnosu na one koji su imali MG.
28. Pacijenti koji su imali solitarni tumor u grudnom košu su živeli duže u odnosu na pacijente koji su imali atipičnu radiografsku prezentaciju timoma, a takođe i u odnosu na one koji su imali metastatsku bolest.
29. Blizu konvencionalnog nivoa statističke značajnosti u preživljavanju su imali pacijenti koji nisu imali masivnu tumorsku promenu, tj promena manja od 5 cm.
30. Pacijenti sa neinvazivnim timomom su imali statistički značajno bolje preživljavanje u odnosu na one koji su imali invaziju u masno tkivo ili metastatsku bolest.
31. Najduže preživljavanje su imali pacijenti u I stadijumu bolesti, poređenjem sa bolesnicima u II, III i IV stadijumu bolesti.
32. Nije bilo statistički značajne razlike u preživljavanju u odnosu na patohistološki tip timoma, mada je duže preživljavanje registrovano kod pacijenata sa timomom tip B.
33. Statistički značajna razlika u preživljavanju je bila kod pacijenata koji su bili operisani, ali nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na to da li je operacija bila radikalna ili palijativna, međutim, uočava se da je preživljavanje duže kod radikalno operisanih pacijenata.
34. Među radikalno operisanim pacijentima relaps bolesti je imalo 16,0% pacijenata. Samo jedna pacijentkinja, kojoj je relaps bolesti konstatovan

nakon godinu dana, je živa. Kod ostalih pacijenata, relaps bolesti je evidentiran nakon 6 meseci kod polovine slučajeva, dvoje od njih su bili u III stadijumu, oboje tip B1, svi su bili pušači osim jednog pacijenta, sa 1-no godišnjom preživljavanjem uprkos sprovedenog lečenja primenom HT i RT nakon relapsa bolesti. Jedan pacijent je imao relaps bolesti nakon godinu dana, pušač sa preoperativnim II stadijumom bolesti B3 timoma. Kod dva pacijenta, relaps bolesti je nastupio posle 5 godina, jedan pacijent je bio pušač, sa preoperativnim III stadijumom B3 timoma, i 10-to godišnjim preživljavanjem, a drugi pacijent nepušač, inicijalno u II stadijumu timoma A tipa, nepušač sa 5-to godišnjim preživljavanjem.

35. Prediktivni faktori dužeg preživljavanja kod bolesnika sa timomom u našoj studiji su ženski pol, mlađa životna dob, rani stadijum bolesti, neinvazivni timomi i operativni pristup u lečenju. Veličina tumorske promene (mase) je blizu konvencionalnog nivoa značajnosti.
36. Korišćeno je ciljano sekvenciranje nove generacije (eng. Next Generation Sequencing, NGS) u svrhu analize $1,225 \times 10^6$ bp DNK kod 35 pacijenata obolelih od timoma.
37. Najviše je bilo pacijenata u šestoj deceniji života kod pacijenata kod kojih je sprovedeno gensko testiranje. Najmlađi pacijent je bio 21, a najstariji 75 godina star.
38. Ženski pol je bio najzastupljeniji, u više od 2/3 pacijenata kod pacijenata sa ispitivanjem na genske mutacije.
39. Prilikom dalje analize u obzir su uzimane samo varijante koje potencijalno mogu izazvati promene u strukturi i funkciji proteina, tzv. „protein-changing“ varijante – mutacije. Ove mutacije uključuju nonsense (N), frameshift (F), i missense (M) mutacije, (NFM).
40. U ovoj grupi pacijenata identifikovali smo 1963 varijante koje potencijalno mogu izazvati promene u strukturi i funkciji proteina.
41. Najveći broj varijanti imalo je osam pacijenata, koji su sadržali više od 100 NFM varijanti. Kod polovine ovih pacijenata bio je zastupljen PH tip B timom, međutim razmatrajući i podtipove, gotovo podjednaka je bila

zastupljenost svih tipova timoma, po dva pacijenta tip A, AB, B1 i B3, a samo timo tip B2 nije bio prisutan među ovim pacijentima.

42. Četri gena: *APC*, *ATM*, *ERBB4* i *SMAD4*, sadržala su najveći broj mutacija, više od 100 NFM varijanti. *EGFR*, *FBXW7*, *FGFR3*, *FGFR2*, *GNAQ*, *GNA11*, *HNF1A*, *KIT*, *MET*, *PIK3CA*, *PTEN*, I *RBI* geni sadržali su veliki broj mutacija, više od 40 NFM varijanti. *TP53* I *KDR* gen sadržali su više od 90 NFM varijanti, od kojih je većina predstavljala već dobro poznate polimorfizme (rs1042522 i rs1870377). S druge strane, neki od gena sadržanih na TSACP platformi, kao što su *FGFR1*, *MPL*, *NPM*, I *SRC*gen, imali su manje od 5 NFM varijanti.
43. Varijante koje potencijalno mogu izazvati promene u strukturi i funkciji proteina u *SMAD4*, *APC*, *ATM*, *PTEN*, *KDR* i *TP53* genima bile su prisutne kod više od 70% analiziranih uzoraka. Otkriveno 168 rekurentnih varijanti, koje su bile prisutne kod najmanje dva uzorka u analiziranoj kohorti pacijenata, od kojih je 25 varijanti uvodilo stop kodon, 9 varijanti se nalazilo u okviru čitanja, a 134 su bile varijante tipa zamene.
44. Mutaciju u *EGFR* genu je imalo 2/5 pacijenata, sa najzastupljenijim mutacijama u exonima 18 i 21. Mutacije su detektovane najviše u žena (u 3/5 slučajeva), i najviše nižem stadijumu bolesti (I i II stadijum, u 80% slučajeva). Najviše zastupljenih mutacija je bilo kod pacijenata sa tipom B timoma, kod 3/5 pacijenata, a potom u pacijenata sa timomom AB, u nešto manje od 1/3 slučajeva.
45. Smrtnih ishoda bilo više u grupi pacijenata koji nisu imali mutacije u genima, izuzev kod onih pacijenata koji su imali mutaciju u *TP53* genu.
46. Aritmetička sredina (A.S.) preživljavanja je bila veća u grupi pacijenata bez mutacije u 4 gena (*EGFR*, *KRAS*, *ATM*, *ERBB4*), kao i u grupi sa prisutnom mutacijom, takođe u 4 gena (*MET*, *TP53*, *SMAD4*, *APC*), a A.S. preživljavanja je bila podjednaka kod pacijenata kod kojih je potvrđena mutacija kao i kod onih kod kojih nije postojala mutacija u *ALK* genu.
47. Statistički značajna razlika između ispitivanih grupa u preživljavanju utvrđena je jedino kod pacijenata kod kojih je detektovana mutacija u *SMAD4* genu.

48. Jedina statistički značajna razlika između grupa pacijenata sa timomom određenih PH nalazom je po ALK mutaciji. Procenat timomi tipa A imaju u daleko većem broju prisutnu ALK mutaciju. Ostali geni takođe pokazuju varijacije u procentima, poredeći PH grupe, ali bez značajnosti.
49. Značajne razlike po relaps bolesti između pacijenata u odnosu na prisustvo mutacije u genu postoje kada su zastupljeni SMAD4, APC i ERBB4 geni. Registruje se da je procenat pacijenata sa relapsom bolesti daleko veći kod pacijenata koji nemaju mutacije u SMAD4, APC i ERBB4 genima.
50. Nema statistički značajne razlike između grupa pacijenata u odnosu na prisustvo mutacije u genima korelirano sa pušačkim statusom.
51. Uticaj genskih mutacija na patogenezu bolesti, preživljavanje i pojavu relapsa, treba da budu predmet daljih istraživanja.
52. Rana detekcija/dijagnostikovanje bolesti sa pravovremeno sprovedenim adekvatnim lečenjem, produžiće vreme preživljavanja ovih bolesnika i predupređiti ili produžiti vreme do relapsa bolesti, povećaće broj izlečenih bolesnika.
53. Da bi se izveli značajni zaključci koji bi doprineli boljem shvatanju bolesti i dali doprinos daljem lečenju obolelih, obzirom na retkost bolesti, potrebno je da se ispitivanje u zemljama regiona, tj Balkana i šire, Južne Evrope, sprovede kao multicentrična studija, i na taj način saznanja objedine.

7. LITERATURA

1. Jaković R. Anatomija i kliničko radiološka podela medijastinuma. U: Jaković R: Tumori pluća-dijagnostika i hiruško lečenje, Jugoslovenska knjiga, Beograd, 2000. p:541-6.
2. Jaković R. Primarne ciste i tumori medijastinuma. U: Jaković R: Tumori pluća-dijagnostika i hiruško lečenje, Jugoslovenska knjiga, Beograd, 2000. p:569-93.
3. Jovanović D. Tumori medijastinuma. U: Sekulić S. Plućne bolesti, Elit Medica, Beograd 2000. p:605-10.
4. Lavini C. The thymus from Antiquity to the present day: the history of a mysterious gland. In: Lavini C, Moran CA, Morandi U, Schoenhuber R: Thymus Gland Pathology: Clinical, Diagnostic and Therapeutic Features, Springer-Verlag, Italia, Milan 2008.p:13-9
5. Palumbo C. Embriology and anatomy of the thymus gland. In: Lavini C, Moran CA, Morandi U, Schoenhuber R: Thymus Gland Pathology: Clinical, Diagnostic and Therapeutic Features, Springer-Verlag, Italia, Milan 2008. p:1-13.
6. Anastasijadis K, Ratnatunga C. Physiology. In: Anastasijadis K. Ratnatunga C. The Thymus gland Diagnosis and surgical management, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2007. p:13-7.
7. Eng TY, Fuller CD, Jagirdar J, Bains Y, Thomas CR Jr. Thymic carcinoma: state of the art review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004; 59 (3):654-64.
8. Girard N. Thymic epithelial tumours: from basic principles to individualised treatment strategies. *Eur Respir Rev.* 2013;22:75-87.
9. Lavrnić D. Stečena autoimuna mijastenija gravis i lambert-eatonov mijastenični sindrom. U: Jaković R: Tumori pluća-dijagnostika i hiruško lečenje, Jugoslovenska knjiga, Beograd, 2000. p:557-63.
10. Masaoka A, Hashimoto T, Shibata K, Yamakawa Y, Nakamae K, Iizuka M. Thymomas associated with pure red cell aplasia. Histologic and follow-up studies. *Cancer.* 1989; 64:1872-8.
11. Chen J, Yang Y, Zhu D, Chen G, Wei S, Qiu X et al. Thymoma with pure red cell aplasia and Good's syndrome. *Ann Thorac Surg.* 2011;91:1620-2.

12. Inoue Y, True LD, Martins RG. Thymic carcinoma associated with paraneoplastic polymyositis. *J Clin Oncol.* 2009;27:e33-4.
13. Azuma Y, Shiga K, Ishii R, Yamaguchi T, Niwa F, Nakagawa M. Polymyositis with atypical pathological features associated with thymic carcinoma. *Intern Med.* 2009;48:163-8.
14. Moersch EP, Woltman HW. Progressive fluctuating muscular rigidity and spasms (“stiff-man” syndrome): report of a case and some observations in 13 other cases. *Mayo Clin Proc.* 1956;31:421-7.
15. Good RA. Agammaglobulinemia-a provocative experiment of nature. *Bull Univ Minn Hosp Minn Med Found.* 1954;26:1-19.
16. Verley JM, Hollmann KH. Thymoma. A comparative study of clinical stages, histologic features, and survival in 200 cases. *Cancer.* 1985;55:1074-86.
17. Tsuchiya M, Hibi T, Watanabe M, Ohara M, Ogata H, Iwao Y et al. Thymectomy in ulcerative colitis: a report of cases over 13-year period. *Thymus.* 1991;17:67-73.
18. Okubo K, Kondo N, Okamoto T, Isobe J, Ueno Y. Excision of an invasive thymoma: a cure for ulcerative colitis? *Ann Thorac Surg.* 2001;71:2013–5.
19. McManus KG, Allen MS, Trastek VF, Deschamps C, Crotty TB, Pairolero PC. Lipothymoma with red cell aplasia, hypogammaglobulinemia, and lichen planus. *Ann Thorac Surg.* 1994;58:1534-6.
20. Souadjian JV, Enriquez P, Silverstein MN, Pépin JM. The spectrum of diseases associated with thymoma. Coincidence or syndrome? *Arch Intern Med.* 1974;134:374-9.
21. Benveniste MF, Rosado-de-Christenson ML, Sabloff BS, Moran CA, Swisher SG, Marom EM. Role of imaging in the diagnosis, staging, and treatment of thymoma. *Radiographics.* 2011;31:1847-61.
22. Tomiyama N, Johkoh T, Mihara N, Honda O, Kozuka T, Koyama M et al. Using the World Health Organization Classification of thymic epithelial neoplasms to describe CT findings. *Am J Roentgenol.* 2002; 179:881-6.
23. Sakai S, Murayama S, Soeda H, Matsuo Y, Ono M, Masuda K. Differential diagnosis between thymoma and non-thymoma by dynamic MR imaging. *Acta Radiol.* 2002; 43:262-8.

24. Sakai F, Sone S, Kiyono K, Kawai T, Maruyama A, Ueda H et al. MR imaging of thymoma: radiologic-pathologic correlation. *Am J Roentgenol.* 1992; 158:751-6.
25. Sasaki M, Kuwabara Y, Ichiya Y, Akashi Y, Yoshida T, Nakagawa M et al. Differential diagnosis of thymic tumors using a combination of ¹¹C-methionine PET and FDG PET. *J Nucl Med.* 1999; 40:1595-601.
26. Kubota K, Yamada S, Kondo T, Yamada K, Fukuda H, Fujiwara T et al. PET imaging of primary mediastinal tumours. *Br J Cancer.* 1996; 73:882-6.
27. Alexiev BA, Drachenberg CB, Burke AP. Thymomas: a cytological and immunohistochemical study, with emphasis on lymphoid and neuroendocrine markers. *Diagn Pathol.* 2007;2:13.
28. Weissferdt A, Moran CA. Thymic carcinoma, part 1: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 65 cases. *Am J Clin Pathol.* 2012;138:103–14.
29. Nakagawa K, Matsuno Y, Kunitoh H, Maeshima A, Asamura H, Tsuchiya R. Immunohistochemical KIT (CD117) expression in thymic epithelial tumors. *Chest.* 2005;128:140–4.
30. Buckley C, Douek D, Newsom-Davis J, Vincent A, Willcox N. Mature, long-lived CD4+ and CD8+ T cells are generated by the thymoma in myasthenia gravis. *Ann Neurol* 2001;50:64–72.
31. Cimpean AM, Raica M, Encica S, Cornea R, Bocan V. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor A (VEGF), and its receptors (VEGFR1, 2) in normal and pathologic conditions of the human thymus. *Ann Anat.* 2008;190:238-45.
32. Müller-Hermelink HK, Engel P, Kuo TT, Ströbel P, Marx A, Harris NL, et al. Tumours of the thymus: introduction. In: Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC, editors. *Pathology and genetics: tumours of the lung, pleura, thymus, and heart.* Lyon: IARC Press; 2004. pp. 148–51.
33. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Math M, Larkin J, Endesfelder D et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med.* 2012; 366:883-92.
34. Marx A, Rieker R, Toker A, Länger F, Ströbel P. Thymic carcinoma: is it a separate entity? From molecular to clinical evidence. *Thorac Surg Clin.* 2011;21:25–31.

35. Shinohara S, Hanagiri T, So T, Yasuda M, Takenaka M, Nagata Y et al. Results of surgical resection for patients with thymoma according to World Health Organization histology and Masaoka staging. *Asian J Surg*. 2012;35:144–8.
36. Jaretzki A, Steinglass KM, Sonett JR. Thymectomy in the management of myasthenia gravis. *Semin Neurol*. 2004;24:49–62.
37. Marchevsky A, Marx A, Strobel P, Suster S, Venuta F, Marino M et al. Policies and reporting guidelines for small biopsy specimens of mediastinal masses. *J Thorac Oncol*. 2011;6 (7 Suppl 3):S1724–9.
38. Wakely PE Jr. Fine needle aspiration in the diagnosis of thymic epithelial neoplasms. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2008;22:433–42.
39. Marchevsky AM, Gupta R, McKenna RJ, Wick M, Moran C, Zakowski MF et al. Evidence-based pathology and the pathologic evaluation of thymomas: the World Health Organization classification can be simplified into only 3 categories other than thymic carcinoma. *Cancer*. 2008;112:2780–8.
40. Masaoka A, Monden Y, Nakahara K, Tanioka T. Follow-up study of thymomas with special reference to their clinical stages. *Cancer*. 1981;48 (11):2485-92.
41. Koga K, Matsuno Y, Noguchi M, Mukai K, Asamura H, Goya T et al. A review of 79 thymomas: modification of staging system and reappraisal of conventional division into invasive and non-invasive thymoma. *Pathol Int*. 1994;44 (5):359-67.
42. Okumura M. The World Health Organization histologic classification system reflects the oncologic behavior of thymoma. *Cancer*. 2002;94:581–3.
43. Nakagawa K, Asamura H, Matsuno Y, Suzuki K, Kondo H, Maeshima A et al. Thymoma: a clinicopathologic study based on the new World Health Organization classification. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;126:1134–40.
44. Girard N, Ruffini E, Marx A, Faivre-Finn C, Peters S, ESMO Guidelines Committee. Thymic epithelial tumours: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015;26 (Suppl 5):v40-55.
45. Gripp S, Hilgers K, Wurm R, Schmitt G. Thymoma: prognostic factors and treatment outcomes. *Cancer*. 1998; 83:1495-503.
46. Kondo K, Yoshizawa K, Tsuyuguchi M. WHO histologic classification is a prognostic indicator in thymoma. *Ann Thorac Surg*. 2004;77:1183-8.

47. Chen G, Marx A, Chen WH, Yong J, Puppe B, Stroebel P et al. New WHO histologic classification predicts prognosis of thymic epithelial tumors: a clinicopathologic study of 200 thymoma cases from China. *Cancer*. 2002;95:420–9.
48. Thomas CR, Wright CD, Loehrer PJ. Thymoma: state of the art. *J Clin Oncol* 1999; 17:2280-9.
49. Regnard JF, Magdeleinat P, Dromer C, Dulmet E, de Montpreville V, Levi JF et al. Prognostic factors and long-term results after thymoma resection: a series of 307 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996;112:376-84.
50. Singhal S, Shrager JB, Rosenthal DI, LiVolsi VA, Kaiser LR. Comparison of stages I-II thymoma treated by complete resection with or without adjuvant radiation. *Ann Thorac Surg*. 2003; 76:1635-41.
51. Okumura M, Shiono H, Inoue M, Tanaka H, Yoon HE, Nakagawa K et al. Outcome of surgical treatment for recurrent thymic epithelial tumors with reference to world health organization histologic classification system. *J Surg Oncol*. 2007; 95:40-4.
52. Lucchi M, Davini F, Ricciardi R, Duranti L, Boldrini L, Palmiero G et al. Management of pleural recurrence after curative resection of thymoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 137:1185-9.
53. Gomez D, Komaki R, Yu J, Ikushima H, Bezjak A. Radiation therapy definitions and reporting guidelines for thymic malignancies. *J Thorac Oncol*. 2011; 6:S1743-8.
54. Kim ES, Putnam JB, Komaki R, Walsh GL, Ro JY, Shin HJ et al. Phase II study of a multidisciplinary approach with induction chemotherapy, followed by surgical resection, radiation therapy, and consolidation chemotherapy for unresectable malignant thymomas: final report. *Lung Cancer*. 2004; 44:369-79.
55. Ogawa K, Uno T, Toita T, Onishi H, Yoshida H, Kakinohana Y et al. Postoperative radiotherapy for patients with completely resected thymoma: a multi-institutional, retrospective review of 103 patients. *Cancer*. 2002; 94:1405-13.

56. Huang J, Rizk NP, Travis WD, Seshan VE, Bains MS, Dycoco J et al. Feasibility of multimodality therapy including extended resections in stage IVA thymoma. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007; 134:1477-83.
57. Koppitz H, Rockstroh JK, Schüller H, Standop J, Skowasch D, Müller-Hermelink HK et al. State-of-the-art classification and multimodality treatment of malignant thymoma. *Cancer Treat Rev.* 2012;38:540-8.
58. Cameron RB, Loehrer PJ, Thomas CR Jr. Neoplasms of the mediastinum. In: *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, Devita VJ, Hellman S, Rosenberg S (Eds), Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia 2001.
59. Wright CD, Choi NC, Wain JC, Mathisen DJ, Lynch TJ, Fidias P. Induction chemoradiotherapy followed by resection for locally advanced Masaoka stage III and IVA thymic tumors. *Ann Thorac Surg.* 2008; 85:385-9.
60. Lucchi M, Melfi F, Dini P, Basolo F, Viti A, Givigliano F et al. Neoadjuvant chemotherapy for stage III and IVA thymomas: a single-institution experience with a long follow-up. *J Thorac Oncol.* 2006; 1:308-13.
61. Loehrer PJ Sr, Chen M, Kim K, Aisner SC, Einhorn LH, Livingston R et al. Cisplatin, doxorubicin, and cyclophosphamide plus thoracic radiation therapy for limited-stage unresectable thymoma: an intergroup trial. *J Clin Oncol.* 1997; 15:3093-9.
62. Loehrer PJ Sr, Kim K, Aisner SC, Livingston R, Einhorn LH, Johnson D et al. Cisplatin plus doxorubicin plus cyclophosphamide in metastatic or recurrent thymoma: final results of an intergroup trial. The Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and Southeastern Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 1994; 12:1164-8.
63. Marino M, Lattanzio R, Lauriola L. Expression of angiogenesis-related biomarkers in thymic epithelial tumors. *J Thorac Oncol.* 2010;5:169–70.
64. Steele NL, Plumb JA, Vidal L, Tjørnelund J, Knoblauch P, Rasmussen A et al. A phase 1 pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the histone deacetylase inhibitor belinostat in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2008;14:804–10.

65. Giaccone G, Rajan A, Berman A, Kelly RJ, Szabo E, Lopez-Chavez A et al. Phase II study of belinostat in patients with recurrent or refractory advanced thymic epithelial tumors. *J Clin Oncol.* 2011;29:2052-9.
66. Breinig M, Mayer P, Harjung A, Goeppert B, Malz M, Penzel R et al. Heat shock Protein 90-sheltered overexpression of insulin-like growth factor 1 receptor contributes to malignancy of thymic epithelial tumors. *Clin Cancer Res.* 2011;17:2237-49.
67. Rajan A, Berman AW, Kelly RJ, Lopez-Chavez A, Dechowdhury R, Chen H et al. Phase II study of the insulin-like growth factor-1 receptor antibody cixutumumab in patients with thymoma and thymic carcinoma. *J Clin Oncol.* 2010;28 (suppl):e17525.
68. Nelson Jr RP, Pascuzzi RM, Kessler K, Walsh LE, Faught PP, Ramanuja S et al. Rituximab for the treatment of thymoma-associated and de novo myasthenia gravis: 3 cases and review. *J Clin Neuromuscul Dis.* 2009;10:170-7.
69. Tomaszek S, Wigle DA, Keshavjee S, Fischer S. Thymomas: review of current clinical practice. *Ann Thorac Surg.* 2009;87:1973-80.
70. Di Crescenzo VG, Napolitano F, Panico C, Di Crescenzo RM, Zeppa P, Vatrella A et al. Surgical approach in thymectomy: Our experience and review of the literature. *Int J Surg Case Rep.* 2017;39:19-24.
71. McLaren W, Gil L, Hunt SE, Riat HS, Ritchie GR, Thormann A et al. The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol.* 2016;17:122.
72. Robinson JT, Thorvaldsdottir H, Winckler W, Guttman M, Lander ES, Getz G et al. Integrative genomics viewer. *Nat Biotechnol.* 2011;29:24-6.
73. Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer SO et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal.* 2013;6:p11.
74. De Jong WK, Blaauwgeers JL, Schaapveld M, Timens W, Klinkenberg TJ, Groen HJ. Thymic epithelial tumours: a population-based study of the incidence, diagnostic procedures and therapy. *Eur J Cancer.* 2008;44:123-30.
75. Engels EA, Pfeiffer RM. Malignant thymoma in the United States: demographic patterns in incidence and associations with subsequent malignancies. *Int J Cancer.* 2003;105:546-51.

76. Thomas CR, Wright CD, Loehrer PJ. Thymoma: state of the art. *J Clin Oncol.* 1999;17:2280-9.
77. Couture MM, Mountain CF. Thymoma. *Semin Surg Oncol.* 1990;6:110-4.
78. Travis WB, Brambilla A, Muller-Hermelinck HK, Marx A. Pathology and genetics of tumors of the lung, pleura, thymus and heart. In: Travis WB (ed), *World Health Organization Classification of tumors.* Lyon: IARC Press 2004; p. 146.
79. Weis CA, Yao X, Deng Y, Detterbeck FC, Marino M, Nicholson AG et al. The impact of thymoma histotype on prognosis in a worldwide database. *J Thorac Oncol.* 2015;10:367-72.
80. Morgenthaler TI, Brown LR, Colby TV, Harper CM Jr, Coles DT. Thymoma. *Mayo Clin Proc.* 1993;68:1110-23.
81. Rosenow EC 3rd, Hurley BT. Disorders of the thymus. A review. *Arch Intern Med.* 1984;144:763-70.
82. Wright CD, Wain JC, Wong DR, Donahue DM, Gaissert HA, Grillo HC et al. Predictors of recurrence in thymic tumors: importance of invasion, World Health Organization histology, and size. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;130:1413-21.
83. Nakajima J, Okumura M, Yano M, Date H, Onuki T, Haniuda M et al. Myasthenia gravis with thymic epithelial tumour: a retrospective analysis of a Japanese database. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016;49:1510-5.
84. Nazarbaghi S, Amiri-Nikpour MR, Mahmoodlou R, Arjmand N, Rezaei Y. Clinical Outcomes of Myasthenia Gravis with Thymoma and Thymic Hyperplasia Undergoing Extended Transsternal Thymectomy: A Single-Center Experience. *N Am J Med Sci.* 2015;7:503-8.
85. Akaishi T, Suzuki Y, Imai T, Tsuda E, Minami N, Nagane Y. Response to treatment of myasthenia gravis according to clinical subtype. *BMC Neurol.* 2016;16:225.
86. Liu CW, Luo M, Mei JD, Zhu YK, Pu Q, Ma L et al. Perioperative and long-term outcome of thymectomy for myasthenia gravis: comparison of surgical approaches and prognostic analysis. *Chin Med J (Engl).* 2013;126:34-40.
87. Welsh JS, Wilkins KB, Green R, Bulkley G, Askin F, Diener-West M et al. Association between thymoma and second neoplasms. *JAMA* 2000;283:1142-3.

88. Souadjian JV, Silverstein MN, Titus JL. Thymoma and cancer. *Cancer* 1968;22:1221-5.
89. Engels EA, Pfeiffer RM, Goedert JJ, Virgo P, McNeel TS, Scoppa SM et al. Trends in cancer risk among people with AIDS in the United States 1980-2002. *AIDS*. 2006;20:1645-54.
90. Pan CC, Chen PC, Wang LS, Chi KH, Chiang H. Thymoma is associated with an increased risk of second malignancy. *Cancer* 2001;92:2406-11.
91. Filosso PL, Evangelista A, Ruffini E, Rendina EA, Margaritora S, Novellis P et al. Does myasthenia gravis influence overall survival and cumulative incidence of recurrence in thymoma patients? A Retrospective clinicopathological multicentre analysis on 797 patients. *Lung Cancer*. 2015;88:338-43.
92. Marom EM. Advances in thymoma imaging. *J Thorac Imaging* 2013;28:69-80.
93. Detterbeck FC, Zeeshan A. Thymoma: current diagnosis and treatment. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126:2186-91.
94. Falkson CB, Bezjak A, Darling G, Gregg R, Malthaner R, Maziak DE et al. The management of thymoma: a systematic review and practice guideline. *J Thorac Oncol*. 2009;4:911-9.
95. Helm JM, Lavy D, Figueroa-Bodine J, Joseph S. Metastatic Malignant Thymoma to the Abdomen: A SEER Database Review and Assessment of Treatment Strategies. *World J Oncol*. 2017;8:147-50.
96. Vladislav T, Jain RK, Alvarez R, Mehta RJ, Gökmen-Polar Y, Kesler KA et al. Extrathoracic metastases of thymic origin: a review of 35 cases. *Mod Pathol*. 2012;25:370-7.
97. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) for Thymomas and Thymic Carcinomas. V3.2016. Available at:<http://www.nccn.org>.
98. Sadohara J, Fujimoto K, Müller NL, Kato S, Takamori S, Ohkuma K et al. Thymic epithelial tumors: comparison of CT and MR imaging findings of low-risk thymomas, high-risk thymomas, and thymic carcinomas. *Eur J Radiol*. 2006;60:70-9.
99. Fukui T, Fukumoto K, Okasaka T, Kawaguchi K, Nakamura S, Hakiri S et al. Prognostic impact of tumour size in completely resected thymic epithelial tumours. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016;50:1068-74.

100. Engels EA, Pfeiffer RM. Malignant thymoma in the United States: demographic patterns in incidence and associations with subsequent malignancies. *Int J Cancer* 2003;105:546-51.
101. Kaufman AJ, Flores RM. Minimally invasive thymectomy for thymoma: does surgical approach matter or is it a question of stage? *J Thorac Dis.* 2016;8:E1711-4.
102. Müller-Hermelink HK, Marx A. Thymoma. *Curr Opin Oncol.* 2000;12:426-33.
103. Margaritora S, Cesario A, Cusumano G, Meacci E, D'Angelillo R, Bonassi S et al. Thirty-five-year follow-up analysis of clinical and pathologic outcomes of thymoma surgery. *Ann Thorac Surg.* 2010;89:245-52.
104. Okumura M, Miyoshi S, Fujii Y, Takeuchi Y, Shiono H, Inoue M et al. Clinical and functional significance of WHO classification on human thymic epithelial neoplasms: a study of 146 consecutive tumors. *Am J Surg Pathol.* 2001;25:103-10.
105. Weis CA, Yao X, Deng Y, Detterbeck FC, Marino M, Nicholson AG et al. The impact of thymoma histotype on prognosis in a worldwide database. *J Thorac Oncol.* 2015;10:367-72.
106. Safieddine N, Liu G, Cunningham K, Ming T, Hwang D, Brade A et al. Prognostic factors for cure, recurrence and long-term survival after surgical resection of thymoma. *J Thorac Oncol.* 2014;9:1018-22.
107. Masaoka A, Monden Y, Nakahara K, Tanioka T. Follow-up study of thymomas with special reference to their clinical stages. *Cancer.* 1981;48:2485-9.
108. Rossemberg M, Jaregui WO, DeVega ME, Errera MR, Roncoroni AJ. Recurrence of thymic hyperplasia after thymectomy in myasthenia gravis. *Am J Med* 1983;74:78–82.
109. Wang F, Pang L, Fu J, Shen Y, Wei Y, Tan L et al. Postoperative survival for patients with thymoma complicating myasthenia gravis-preliminary retrospective results of the ChART database. *J Thorac Dis.* 2016;8:711-7.
110. Budde JM, Morris CD, Gal AA, Mansour KA, Miller JI. Predictors of outcome in thymectomy for myasthenia gravis. *Ann Thorac Surg* 2001;72:197–202.

111. Koga K, Matsuno Y, Noguchi M, Mukai K, Asamura H, Goya T et al. A review of 79 thymomas: modification of staging system and reappraisal of conventional division into invasive and non-invasive thymoma. *Pathol Int.* 1994;44:359-67.
112. Detterbeck F, Youssef S, Ruffini E, Okumura M. A review of prognostic factors in thymic malignancies. *J Thorac Oncol.* 2011;6 (Suppl 3):S1698-704.
113. Guerrera F, Rendina EA, Venuta F, Margaritora S, Ciccone AM, Novellis P et al. Does the World Health Organization histological classification predict outcomes after thymomectomy? Results of a multicentre study on 750 patients. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2015;48:48-54.
114. Carillo C, Diso D, Mantovani S, Pecoraro Y, De Giacomo T, Ciccone AM et al. Multimodality treatment of stage II thymic tumours. *J Thorac Dis.* 2017;9:2369-74.
115. Detterbeck F. Towards a TNM based prognostic classification for thymic tumors. *J Thorac Oncol* 2013; 8: S68.
116. Nichols FC, Trastek VF. Standard thymectomy. In: Shields TW, LoCicero J, Reed CE, Feins RH, editors. *General thoracic surgery.* Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2009. p. 2278– 83.
117. Monden Y, Nakahara K, Iioka S, Nanjo S, Ohno K, Fujii Y et al. Recurrence of thymoma: clinicopathological features, therapy and prognosis. *Ann Thorac Surg* 1985;39:165–9.
118. Rea F, Marulli G, Di Chiara F, Schiavon M, Perissinotto E, Breda C et al. Multidisciplinary approach for advanced stage thymic tumors: long-term outcome. *Lung Cancer.* 2011;72:68-72.
119. Kondo K. Therapy for thymic epithelial tumors. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2014;62:468-74.
120. Modh A, Rimner A, Allen PK, Greenfield B, Marom EM, Rice D et al. Treatment Modalities and Outcomes in Patients With Advanced Invasive Thymoma or Thymic Carcinoma: A Retrospective Multicenter Study. *Am J Clin Oncol.* 2016;39:120-5.
121. Ruffini E, Detterbeck F, Van Raemdonck D, Rocco G, Thomas P, Weder W et al. Tumours of the thymus: a cohort study of prognostic factors from the

- European Society of Thoracic Surgeons database. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;46:361-8.
122. Margaritora S, Cesario A, Cusumano G, Lococo F, Porziella V, Meacci E et al. Single-centre 40-year results of redo operation for recurrent thymomas. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2011;40:894-900.
 123. Laperuta P, Napolitano F, Garzi A, Amato B, Vatrella A, Di Crescenzo V. Extrathoracic recurrence of type A thymoma. *Int J Surg.* 2014;12 (Suppl 1):S16–S18.
 124. Detterbeck FC, Nicholson AG, Kondo K, Van Schil P, Moran C. The Masaoka-Koga stage classification for thymic malignancies: clarification and definition of terms. *J Thorac Oncol.* 2011;6 (7 Suppl 3):S1710-6.
 125. Hamaji M, Allen MS, Cassivi SD, Nichols FC 3rd, Wigle DA, Deschamps C et al. The role of surgical management in recurrent thymic tumors. *Ann Thorac Surg.* 2012;94:247–54.
 126. Kondo K, Monden Y. Therapy for thymic epithelial tumors: a clinical study of 1,320 patients from Japan. *Ann Thorac Surg.* 2003;76:878-84.
 127. Huang J, Rizk NP, Travis WD, Seshan VE, Bains MS, Dycoco J et al. Feasibility of multimodality therapy including extended resections in stage IVA thymoma. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007;134:1477-83.
 128. Detterbeck FC, Parsons AM. Management of stage I and II thymoma. *Thorac Surg Clin.* 2011;21:59-67.
 129. Hernandez-Ilizaliturri FJ, Tan D, Cipolla D, Connolly G, Debb G, Ramnath N. Multimodality therapy for thymic carcinoma (TCA): results of a 30-year single-institution experience. *Am J Clin Oncol.* 2004;27:68-72.
 130. Venuta F, Rendina EA, Longo F, De Giacomo T, Anile M, Mercadante E et al. Long-term outcome after multimodality treatment for stage III thymic tumors. *Ann Thorac Surg.* 2003; 76:1866-72.
 131. Davenport E, Malthaner RA. The role of surgery in the management of thymoma: a systematic review. *Ann Thorac Surg.* 2008; 86:673-84.
 132. Lara PN Jr. Malignant thymoma: current status and future directions. *Cancer Treat Rev.* 2000; 26:127-31.

133. Maggi G, Casadio C, Cavallo A, Cianci R, Molinatti M, Ruffini E. Thymoma: results of 241 operated cases. *Ann Thorac Surg.* 1991; 51:152-6.
134. Yan J, Liu Q, Moseley JN, Baik CS, Chow LQ, Goulart BH et al. Adjuvant Radiotherapy for Stages II and III Resected Thymoma: A Single-institutional Experience. *Am J Clin Oncol.* 2016;39:223-7.
135. Boothe D, Orton A, Thorpe C, Kokeny K, Hitchcock YJ. Postoperative Radiotherapy in Locally Invasive Malignancies of the Thymus: Patterns of Care and Survival. *J Thorac Oncol.* 2016;11:2218-26.
136. Chen YD, Feng QF, Lu HZ, Mao YS, Zhou ZM, Ou GF et al. Role of adjuvant radiotherapy for stage II thymoma after complete tumor resection. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010;78:1400-6.
137. Lim YJ, Kim E, Kim HJ, Wu HG, Yan J, Liu Q et al. Survival Impact of Adjuvant Radiation Therapy in Masaoka Stage II to IV Thymomas: A Systematic Review and Meta-analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2016;94:1129-36.
138. Utsumi T, Shiono H, Kadota Y, Matsumura A, Maeda H, Ohta M et al. Postoperative radiation therapy after complete resection of thymoma has little impact on survival. *Cancer.* 2009; 115:5413-20.
139. Zhang H, Lu N, Wang M, Gu X, Zhang D. Postoperative radiotherapy for stage I thymoma: a prospective randomized trial in 29 cases. *Chin Med J (Engl).* 1999; 112:136-8.
140. Myojin M, Choi NC, Wright CD, Wain JC, Harris N, Hug EB et al. Stage III thymoma: pattern of failure after surgery and postoperative radiotherapy and its implication for future study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000; 46:927-33.
141. Forquer JA, Rong N, Fakiris AJ, Loehrer PJ Sr, Johnstone PA. Postoperative radiotherapy after surgical resection of thymoma: differing roles in localized and regional disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010; 76:440-5.
142. Pollack A, Komaki R, Cox JD, Ro JY, Oswald MJ, Shin DM et al. Thymoma: treatment and prognosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1992; 23:1037-43.
143. Kobayashi Y, Fujii Y, Yano M, Sasaki H, Yukiue H, Haneda H et al. Preoperative steroid pulse therapy for invasive thymoma: clinical experience and mechanism of action. *Cancer.* 2006; 106:1901-7.

144. Giaccone G, Ardizzoni A, Kirkpatrick A, Clerico M, Sahnoud T, van Zandwijk N. Cisplatin and etoposide combination chemotherapy for locally advanced or metastatic thymoma. A phase II study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Lung Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol.* 1996; 14:814-20.
145. Loehrer PJ Sr, Jiroutek M, Aisner S, Aisner J, Green M, Thomas CR Jr et al. Combined etoposide, ifosfamide and cisplatin in the treatment of patients with advanced thymoma and thymic carcinoma: an intergroup trial. *Cancer.* 2001; 91:2010-5.
146. Fornasiero A, Daniele O, Ghiotto C, Piazza M, Fiore-Donati L, Calabró F et al. Chemotherapy for invasive thymoma. A 13-year experience. *Cancer.* 1991; 68:30-3.
147. Dettner FC, Stratton K, Giroux D, Asamura H, Crowley J, Falkson C et al. The IASLC/ITMIG Thymic Epithelial Tumors Staging Project: proposal for an evidence-based stage classification system for the forthcoming (8th) edition of the TNM classification of malignant tumors. *J Thorac Oncol.* 2014;9 (Suppl 2):S65-72.
148. Strobel P, Bargou R, Wolff A, Spitzer D, Manegold C, Dimitrakopoulou-Strauss A et al. Sunitinib in metastatic thymic carcinomas: laboratory findings and initial clinical experience. *Br J Cancer.* 2010; 103:196-200.
149. Thomas A, Rajan A, Berman A, Tomita Y, Brzezniak C, Lee MJ et al. Sunitinib in patients with chemotherapy-refractory thymoma and thymic carcinoma: an open-label phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2015;16:177-86
150. Palmieri G, Buonerba C, Federico P, Formisano L, Nappi L, Di Lorenzo G et al. Everolimus plus long-acting somatostatin analogs in thymic epithelial malignancies. *World J Clin Oncol.* 2012; 3:111-5.
151. Lemma GL, Lee JW, Aisner SC, Langer CJ, Tester WJ, Johnson DH et al. Phase II study of carboplatin and paclitaxel in advanced thymoma and thymic carcinoma. *J Clin Oncol.* 2011; 29:2060-5.
152. Loehrer PJ Sr, Wang W, Johnson DH, Aisner SC, Ettinger DS; Eastern Cooperative Oncology Group Phase II Trial. Octreotide alone or with prednisone

- in patients with advanced thymoma and thymic carcinoma: an Eastern Cooperative Oncology Group Phase II Trial. *J Clin Oncol*. 2004; 22:293-9.
153. Maruyama R, Suemitsu R, Okamoto T, Kojo M, Aoki Y, Wataya H et al. Persistent and aggressive treatment for thymic carcinoma. Results of a single-institute experience with 25 patients. *Oncology*. 2006; 70:325-9.
 154. Thomas A, Rajan A, Berman A, Scepura B, Brzezniak C, Carter CA. Clinical activity of sunitinib in patients with thymic carcinoma *J Thorac Oncol* 2013; 8:S267-8.
 155. Girard N. Chemotherapy and targeted agents for thymic malignancies. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2012;12:685-95.
 156. Girard N. Thymic tumors: Relevant molecular data in the clinic. *J Thorac Oncol* 2010; 5 (10 Suppl 4):S291-5.
 157. Giaccone G, Thompson J, Crawford J, McGuire C, Manning M, Subramaniamet DS et al. A phase II study of pembrolizumab in patients with recurrent thymic carcinoma. *J Clin Oncol*. 2016;34:8517.
 158. Rajan A, Heery CR, Kim C, et al. Safety and clinical activity of avelumab (MSB0010718C; anti-PD-L1) in patients with advanced thymoma. 7th ITMIG Annual Meeting 2016.
 159. Stinchcombe TE. Novel agents in development for advanced non-small cell lung cancer. *Ther Adv Med Oncol*. 2014;6:240-53.
 160. Boolell V, Alamgeer M, Watkins DN, Ganju V. The Evolution of Therapies in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)*. 2015;7:1815-46
 161. Jotte RM, Spigel DR. Advances in molecular-based personalized non-small-cell lung cancer therapy: targeting epidermal growth factor receptor and mechanisms of resistance. *Cancer Med*. 2015; 4:1621–32.
 162. Russo A, Franchina T, Ricciardi GR, Picone A, Ferraro G, Zanghi M et al. A decade of EGFR inhibition in EGFR-mutated non small cell lung cancer (NSCLC): Old successes and future perspectives. *Oncotarget*. 2015;6:26814-25.
 163. Zhou F, Zhou CC. Targeted therapies for patients with advanced NSCLC harboring wild-type EGFR: what's new and what's enough. *Chin J Cancer*.2015;34:310-9.

164. Nguyen KS, Neal JW, Wakelee H. Review of the current targeted therapies for non-small-cell lung cancer. *World J Clin Oncol*. 2014;5:576-87.
165. Chia PL, Mitchell P, Dobrovic A, John T. Prevalence and natural history of ALK positive non-small-cell lung cancer and the clinical impact of targeted therapy with ALK inhibitors. *Clin Epidemiol*. 2014;6:423-32.
166. Cappuzzo F, Moro-Sibilot D, Gautschi O, Boleti E, Felip E, Groen HJ et al. Management of crizotinib therapy for ALK-rearranged non-small cell lung carcinoma: an expert consensus. *Lung Cancer*. 2015;87:89-95
167. Rothschild SI. Targeted Therapies in Non-Small Cell Lung Cancer- Beyond EGFR and ALK. *Cancers (Basel)*. 2015;7:930-49.
168. Califano R, Abidin A, Tariq NU, Economopoulou P, Metro G, Mountzios G. Beyond EGFR and ALK inhibition: unravelling and exploiting novel genetic alterations in advanced non small-cell lung cancer. *Cancer Treat Rev*. 2015;4:401-11.
169. Gerber DE, Paik PK, Dowlati A. Beyond adenocarcinoma: current treatments and future directions for squamous, small cell, and rare lung cancer histologies. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015:147-62.
170. Hayashi Y, Ishii N, Obayashi C, Jinnai K, Hanioka K, Imai Y et al: Thymoma: tumour type related to expression of epidermal growth factor (EGF), EGF-receptor, p53, v-erb B and ras p21. *Virchows Arch*.1995;426: 43-50.
171. Henley JD, Cummings OW, Loehrer PJ Sr. Tyrosine kinase receptor expression in thymomas. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2004;130:222–4.
172. Ströbel P, Hohenberger P, Marx A. Thymoma and thymic carcinoma: molecular pathology and targeted therapy. *J Thorac Oncol*. 2010;5 (10 Suppl 4):S286–90.
173. Tateyama H, Eimoto T, Tada T, Mizuno T, Inagaki H, Hata A et al. p53 protein expression and p53 gene mutation in thymic epithelial tumors. An immunohistochemical and DNA sequencing study. *Am J Clin Pathol*. 1995;104:375–81.
174. Hirabayashi H, Fujii Y, Sakaguchi M, Tanaka H, Yoon HE, Komoto Y et al. p16INK4, pRB, p53 and cyclin D1 expression and hypermethylation of CDKN2 gene in thymoma and thymic carcinoma. *Int J Cancer*. 1997;73:639–44.

175. Weissferdt A, Wistuba II, Moran CA. Molecular aspects of thymic carcinoma. *Lung Cancer*. 2012;78:127–32.
176. Girard N, Shen RL, Guo TH, Zakowski MF, Heguy A, Riely GJ et al. Comprehensive genomic analysis reveals clinically relevant molecular distinctions between thymic carcinomas and thymomas. *Clin Cancer Res*. 2009; 15:6790-9.
177. Serpico D, Trama A, Haspinger ER, Agustoni F, Botta L, Berardi R, et al. Available evidence and new biological perspectives on medical treatment of advanced thymic epithelial tumors. *Ann Oncol*. 2015;26:838–47.
178. Petrini I, Meltzer PS, Kim IK, Lucchi M, Park KS, Fontanini G et al. A specific missense mutation in GTF2I occurs at high frequency in thymic epithelial tumors. *Nat Genet*. 2014; 46:844–9.
179. Petrini I, Meltzer PS, Zucali PA, Luo J, Lee C, Santoro A et al. Copy number aberrations of BCL2 and CDKN2A/B identified by array-CGH in thymic epithelial tumors. *Cell Death Dis*. 2012; 3:e351.
180. Wheler J, Hong D, Swisher SG, Falchook G, Tsimberidou AM, Helgason T et al. Thymoma patients treated in a phase I clinic at MD Anderson Cancer Center: responses to mTOR inhibitors and molecular analyses. *Oncotarget*. 2013;4:890-8.
181. Schubbert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007;7:295-308.
182. Strobel P, Marx A, Zettl A, Muller-Hermelink HK. Thymoma and thymic carcinoma: an update of the WHO Classification 2004. *Surg Today*. 2005;35:805-11.
183. Yamaguchi H, Soda H, Kitazaki T, Tsukamoto K, Hayashi T, Kohno S. Thymic carcinoma with epidermal growth factor receptor gene mutations. *Lung Cancer*. 2006;52:261-2.
184. Christodoulou C, Murray S, Dahabreh J, Petraki K, Nikolakopoulou A, Mavri A et al. Response of malignant thymoma to erlotinib. *Ann Oncol*. 2008;19:1361–2.
185. Kurup A, Burns M, Dropcho S, Pao W, Loehrer PJ. Phase II study of gefitinib treatment in advanced thymic malignancies. *J Clin Oncol*;23:7068.

186. Antonescu CR, Besmer P, Guo T, Arkun K, Hom G, Koryotowski B et al. Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumor occurs through secondary gene mutation. *Clin Cancer Res.* 2005;11:4182–90.
187. Antonescu CR, Busam KJ, Francone TD, Wong GC, Guo T, Agaram NP et al. L576P KIT mutation in anal melanomas correlates with KIT protein expression and is sensitive to specific kinase inhibition. *Int J Cancer.* 2007;121:257–64.
188. Bisagni G, Rossi G, Cavazza A, Sartori G, Gardini G, Boni C. Long lasting response to the multikinase inhibitor bay 43-9006 (Sorafenib) in a heavily pretreated metastatic thymic carcinoma. *J Thorac Oncol.* 2009;4:773–5.
189. Salter JT, Lewis D, Yiannoutsos C, Loehrer PJ, Risley L, Chiorean EG. Imatinib for the treatment of thymic carcinoma. *J Clin Oncol.* 2008;26:8116.
190. Kelly RJ, Petrini I, Rajan A, Wang Y, Giaccone G. Thymic malignancies: from clinical management to targeted therapies. *J Clin Oncol.* 2011; 29:4820-7.
191. Bedano PM, Perkins S, Burns M, Kessler K, Nelson R, Schneider BP et al. A phase II trial of erlotinib plus bevacizumab in patients with recurrent thymoma or thymic carcinoma. *J Clin Oncol.* 2008; 26:19087.
192. Suzuki E, Sasaki H, Kawano O, Endo K, Haneda H, Yukiue H et al. Expression and mutation statuses of epidermal growth factor receptor in thymic epithelial tumors. *Jpn J Clin Oncol.* 2006; 36: 351–6.
193. Girard N, Teruya-Feldstein J, Payabyab EC, Riely GJ, Rusch VW, Kris MG et al. Insulin-like growth factor-1 receptor expression in thymic malignancies. *J Thorac Oncol.* 2010; 5: 1439–46.
194. Zucali PA, Petrini I, Lorenzi E, Merino M, Cao L, Di Tommaso L et al. Insulin-like growth factor-1 receptor and phosphorylated AKT-serine 473 expression in 132 resected thymomas and thymic carcinomas. *Cancer.* 2010; 116: 4686–95.
195. Tsuta K, Kozu Y, Mimae T, Yoshida A, Kohno T, Sekine I et al. c-MET/phospho-MET protein expression and MET gene copy number in non-small cell lung carcinomas. *J Thorac Oncol.* 2012; 7: 331–9.

196. Mimae T, Tsuta K, Kondo T, Nitta H, Grogan TM, Okada M et al. Protein expression and gene copy number changes of receptor tyrosine kinase in thymomas and thymic carcinomas. *Ann Oncol.* 2012;23:3129-37.
197. Nakagiri T, Funaki S, Kadota Y, Takeuchi Y, Shiono H, Akashi A et al. Does gefitinib have effects on EGFR mutation-positive thymoma? – Case report of thymoma recurrence. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;20 (Suppl):674–6.
198. Yoh K, Nishiwaki Y, Ishii G, Goto K, Kubota K, Ohmatsu H et al. Mutational status of EGFR and KIT in thymoma and thymic carcinoma. *Lung Cancer.* 2008; 62: 316-20.

BIOGRAFIJA AUTORA

Natalija Samardžić 06.03.1967., rođena u Beogradu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju.

Aktivno govori engleski i ruski jezik.

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 1985. i diplomirala 02.09.1991. sa srednjom ocenom 8,43.

Na Institutu za plućne bolesti i TBC Kliničkog Centra Srbije zaposlena je od 01.08.1994. kao klinički lekar.

Specijalistički ispit iz INTERNE MEDICINE položila 30.06.1997.

Član je UDRUŽENJA PULMOLOGA SRBIJE od Juna 2001, nakon čega postaje član RESPIRATORNOG UDRUŽENJA SRBIJE, i drugih udruženja kao što je: European Society for Medical Oncology (ESMO).

Član je Lekarske komore Srbije od 01.01.2009.

Radila je kao šef Jedinice za palijativno lečenje karcinoma pluća od 01.05.2006. godine Instituta za plućne bolesti i TBC, od 12.10.2010. obavljala poslove mesta rada šefa Kabineta za specifične aspekte lečenja malignih bolesti pluća šestog odeljenja pri Klinici za pulmologiju/KCS.

Načelnik je Dnevne bolnice za lečenje malignih bolesti pluća, sredogrudja i pleure Klinike za pulmologiju/KCS od 01.11.2016.

Magistarsku tezu pod nazivom "Kliničko ispoljavanje endobronhijalne tuberkuloze u Srbiji" odbranila je 15.06.2010.

Upisala UŽU SPECIJALIZACIJU iz PULMOLOGIJE 06.11.2006. god., položila usmeni ispit pred Komisijom dana 13.04.2011. sa ocenom 10, izrada rada u završnoj fazi. DOKTORSKA DISERTACIJA: „Analiza kliničkih manifestacija i prognostičkih faktora Timoma“ čiji je mentor Prof.dr Dragana Jovanović i komentor Prof.dr Ljiljana Marković Denić, je u završnoj fazi.

Naziv PRIMARIJUS dodeljen je 25. SEP 2014. po prethodno pribavljenom mišljenju Predsedništva Srpskog lekarskog društva.

Bavi se svim plućnim bolestima, a pretežno toraksnom onkologijom, tuberkulozom, intersticijskim bolestima pluća, infekcijama.

Stalni je član Konzilijuma za lečenje malignih bolesti pluća, sredogrudja i pleure, čija komisija određuje terapijski pristup bolesnicima sa dijagnostikovanim malignim bolestima pluća.

Autor i koautor brojnih naučnih radova u domaćim i svetskim časopisima.

Poseduje višegodišnje iskustvo u teoretskom i praktičnom radu sa specijalizantima i subspecijalizantima koji deo svoje edukacije obavljaju u Klinici za pulmologiju.

Predavač je na domaćim kongresima (respiratorne i interne medicine), i drugim stručnim sastancima u zemlji i inostranstvu, i programima u okviru kontinuirane medicinske edukacije. Uzela učešće kao predavač na Specijalističkim strukovnim studijama.

Učestvovala kao istraživač u više kliničkih studija.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisana Dr Natalija Samardžić

broj upisa _____

Izjavljujem

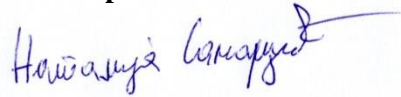
da je doktorska disertacija pod naslovom

„Analiza kliničkih manifestacija i prognostičkih faktora timoma“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, 27.06. 2018

Potpis doktoranda



Dr Natalija Samardžić

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Natalija Samardžić

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada: „Analiza kliničkih manifestacija i prognostičkih faktora timoma“

Mentor: Prof.dr Dragana Jovanović

Potpisana: Prim. dr Natalija Samardžić

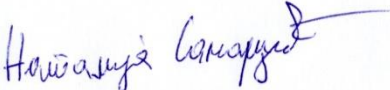
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 27.06.2018.


Dr Natalija Samardžić

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Analiza kliničkih manifestacija i prognostičkih faktora timoma“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

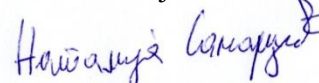
1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 27.06.2018.

dr Natalija Samardžić



1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.