

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Stevan Č. Jokić

**ZNAČAJ KLINIČKO-PATOLOŠKIH
PREDIKTORA ZA PRISUSTVO METASTAZA
U STRAŽARSKIM (SENTINEL) LIMFNIM
ČVOROVIMA KOD OBOLELIH OD
MELANOMA KOŽE**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Stevan Č. Jokić

**THE SIGNIFICANCE OF CLINICAL AND
PATHOLOGICAL PREDICTORS FOR THE
PRESENCE OF METASTASES IN SENTINEL
LYMPH NODES IN PATIENTS WITH SKIN
MELANOMA**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2018.

Mentor:

Doc. dr Ivan Marković

Docent Hirurgije

Institut za onkologiju i radiologiju Srbije, Beograd

Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komentor:

Prof. dr Danijela Dobrosavljević

Vanredni profesor Dermatovenerologije

Klinika za dermatovenerologiju, Klinički Centar Srbije

Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Članovi Komisije:

Prof. dr Radan Džodić

Redovni Profesor Hirurgije

Institut za onkologiju i radiologiju Srbije, Beograd

Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Miroslav Granić

Redovni Profesor Hirurgije

Kliničko-bolnički Centar „Bežanijska Kosa“, Beograd

Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Doc. dr Milan Petrović

Docent Maksilofacijalne hirurgije

Klinika za Maksilofacijalnu hirurgiju, Klinički Centar Srbije

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane: _____

ZAHVALNOST

Najveću zahvalnost dugujem svom komentoru Prof. dr Danijeli Dobrosavljević Vukojević bez čije ideje ovaj rad ne bi dobio svoju konačnu formu, svom mentoru Doc. dr Ivanu Markoviću na upornosti da se započeti posao završi.

Posebnu zahvalnost dugujem Doc. dr Zoranu Bukumiriću na statističkoj obradi podataka i prijateljskim savetima u toku izrade ove teze, kao i Prof. dr Mariji Matić koja je svojim sugestijama pomogla formalnom uobličavanju doktorske teze.

Takođe, neizmernu zahvalnost dugujem mlađim kolegama Dr Igoru Spurniću, Dr Marku Jevriću, Dr Mariji Raković, Dr Jovani Tripković, Dr Nadi Santrač i Dr Vladi Jokiću na nesebičnoj podršci i velikoj pomoći kod izrade teze.

Izražavam veliku zahvalnost i članovima komisije, mom učitelju Prof. dr Radanu Džodiću, Prof. dr Miroslavu Graniću i Doc. dr Milanu Petroviću na uloženom trudu i vremenu koje su izdvojili prilikom izrade doktorske disertacije.

Onima koje uvek pomenemo na kraju, mojoj porodici, Čedomiru, Nikoli i Biljani na razumevanju i podršci.

*Posvećujem
mom ocu Čedomiru koji nikada nije prestajao verovati u mene*

SAŽETAK

ZNAČAJ KLINIČKO-PATOLOŠKIH PREDIKTORA ZA PRISUSTVO METASTAZA U STRAŽARSKIM (SENTINEL) LIMFNIM ČVOROVIMA KOD OBOLELIH OD MELANOMA KOŽE

Stevan Č. Jokić

Uvod: Stražarski, sentinel, limfni čvor (SLČ) predstavlja prvi limfni čvor u koji će maligni epitelni tumor metastazirati. Prisustvo metastaze u SLČ smatra se najvažnijim faktorom u stažiranju bolesti, njenom lečenju i kontroli. Ispitivanje SLČ kod melanoma kože i karcinoma dojke postalo je standard u dijagnostici preporučen u TNM (UICC, AJCC) klasifikaciji.

Cilj: Glavni cilj ovog istraživanja je da se utvrde klinički i patološki prediktori primarnog melanoma za prisustvo patološki verifikovanih metastaza u SLČ kod pacijenata sa melanomom kože i tankim melanomom ≤ 1 mm (stara TNM klasifikacija), odnosno $\leq 0,8$ mm (nova TNM klasifikacija).

Materijal i Metode: Ova retrospektivno/prospektivna studija je sprovedena na 148 pacijenta sa dijagnozom primarnog melanoma. Za određivanje značaja u predikciji pozitivnih SLČ u istraživanje su bili uključeni klinički parametri (uzrast, pol i lokalizacija primarnog tumora), kao i patohistološki parametri (prisustvo ulceracija, mitotski indeks, nivo po Klarku, debljina tumora po Breslovu, prisustvo regresije i limfovaskularna invazija), dok je, pored ovih kliničko-patoloških parametara, za procenu povezanosti sa većim hazardom za pojavu relapsa bolesti bila uključena i SLČ pozitivnost. Metodom univarijantne logističke regresione analize ispitivana je povezanost između prediktivnih parametara i pozitivnog SLČ. Za procenu debljine tumora po Breslovu, kod koje bi se mogao očekivati pozitivan SLČ, korišćena je metodologija ROC krive. Za analizu vremena do pojave prvog relapsa obolelih od melanoma kože korišćena je Kaplan Meierova metoda. Za procenu funkcije do prvog relapsa u zavisnosti od karakteristika pacijenata i patohistoloških karakteristika tankog melanoma primenjen je Log Rank test. Univarijantni Coxov regresioni model sa 95%

intervalom poverenja korišćen je za pronalaženje nezavisnog prediktora relapsa kod osoba obolelih od melanoma kože.

Rezultati: Statistički značajni prediktori SLČ pozitivnosti bili su veći stepen debljine tumora po Breslovu ($p=0,003$) i Klarku ($p=0,048$), prisustvo ulceracije ($p=0,001$) i viši stepen mitotskog indeksa ($p=0,001$). ROC analiza pokazala je da je debljina tumora po Breslovu od 2,9 mm *cut off* vrednost SLČ pozitivnosti (senzitivnost 86%, specifičnost 67%), površina ispod krive iznosi 0,79 (95% CI 0,72 – 0,85). Nadalje, utvrđeno je da pacijenti sa debljim tumorom po Breslovu i prisustvom ulceracije imaju značajno bržu pojavu recidiva bolesti ($p<0,05$). U univarijantnim Cox regresionim modelima, varijable koje su povezane sa većim hazardom za pojavu relapsa su: veći stepen debljine tumora po Breslovu ($p<0,001$) i Klarku ($p=0,001$), postojanje ulceracije primarnog tumora ($p=0,023$) i pozitivan sentinel ($p<0,001$). U multivarijantnom COX regresionom modelu varijabla koja je povezana sa povećanim hazardom za pojavu relapsa je pozitivan sentinel ($p=0,004$).

Zaključci: Pacijenti sa višim stepenom debljine po Breslovu i Klarku, ulceracijama i višim stepenom mitotskog indeksa, imaju veći rizik od SLČ pozitivnosti. Pored toga, veći stepen debljine tumora po Breslovu i Klarku, postojanje ulceracije primarnog tumora i pozitivan SLČ su povezani sa povećanim hazardom za pojavu relapsa bolesti. Ovi rezultati ukazuju na to da, prilikom izvođenja i predviđanja SLČ pozitivnosti, kao i ponovnog pojavljivanja bolesti, treba koristiti višestruke kriterijume u analizi.

Ključne reči: melanom kože, prediktori, stražarski limfni čvor, metastaza

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Hirurška onkologija

ABSTRACT

THE SIGNIFICANCE OF CLINICAL AND PATHOLOGICAL PREDICTORS FOR THE PRESENCE OF METASTASES IN SENTINEL LYMPH NODES IN PATIENTS WITH SKIN MELANOMA

Stevan Č. Jokić

Introduction: Sentinel lymph node (SLN) is the first node in which the tumor will metastasize. The presence of metastasis in the SLN is considered the most important factor in disease staging, treatment and control. Examination of SLN in skin melanoma and breast cancer has become a standard in diagnosis and recommended in TNM (UICC, AJCC) classification.

Aim: The main aim of this study is to determine the clinical and pathological predictors of primary melanoma for the presence of pathologically verified metastases in SLNs in patients with skin melanoma and thin melanoma $\leq 1\text{mm}$ (old TNM classification) or $\leq 0.8\text{mm}$ (new TNM classification).

Materials and methods: This retrospective study was conducted on 148 patients. To determine the prediction of positive SLN, the research included clinical parameters (age, sex and localization of the primary tumor), as well as pathological parameters (presence of ulcerations, mitotic index, Clark classification, Breslow tumor thickness, presence of regression and lymphovascular invasion). Beside these parameters for the analysis of first relapse of melanoma skin patients SLN positivity was also included. The ROC curve was used to estimate Breslow tumor thickness in which a positive SLN could be expected. For the analysis of first relapse of melanoma skin patients, Kaplan Meier's method was used. Log Rank test was applied for evaluation of the first relapse of melanoma skin patients, depending on the characteristics of patients and the pathohistological characteristics of thin melanoma. For identification of the independent relapse predictor in melanoma skin patients a univariate Cox regression model with a 95% confidence interval was used.

Results: Statistically significant predictors of SLN positivity were higher level of Breslow tumor thickness and higher Clark's level ($p \leq 0.05$), presence of ulceration and higher mitotic index (6 mitosis / mm^2) ($p < 0.001$). ROC curve analysis showed that the

Breslow tumor thickness of 2.9 mm is a *cut off* value of SLN positivity (sensitivity 86%, specificity 67%). Furthermore, it has been found that patients with higher level of Breslow tumor thickness and presence of ulceration have significantly shorter time until the first relapse occurs ($p < 0.05$). In univariate Cox regression models, variables that are associated with an increased risk of relapse include: higher level of Breslow ($p < 0.001$) and Clark's tumor thickness ($p = 0.001$), presence of primary tumor ulceration ($p = 0.023$) and positive SLN (< 0.001). However, in a multivariate COX regression model, a variable associated with an increased risk of relapse was a positive SLN ($p = 0.004$).

Conclusions: Patients with a higher level of Breslow and Clark tumor thickness, ulceration and a higher mitotic index, have a higher risk of SNL positivity. In addition, a higher level of Breslow and Clark tumor thickness, the presence of primary tumor ulceration and a positive SLN are associated with an increased risk of the disease relapse. These results suggest that multiple criteria in the analysis should be used when performing and predicting SLN positivity, as well as in disease relapse.

Key words: cutaneous melanoma, predictors, sentinel lymph node, metastasis

Scientific Field: Medicine

Scientific Discipline: Surgical Oncology

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. ISTORIЈAT I EPIDEMIOLOGIЈA MELANOMA	1
1.1.1. Koncept stražarskih limfnih čvorova.....	4
1.2. ETIOLOGIЈA MELANOMA	6
1.3. BIOLOGIЈA MELANOMA	8
1.3.2. Biomarkeri melanoma	9
1.4. DIЈAGNOSTIKA MELANOMA	10
1.4.1. Diјagnostika primarnog tumora.....	11
1.4.2. Diјagnostika regionalnih metastaza.....	13
1.4.3. Diјagnostika udaljenih metastaza	16
1.5. KLASIFIKACIЈA I PROGNOСТИČKI FAKTORI MELANOMA.....	18
1.5.1. Klasifikacija melanoma	18
1.5.2. Prognoštički faktori	21
1.6. LEČENJE MELANOMA	23
1.6.1. Hirurško lečenje melanoma	23
1.6.2. Uloga slčb kod lečenja melanoma	25
1.6.3. Drugi terapijski modaliteti u lečenju melanoma.....	30
1.7. PRAĆENJE PACIJENATA NAKON OPERACIЈE MELANOMA KOŽE.....	32
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	35
3. MATERIJAL I METODE	36
3.1. SELEKCIЈA ISPITANIKA.....	36
3.2. DIЈAGNOSTIKA.....	37
3.3. HIRURŠKA PROCEDURA.....	37
3.4. HISTOPATOLOŠKA PROCEDURA.....	38
3.5. STATISTIČKA ANALIZA.....	39

4. REZULTATI	40
4.1. PRIKAZ DEMOGRAFSKIH KARAKTERISTIKA PACIJENATA I PATOHISTOLOŠKIH PARAMETARA PRIMARNOG MELANOMA KOŽE.....	40
4.1.1. Demografske karakteristike pacijenata.....	40
4.1.2. Patohistološke karakteristike primarnog melanoma.....	43
4.2. TANKI MELANOMI.....	48
4.2.1. Prikaz demografskih karakteristika pacijenata i patohistoloških parametara primarnog melanoma kože debljine po Breslovu $\leq 0,8$	48
4.2.2. Prikaz demografskih karakteristika pacijenata i patohistoloških parametara primarnog melanoma kože debljine po Breslovu ≤ 1 mm.....	54
4.3. STATUS (STRAŽARSKIH) LIMFNIH ČVOROVA	60
4.3.1. Prikaz statusa (stražarskih) limfnih čvorova u grupi pacijenata sa melanomom kože.....	60
4.4. RELAPS KOD PACIJENATA SA MELANOMOM	64
4.4.1. Cox regresioni modeli sa relapsom kao zavisnom varijablom	66
4.5. PREŽIVLJAVANJE KOD PACIJENATA SA MELANOMOM.....	68
4.6. ROC KRIVA ZA DEBLJINU MELANOMA PO BRESLOVU KOD POZITIVNOG STRAŽARSKOG LIMFNOG ČVORA.....	70
5. DISKUSIJA	71
6. ZAKLJUČCI.....	81
7. LITERATURA	82

1. UVOD

1.1. ISTORIJAT I EPIDEMIOLOGIJA MELANOMA

Rak, kancer ili neoplazija (grč. neos-nov, plasia-rast) je uopšteni pojam za mnoge bolesti kod kojih se abnormalne ćelije dele bez kontrole, te su u stanju napasti zdravo tkivo.

Melanom predstavlja oboljenje koje nastaje malignom alteracijom melanocita. Klinički uznapredovali i neleženi melanom je najsmrtonsniji maligni tumor u ljudi.

Najstariji poznati opis karcinoma u humanoj populaciji je nađen u Egiptu na nekoliko papirusa pisanih između 3000. i 1500. godine p.n.e. Dva od njih poznati kao papirus E. Smitha i Dž. Ebersa sadrže detalje koji su se mogli smatrati savremenim opisom kancera. Papirus E. Smitha se smatra najstarijim medicinskim dokumentom pisan pre oko 3000. godine p.n.e. (Kottapurath i sar., 2005). Prva saznanja o melanomu sežu još iz doba Hipokrata, koji je opisao nevus. Celzijus takođe opisuje promenu i daje joj naziv nigricans. Zabeleženo je i da je i Laurentius 1531. godine opisao "crne tumore" na različitim delovima kože, a Dupuytren ovu vrstu promena opisuje kao melanozu. Prvi pisani dokaz o melanomu bio je opis Johna Huntera iz 1787. godine, u kome opisuje 35-godišnjeg bolesnika sa rekurentnim submandibularnim tamno pigmentovanim tumorom. Preparat je sačuvan, te se i danas nalazi u Hunterovom muzeju u Royal College of Surgeons u Londonu (Inić M. i sar., 2007; Stanec S. i Stanec Z., 2006). Rene Laennec 1804. godine prvi opisuje melanom kao zasebnu bolest različitih lokalizacija (jetra, pluća, oko, želudac, itd.), 1812. godine bolest naziva melanozom (grčki-crno). Danas se smatra da je Laennec prvi opisao melanom, mada neke publikacije te zasluge pripisuju Dupuytrenu, koji ga u jednom svom predavanju naziva cancer noire (crni rak) (S.Stanec, Z.Stanec; 2006). Prvi koji ozbiljnije istražuje melanom je William Norris; opisuje bolesnika koji je umro od metastatskog melanoma. Objavio je prvi slučaj melanoze, a zatim i prikazao osam pacijenata obolelih od ove bolesti. Zalagao se za široku eksciziju tumora i isticao naslednu predispoziciju bolesti. (Davis NC. i sar., 1980). Prvi koji su upotreбили naziv melanom bili su Caswell i Cullon 1834. godine u Edinburgu. Ser James Padget je opisao 25 bolesnika 1853. godine sa melanoidnim rakom, naglasivši da se u većini slučajeva širi površinski po koži, uz blago uzdizanje. Opisao je i prvi slučaj

melanoma kod pripadnika crne rase u predelu stopala i naveo da nijedan do tada poznati način lečenja nije efikasan (Stanec S. i Stanec Z., 2006).

Ser Jonhnatan Hutchinson 1857. godine opisuje subungvalni melanom i predlaže ranu amputaciju zahvaćenog prsta. Prema istraživanjima ovog istaknutog stručnjaka nastao je karakterističan prekursor bolesti Hutchinsonove melanotične pege. (Stanec S. i Stanec Z., 2006; Inić M., 2007). Bodenham je prvi mikroskopskim pregledom preparata utvrdio da se radi o melanomu. William Samson Hendley je 1907. godine na temelju samo jedne obdukcije dao preporuke za hirurško lečenje melanoma, koje su se održale u narednih 50 godina, a koje su podrazumevale kružnu eksciziju 3-5 cm od ruba tumora sa podminiranjem kože i potkožnog tkiva i resekcijom fascije i pripadajućeg mišića regiona u kojem se nalazio melanom (Padget J., 1898; Stanec S. i Stanec Z., 2006). Patolozi Sophie Spitz i Arthur Allen opisali su 1948. godine poseban tip nevusa kod dece koji se histopatološki može zameniti sa melanomom Nazvan je benignim juvenilnim melanomom, a kasnije je naziv zamenjen Spitzov nevus (Padget J., 1898; Stanec S. i Z.Stanec, 2006). Australijski patolog Vincent McGovern je stekao svetsko priznanje zbog organizovanja brojnih kongresa i simpozijuma na kojima su postignuti konsenzusi i donesen zajednički protokol u lečenju melanoma. Prvi je smatrao sunčeve zrake faktorom rizika u patogenezi razvoja melanoma (Stanec S. i Stanec Z., 2006; Inić M., 2007). Wallace Clark je 1966. godine osnovao prvu multidisciplinarnu kliniku za dijagnostiku i lečenje pigmentnih lezija u opštoj bolnici u Massachusettsu. Tvorac je takozvanih Klarkovih stepena invazije melanoma, koji su u kombinaciji sa Breslovljevom klasifikacijom omogućili precizniju klasifikaciju i praćenje pacijenata sa melanomom. Opisao je Klarkov nevus, priznati faktor rizika u nastanku melanoma. Začetnik je u proučavanju familijarnog melanoma (Stanec S. i Stanec Z., 2006; Inić M., 2007). Alexander Breslow, professor patologije iz Washingtona, je dao značajan doprinos u istraživanju kožnog melanoma, ističući njegovu debljinu kao primarni prognostički pokazatelj lokalizovanog melanoma. Tvorac je multinacionalne studije u saradnji sa WHO, koja je objavljena 1978. godine, i koja je pokazala da je debljina tumora bolji prediktor metastaziranja i 5-godišnjeg preživljavanja od bilo kog drugog histopatološkog pokazatelja (Stanec S. i Stanec Z., 2006; Inić M., 2007).

Melanom je jedan od najzloćudnijih tumora u istoriji čovečanstva i poznato je da je incidenca ovog oboljenja u stalnom porastu. Naime, od 1960. do sredine 80-ih zabeležen je porast od 3 do 7 odsto (Bevona C. i Sober AJ., 2002). Incidenca melanoma varira ovisno o geografskoj širini i visini, a područja bliže ekvatoru imaju veću incidencu. Na Novom Zelandu i u Australiji incidenca melanoma ima epidemijske razmere. Najugroženija je bela rasa, stanovništvo izloženo štetnom dejstvu sunčeve svetlosti, a sa rastom životne dobi povećana je incidenca kod muškaraca u odnosu na žene (Bulliard JL. i Cox B., 2000; Marrett LD. i sar., 2001; Marks R., 2002). Najviša zabeležena incidenca je u Australiji, 40 novih slučajeva melanoma na 100.000 stanovnika godišnje (Marks R. 2002). U SAD-u je od 1979. do 2002. godine incidenca porasla 132% i 2002. dijagnostikivano je 53.600 novih slučajeva melanoma (Jemal A. i sar., 2000). Što se tiče Evropskog kontinenta, najveću stopu incidence melanoma ima Norveška, gde se svake godine registruje oko 14,1 novih slučajeva kod muškaraca, a oko 15,3 kod žena na 100.000 stanovnika (Mansson-Brahme E., i sar., 2002; MacKie RM. i sar., 2002). Danas, zahvaljujući savremenom pristupu u prevenciji melanoma, prvenstveno, jer se principi lečenja nisu bitnije menjali u poslednjih 20 godina, postoji smanjenje stope incidence u nastajanju ove bolesti u nekim delovima Australije, posebno kod mlađe populacije stanovništva, što u primarnom smislu reči podrazumeva smanjenje tzv. rekreativnog sunčanja i nošenje adekvatne zaštitne odeće i slično (Czarnecki D. i Meehan CJ., 2000). Što se tiče populacije tamne puti, kod crne rase je u SAD-u zabeležena incidenca 16 puta manja u odnosu na stanovništvo bele puti (Stanec S., Stanec Z., 2006). U azijskim zemljama je incidenca melanoma niska, tako je u Japanu 0,2 na 100.000 stanovnika, a u Singapuru 0,1 na 100.000 stanovnika (Builliard J.L i sar., 1999). Prema podacima Registra za rak centralne Srbije u periodu od 1999. do 2003. godine prosečna stopa incidence melanoma iznosila je 4,2 na 100.000 stanovnika za mušku i 3,8 na 100.000 za žensku populaciju, a 2009. godine sirova stopa incidence za melanom kože iznosila je 9,3/100.000 za mušku i 7,7/100.000 za žensku populaciju, što ukazuje na značajan porast broja obolelih u periodu od samo 6 godina (Jelena Nikolić, doktorska teza 2013). Muškarci 1,5 puta češće obolevaju od žena, a prosečna starost u postavljanju dijagnoze ovog teškog oboljenja je 57 godina, dok je srednji uzrast kod smrtnog ishoda 67 godina (Inić M. i sar., 2007).

U poslednjih dvadesetak godina zapažene su promene u incidenci melanoma u odnosu na lokalizaciju na koži. Najveća je incidenca zabeležena na trupu muškarca i na donjim ekstremitetima kod žena. Ono što ohrabruje jeste veći postotak rano otkrivenog melanoma, što se sigurno velikim delom može pripisati boljoj profesionalnoj i populacionoj informisanosti, medijskoj kampanji u vezi sa ovom bolešću i savetima za njenu prevenciju. Sa tim u vezi su i bolji rezultati lečenja i manja stopa mortaliteta (Inić M. i sar., 2007).

Prema kliničkim i patološkim osobinama melanom kože se deli na 2 tipa i više podtipova.

- A. Melanom sa izraženim bočnim, radijalnim rastom, sporijeg kliničkog toka i bolje prognoze sa više podtipova-melanom sa površinskim širenjem, lentigo maligni melanom, akralni lentiginozni melanom, subungvalni melanom kao retka forma akralnog
- B. Melanom sa dominantno vertikalnim rastom, agresivnijim kliničkim tokom i većom smrtnošću-nodularni melanom (najagresivnija forma ahromatski melanom)

1.1.1. Koncept stražarskih limfnih čvorova

Hirurško lečenje primarnih kožnih melanoma tokom dvadesetog veka podrazumevalo je radikalnu eksciziju sa 3-5 cm širine sigurnosnih margina što se pripisuje Hendleyu, a na osnovu rada objavljenog 1907 god. Takvu teoriju o širokoj eksciziji melanoma kože do u zdravo su podržavali Olsen 60-ih i Wong i Cochran sedamdesetih godina 20-og veka (Stanec S. i Z.Stanec, 2006).

Zahvaljujući stalnom napretku onkologije, uvođenjem obaveznih kliničkih pregleda i drugih dijagnostičkih procedura težimo ka što manje invazivnoj hirurgiji. Navedeni podaci otvaraju pitanje svrsishodnosti kompletnog uklanjanja pazušnih klinički negativnih regionalnih limfnih čvorova, kako kod melanoma, tako i kod drugih malignih oboljenja sa ciljem histopatološke verifikacije. Uklanjanje regionalnih limfnih čvorova radi histopatološkog pregleda je najbolji pokazatelj stadijuma bolesti, koji u značajnoj meri određuje dalji tok lečenja obolelog, kako od melanoma, tako i posebno od karcinoma dojke Na kraju kod 70-preko 80% pacijenata kod tankog melanoma i

ranog karcinoma dojke ima nezahvaćene regionalne limfne čvorove te su stoga diskekcije nepotrebne., sa visokim rizikom za komplikacije, najpre limfedeme ekstremitata. Ova saznanja su doprinela afirmaciji nove procedure koja za cilj ima mapiranje stražarskog limfnog čvora (Veronesi U. i sar., 1996; Gennari R. i sar., 2000

Sherman i Ter Pogossian su prvi prikazali rezultate mapiranja regionalnih limfnih čvora kod miševa, nakon potkožnog injiciranja radioaktivnog koloida zlata davne 1953. godine (Sherman AI. i sar., 1953). Potom je 1960. godine Gould uradio biopsiju najbližeg limfnog čvora u sklopu parotidektomije a zbog karcinoma parotidne pljuvačne žljezde (Gould EA. i sar., 1960). Veoma značajno mesto u afirmaciji mapiranja stražarskog limfnog čvora pripada Holmes-u i saradnicima koji su 1977. godine objavili istraživanje u bolesnika sa melanomom gde je radioaktivni koloidni gel zlata iskorišten za prikazivanje regionalnog limfnog područja (Holmes EC. i sar., 1977). Gotovo istovremeno 1977. godine Cabanas primenjuje sličan postupak kod bolesnika sa karcinomom penisa a u cilju prikazivanja zahvaćenog regionalnog limfnog područja, te uvodi pojam čvora stražara, kao prvoga koji prima limfu iz istog područja (Cabanas RM.;1977). Međutim, čini se da je ključni doprinos u afirmaciji mapiranja limfnih čvorova dao Morton 1992. godine, od kada se ovoj metodi pridaje sve veća pažnja u brojnim istraživanjima, a ubrzo i u kliničkoj praksi naročito kada je u pitanju operativno lečenje melanoma., Naime, Morton je inagurisao koncept intraoperativnog limfatičkog mapiranja, koji nam obezbeđuje veoma važne informacije o prisustvu metastaza u regionalnim limfnim čvorovima, pre donošenja odluke o ekstenzivnijem hirurškom zahvatu. On dakle zaključuje da je stražarski limfni čvor zapravo prvi čvor u limfnom sistemu određenog drenažnog područja koji prima limfu, zbog čega se smatra glavnim predstavnikom tog drenažnog područja. Njegovom identifikacijom i histopatološkom verifikacijom dobija se uvid u stanje preostalih limfnih čvorova tog područja, pa tako ukoliko u čvoru stražaru nisu dokazane metastaze, mala je mogućnost njihovog prisustva u preostalim limfnim čvorovima tog područja, zbog čega nije potrebno provoditi radikalnu disekciju limfnih čvorova tog područja, čime se u značajnoj meri smanjuje procenat postoperativnih komplikacija (ireverzibilni limfedemi ekstremiteta, neurološki ispadi, postoperativni serom, itd...) (Morton DL. i sar., 1992).

Ipak tek 1997. godine Veronessi je postavio koncept i objavio prve rezultate istraživanja koji nedvosmisleno upućuju na zaključak da je kod pacijentkinja sa

negativnim stražarskim limfnim čvorom nepotrebno odstranjivanje pazušnih limfnih čvorova bez obzira na činjenicu da je primarni tumor zloćudan (Veronesi U. i sar., 1999; Gennari R i sar., 1999).

Najjača podrška uvođenju ove metode u rutinsku kliničku praksu stigla je sa Prvog kongresa o označavanju sentinel-čvorova održanog 1999. godine u Amsterdamu, gde je predstavljeno iskustvo iz 30 priznatih centara u kojima se radi markacija stražarskih limfnih čvorova.

Savremene tehnike obeležavanja limfnog čvora stražara:

Morton, a kasnije i Giuliano su za mapiranje upotrebljavali vitalnu boju patent blue dye-limfazurazin, aplikujući je u područje oko tumora, odnosno postoperativnog ožiljka. Krag je među prvima kod karcinoma dojke uveo limfoscintigrafsko označavanje limfnog čvora stražara preoperativnim aplikovanjem radiokoloida Te 99 uz pomoć intraoperativne gama kamere. U današnje vreme u većini dobro opremljenih centara koriste se istovremeno u kombinaciji vitalna boja i radioizotop što se pokazalo kao najsigurnija metoda (Krag D. i sar., 1998; Giuliano AE. i sar., 2000; Cody HS. i sar., 2001).

1.2. ETIOLOGIJA MELANOMA

Melanom predstavlja oboljenje koje nastaje malignom alteracijom melanocita. Melanociti su ćelije koje sintetišu melanin, smeštene su normalno u dubokom sloju epidermisa i čine drugu ćelijsku populaciju u epidermisu sa procentom od 1 do 2%. Keratociti su najbrojniji i čine 95% ćelija epidermisa (S.Stanec, Z.Stanec, 2006). In situ (unutar epiderma) i mikroinvazivni melanomi (pojedinačne ćelije ili male grupe ćelija) u papilarnom dermu predstavljaju radijalnu fazu rasta. Prodorom tumora u dermis nastaje invazivni rast, što pripada vertikalnoj fazi. Metastaze melanoma su terminalna faza bolesti i mogu biti zahvaćeni svi organi, kako visceralni (pluća, jetra, kosti, mozak), tako i nevisceralni (koža i limfni čvorovi) (Inić M. i sar., 2007).

Dve su različite grupe faktora važne za nastanak melanoma: genetska sklonost i faktori okoline, od kojih je najznačajniji izloženost UV zračenju od sunčeve svetlosti. Solarijum ima najjače kancerogeno dejstvo. Nukleinske kiseline i proteini apsorbuju to svetlo i zbog te apsorpcije nastaju oštećenja ćelijske DNK, koja, ukoliko se ne poprave različitim ćelijskim mehanizmima odbrane, uzrokuju mutacije koje dovode do nastanka zloćudnog tumora. UV zračenje se deli na UVA (320-400nm), UVB (280-320nm) i

UVC (200-280 nm) talasne dužine. Ozonski omotač zaustavlja zrake talasnih dužina kraćih od 300 nm. Štetno dejstvo UVA zraka nije tako detaljno ispitano kao dejstvo UVB. UVA zraci se emituju iz alternativnih izvora svetlosti, kao što su solarijumi, a budući da ima veću talasnu dužinu prodire dublje u kožu. Ono prolazi kroz prozorsko staklo, za razliku od UVB, i na životinjskom modelu se može izazvati melanom izlažući ga UVA zracima. Različiti su učinci ovih vidova UV zračenja. UVB ima jači zapaljenski udeo, po tipu eritema, dok UVA ima veću ulogu u nastanku ranih i kasnih pigmentacija na koži (Bastuji-Garin S. i sar., 2002). Kako sunčevo svetlo, tako i UV zračenje ostalih izvora svetlosti važni su spoljašnji faktori rizika u nastanku melanoma. Naime, opekotine od preterane izloženosti sunčevoj svetlosti povezane su sa dvostrukim povećanjem rizika od nastanka melanoma. Smatra se da rizik od nastanka melanoma nije povezan sa kumulativnim, nego sa intermitentnim, jakim izlaganjem sunčevoj svetlosti, a u prilog tome nam govori veća učestalost melanoma na koži grudnog koša kod muškaraca i donjim ekstremitetima kod žena. Danas se postavlja pitanje da li korišćenje zaštitnih sredstava od sunčeve svetlosti pomaže u zaštiti od nastanka melanoma, ili ne, jer omogućava duži boravak na suncu. Ono što je dokazano jeste da upotreba pomenutih sredstava smanjuje povećanje broja novih nevusa, a ako znamo da je veći broj nevusa lošiji prognostički faktor, onda to govori u prilog zaštitnog dejstva (Barnhill RI. i Mihm MC., 1993; Wang SQ. i sar., 2001). Veliki rizik u nastanku melanoma svakako nose i nevusi, i to veći broj nevusa kao i njihov atipičan izgled. Uopšteno je prihvaćeno da su displazni nevusi rizični faktor u nastanku melanoma, kao i urođeni i gigantni nevusi (Tucker MA. i sar., 1997). Jedan od etioloških faktora u nastanku melanoma je i familijarna pojava. Naime, pojava 5% melanoma u više članova jedne porodice otvara pitanje genetske sklonosti za bolest. Najčešće se zbog detaljnijih analiza uzima pojava melanoma kod najmanje dva člana familije. Familijarni melanomi imaju istu sliku i prognozu kao sporadični, samo se javljaju više u mlađjoj životnoj dobi, obično su tanji, ali postoji veća multicentričnost. Istraživanja su još pokazala da srodnici prve generacije imaju dva puta veći rizik od nastanka melanoma (Hussussian CJ. i sar., 1994). Melanoma Genetics Consortium bavi se proučavanjem gena koji utiču na nastanak melanoma. U familijama visokorizičnim za melanom identifikovana su dva gena odgovorna za sklonost: CDKN2A i CDK4 (Kamb A. i sar., 1994; Borg A., 2000; Goldstein AM. i sar., 2000).

1.3. BIOLOGIJA MELANOMA

Melanom predstavlja kompleksno genetsko oboljenje koje zahteva ispitivanje aktiviranih signalnih puteva u cilju razumevanja mehanizma invazivnosti i metastaziranja melanoma. Pored toga, sve više raste potreba za primenom kombinacija lekova koje blokiraju neke od signalnih putanja i lekova koji indukuju proces apoptoze. Najnovija klinička ispitivanja ukazuju da primenom multiplih inhibitora određenih signalnih puteva nove mogućnosti u lečenju ovih pacijenata i mogu omogućiti bolju prognozu pacijenata sa melanomom.

1.3.1. Signalni putevi u melanomu

Ras/Raf/MEK/ERK signalna kaskada reguliše proliferaciju i preživljavanje ćelija melanoma i aktiviran je u 90% melanoma kod ljudi. Ras protein se nalazi na unutrašnjoj strani plazma membrane, dok su Raf, MEK i ERK protein kinaze citoplazme. U melanocitima ovaj put najčešće aktiviraju autokrini faktori rasta kao što su FGF (fibroblasni faktor rasta), SCF (faktor rasta stem ćelija), HGF (hepatocitni faktor rasta), ali samo istovremeno dejstvo više faktora rasta dovodi do snažne ERK aktivacije, i sledstveno mitogenog efekta (Wellbrock C. i sar., 2004). U melanomu ERK putanja aktivira mutaciju NRAS, jednog od tri Ras gena kod ljudi (druga dva gena su HRAS i KRAS), a mutacija je prisutna u 15 do 30% melanoma. Ipak, najčešće mutiran pripadnik ERK putanje je BRAF, jedan od tri Raf gena kod ljudi (druga dva su ARAF i CRAF). BRAF je mutiran u 50 do 70% melanoma (Davies H. i sar., 2002). Ova mutacija dovodi do konstitutivne ERK signalizacije, stimuliše proliferaciju i invazivnost ćelija i obezbeđuje bolji rast tumoru. BRAF utiče na invazivnost tumora tako što potpomaže proces stvaranja krvnih sudova jer povećava sekreciju VEGF (faktor rasta endotela krvnih sudova) i indukuje enzime koji pomažu rast tumora kao što su MMP-1 (matriks metaloproteinaza 1) i iNOS (inducibilna sintetaza azot monoksida) (Sharma A. i sar., 2005; Gray-Schopfer VC. i sar., 2007).

Drugi značajan signalni put u melanoma je fosfoinozimid-3OH kinazna putanja (PI(3)K). Fosfoinozimidni su membranski lipidi i predstavljaju sekundarne glasnike koji aktiviraju mTOR („*mammalian target of rapamycin*”). Lipidna fosfataza PTEN (fosfatni i tenzin homolog) vrši inhibiciju ovog puta. PI(3)K putanja je uključena u proliferaciju, preživljavanje, rast i motilitet ćelija melanoma i javlja se u 3% metastatskih melanoma

kod ljudi, dok je PI(3)K efektorna protein kinaza B (PKB ili Akt) prekomerno eksprimirana u 60% melanoma (Stahl JM i sar., 2004; Shaw RJ i sar., 2006). Da bi se zaustavio rast ćelija melanoma neophodno je blokirati ERK i PI(3)K putanju. BRAF i PTEN mutacije se javljaju udruženo u 20% slučajeva. BRAF i PI(3)K stimulišu proliferaciju ćelija zbog čega su potrebne odvojene mutacije da bi se aktivirala oba puta. (Wu H. i sar., 2003).

MITF („*microphthalmia associated transcription factor*”) je veoma važan transkripcioni faktor u biologiji melanoma jer reguliše ekspresiju melanogenih proteina kao što su tirozinaza, GP100 i sa melanomom povezani antigen koji prepoznaju T ćelije (MART-1 ili melan-A). Ekspresija MITF, takođe reguliše preživljavanje i proliferaciju melanocita i nivo MITF u melanocitima je strogo regulisan. MITF je eksprimiran u većini melanoma i proteini čiju ekspresiju on reguliše predstavljaju dijagnostičke markere za melanoma. Visok nivo MITF smanjuje proliferaciju ćelija melanoma, zaustavlja ćelijski ciklus tako što utiče na regulatore ćelijskog ciklusa (p16, ciklin zavisna kinaza 2 i p21) i dovodi do diferencijacije ćelija. Nizak nivo MITF u melanocitima zaustavlja ćelijski ciklus i dovodi do apoptoze tako da samo optimalan, srednji nivo potpomaže proliferaciju ćelije. Pokazano je da MITF nema sposobnost da sam transformiše melanocite, ali udružen sa mutiranim BRAF može da transformiše ćelije. Iz tih razloga se MITF smatra zavisnim onkogenom jer samo potpomaže procese transformacije i proliferacije ćelija. MITF je amplifikovan u 10 do 16 % slučajeva koji imaju BRAF mutacije (Levy C. i sar., 2006).

1.3.2. Biomarkeri melanoma

Komparativnom hibridizacijom genoma i analizama profila ekspresije proteina otkriveni su molekuli koji bi mogli biti korišćeni kao dijagnostički i prognostički markeri bolesti ili kao terapijske mete za melanom.

Pokazano je da metastatski melanomi eksprimiraju dve vrste različitih profila ekspresije gena, zbog čega je potrebno ispitivati različite markere bolesti i terapijske mete za dva podtipa melanoma. Tako su identifikovani profil ranih stadijuma bolesti i profil uznapredovalih stadijuma bolesti (melanomi sa vertikalnom fazom rasta i melanomi sa metastatskom fazom rasta) (Smith AP. i sar., 2005). Važno mesto u ispitivanju zauzimaju geni značajni za prelazak radijalne faze rasta (RGP) u vertikalnu

fazu rasta (VGP), kao što je gen za osteopontin (Haqq C. i sar., 2005). Istraživanja su pokazala da postoje dve grupe profila gena za melanom od kojih jedni imaju klinički odgovor na imunoterapiju, a drugi su bez kliničkog odgovora. Određivanje ovih gena može imati prediktivni značaj u izboru pacijenata za različite terapije, posebno terapiju vakcinama u budućnosti.

Identifikovan je veliki broj gena koji mogu biti korišćeni kao markeri dijagnoze i praćenja pacijenata sa melanomom ali i kao terapijske mete. E-kadherin je adhezivni molekul pomoću koga su ćelije međusobno povezane i gubitak E-kadherina ubrzava odvajanje melanocita od primarne tumorske mase. Gubitak ekspresije E-kadherina dovodi do prelaska benignog u invazivni fenotip što utiče na melanocite da pređu iz radialne u vertikalnu fazu rasta, Sa druge strane, melanociti koji su prešli u vertikalnu fazu rasta ekspresiraju N-kadherin. Kadherini predstavljaju jedne od potencijalnih kandidata za praćenje toka bolesti (Xu T. i sar., 2018).

Hemokini su molekuli povezani sa rastom tumora i invazivnošću. Ekspresija CCR4, CCR7 i CCR10 povezana je sa metastaziranjem melanoma. Ekspresija receptora za hemokine određuje da li su tumori sposobni da metastaziraju ili ne (Kakinuma T. i Hwang ST, 2006). Melastatin (TRPM1) je protein čija je ekspresija regulisana aktivnošću MITF. Ekspresija melastatina je povezana sa boljim preživljavanjem bolesnika, te se može koristiti kao prognostički marker (Dancan LM. i sar., 2001). Markeri mogu biti i transkripcioni faktori kao što je NFkB koji pospešuje procese angiogeneze i izbegavanje apoptoze. Takođe, STAT3 pomaže metastaziranje ćelija tako što povećava ekspresiju matriks metaloproteinaza, aktivira VEGF i pomaže angiogenezu (Smith AP. i sar., 2005).

Melanom kože raste lokalno, prorasta sve slojeve kože, infiltriše krvne sudove i limfatike i širi se u okolnu kožu, gde može da formira satelitske čvorove na razdaljini od 2cm. Limfnim putem se širi prema najbližem drenažnom području te nastaju regionalne, limfonodalne metastaze. Melanom može da metastazira u svaki deo tela izuzev u dlaku.

1.4. DIJAGNOSTIKA MELANOMA

S obzirom na kontinuiran porast incidence, kao i visok mortalitet u uznapredovalim stadijumima bolesti, neophodno je posvetiti najveću pažnju ranoj

dijagnostici bolesti kako bi se ove stope smanjile. Ranoj dijagnostici bolesti prevashodno pomaže dobro uzeta anamneza, a da bi rezultati bili što bolji, ovim problemom treba da se bave onkolozi i dermatovenerolozi. Tačna dijagnoza koja se bazira na anamnestičkim podacima i fizikalnom pregledu kreće se od 48 do 81% slučajeva.

Dijagnostika melanoma se danas može podeliti na:

- dijagnostiku primarnog tumora
- dijagnostiku regionalnih metastaza
- dijagnostiku udaljenih metastaza

1.4.1. Dijagnostika primarnog tumora

Kod dijagnostike primarnog tumora su sledeći dijagnostički postupci:

Anamneza

Pitanja u vezi sa anamnestičkim i heteroanamnestičkim podacima su:

- pojava melanoma u jednog ili više članova porodice
- displazni ili atipični nevi, prisustvo u porodici
- drugi zloćudni tumori kože
- prethodno dijagnostikovani melanom ili multipli kožni tumori
- prethodno dijagnostikovani lentigo maligna
- postojanje kongenitalnog gigantskog nevusa
- podatak o solarnim opekotinama, više od dva puta do 20. godine života.
- upotreba solarijuma do 25 godine života ili konstantna upotreba
- podatak o neadekvatnoj upotrebi zaštitnih sredstava pri izlaganju sunčevoj svetlosti
- imunosupresivna terapija bez obzira na uzrok
- podatak da pacijent boluje od xerodermae pigmentosum (defekt enzima za reparaciju DNK)

Fizikalni pregled

Podrazumeva pregled cele kože, kožnih adneksa, genitalne regije i vidljivih sluznica. U ovome nam pomaze poznato ABCDEF pravilo, koje omogućava isključenje velikog broja kožnih promena u diferencijalnoj dijagnostici melanoma:

- A-asimetrija
- B-neregularnost ivica
- C-nejednakost boja-najčešće različite nijanse kestenjaste boje
- D-prečnik, veći od 6 mm
- E-izdignutost
- F-pozitivna porodična anamneza

Druga je Glazgovska lista sa 7 tačaka:

- 1-promena veličine
- 2-promena oblika
- 3-promena boje
- 4-inflamacija
- 5-krusta ili krvavljenje
- 6-promena osetljivosti
- 7-prečnik veći od 7 mm

Fotografisanje

Koristan metod u praćenju kožnih promena je fotografisanje, što nam pomaže kod redovnih kontrola da se zapaze eventualne promene u nekoj od ovih tačaka, a posebno je značajno kod pacijenata koji imaju pozitivnu porodičnu anamnezu, veliki broj displaznih ili atipičnih nevusa i druge faktore koji se ubrajaju u povećanu sklonost ka pojavi melanoma (Kanzler M. i Mraz-Gernhard S., 2001).

Druge neinvazivne dijagnostičke metode

- *Dermoskopija (Epiluminiscentna mikroskopija)*
omogućava pregled pigmentnih promena na nivou epidermisa i papilarnog dermisa uvećanjem od 6-40 puta.
- *Digitalna dermoskopija (Epiluminiscentna mikroskopija)*
omogućava snimanje i čuvanje digitalne slike dobijene dermoskopijom (epiluminiscentnom mikroskopijom) sa uvećanjima i do 100x.
- *Konfokalna laserska mikroskopska tehnika*
neinvazivna dijagnostička procedura koja omogućava pregled epiderma i papilarnog derma do rezolucije koja je približna histološkoj pri čemu je prikaz tkiva u horizontalnoj ravni. Naime, fokusira i reflektuje laserske zrake iz područja suspektne kožne promene, te se na taj način vizuelizuju melanociti čak i u ahromatskom melanomu. Postoji reflektans i fluorescentni mod ove tehnike.
- *Ultrazvuk*
visoke frekvence ultrazvuka od 50-100 MHz, a doprinos bi bio u određivanju debljine, volumena i vaskularizacije melanoma in vivo.
- *NMR*
u kliničkim studijama kao metoda u dijagnostici pigmentnih lezija. (S.Stanec, Z.Stanec, 2006)

Biopsija

Biopsija je metoda za sigurno postavljanje dijagnoze melanoma i koristi se u svetu.

1.4.2. Dijagnostika regionalnih metastaza

Pod regionalnim metastazama se smatraju metastaze u različita drenažna područja, od kojih su najčešća u aksilama, ingvinumima, vratu i retroperitoneumu. U dijagnostici regionalnih metastaza koriste se:

- fizikalni pregled
- ultrazvuk, (prema potrebi CT, MRI, PET CT)
- citološka punkcija FNA
- limfoscintigrafija
- određivanje sentinel čvora limfotropnim bojama, HP sentinel čvora
- imprint citologija

Fizikalni pregled, ultrazvuk i citološka punkcija

Kod pacijenata sa dokazanim HP melanomom potrebno je na osnovu kliničkog pregleda manuelno odrediti prisustvo limfnih čvorova suspektnih na metastatske, u čemu nam pomaže i ultrazvučni pregled drenažnog područja. Kod nas se ne radi citološka potvrda tumorom zahvaćenog limfnog čvora, nakon čega bi se radila disekcija limfnih čvorova, već ex tempore biopsija i u slučaju pozitivnog nalaza pomenuta hirurška intervencija - limfadenektomija.

Limfoscintigrafija

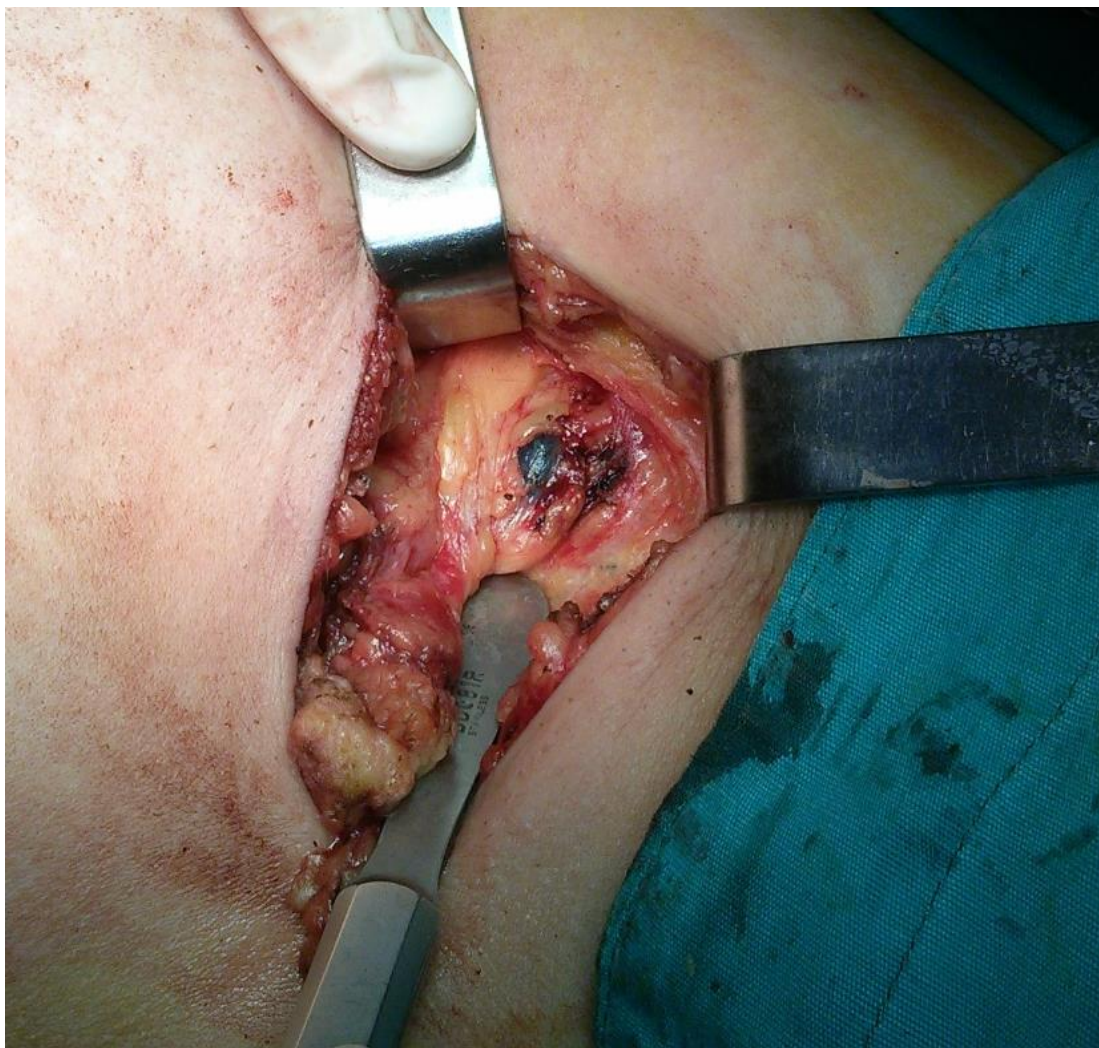
Pre nešto više od 50 godina se počinje koristiti limfoscintigrafija u dijagnostici okultnih metastaza kod karcinoma (Norman J. i sar., 1991) Koristi se radioizotop ^{99m}Tc -trisulfid-koloid. Tehnika se sastoji u injiciranju jedne ili više injekcija intradermalno pomenutog radioizotopa u okolinu melanoma prema drenažnom putu ili putevima koji se ispituju, i to 2-6 sati pre planirane biopsije. Injicira se od 0,5-1 mCi, a zadržava radioaktivnost do 6% i 24 sata nakon aplikacije. Dinamsko snimanje gama kamerom (slika 1) se obavlja nakon 5-10 minuta i označava se sentinel čvor u jednom ili više limfnih drenažnih područja. Ova metoda nije pouzdana nakon široke ekscizije melanoma ili pak kod operacija kod kojih su se koristili razni režnjevi za primarnu rekonstrukciju defekta kože (Kelemen R., 2003).



Slika 1. - Gama kamera

Određivanje sentinel čvora limfotropnim bojama

Najčešće korišćene boje su patent-blue 1%, kao i metilen-blue u dozi od 0,5-2ml, intradermalno ili peritumorski, kao i u okolini ožiljka od prethodno rađene ekscizije biopsije i to od 10 do 20 minuta pre početka hirurškog zahvata. Najbolje kombinacija obe metode zajedno. Plavo prebojen limfni čvor (slika 2) se označava kao sentinel čvor, koji se zatim šalje na HP analizu i shodno tome se radi ili limfadenektomija, u slučaju pozitivnog nalaza-metastaze, ili se završava sa operacijom.



Slika 2. - Sentinel čvor

Imprint citologija

Metoda otiska, ili imprint citologija, primenjuje se kao metoda izbora za primarni tumor ali i za metastaze, a danas i za sentinel-čvorove, što nije slučaj kod nas. Tumor ili metastatski limfni čvor se prereže i sa prerezane površine se uzme otisak, tako što se pažljivo pritisne na predmetno staklo. Preparati se boje brzom tehnikom i odmah analiziraju, da bi se rezultat javio u hiruršku salu nakon desetak minuta (Stanec S i, Stanec Z., 2006).

1.4.3. Dijagnostika udaljenih metastaza

U dijagnostici udaljenih metastaza, metastaza koje predstavljaju IV stadijum bolesti, koriste se:

- fizikalni pregled
- ultrazvuk (prema potrebi CT, MRI, PET CT)
- citološka punkcija FNA
- limfoscintigrafija
- određivanje sentinel čvora limfotropnim bojama, HP sentinel čvora
- imprint citologija

Laboratorijski testovi

Najvažniji je svakako test određivanja serumskog LDH, test jetrine funkcije. Najčešće izolovani porast LDH ili alkalne fosfataze znači metastatsku bolest, ujedno, porast LDH je u obrnuto proporcionalnom odnosu sa stopom preživljavanja. Da bi se posumnjalo na pojavu metastatske bolesti kod povišenih vrednosti serum-LDH mora postojati najmanje dva puta povišena vrednost u razmaku od 24 sata, jer samo jedna povišena vrednost može biti posledica nečega što nema veze sa metasataskim melanomom, kao što je hemoliza krvi i slično. U okviru kliničkih studija se ispituje ELISA-testom serumska TA 90 antigen za tumor vezanog glikoproteina i njegovo IgG antitelo koji se pojavljuje kod 72% melanoma i u kombinaciji sa PET skenom se može otkriti 93% okultnih metastaza. U rutinskoj kliničkoj praksi kao imunohistohemijski marker melanoma koristi se ekspresija S100B proteina. Još 1980. godine došlo se na ideju da ekspresija S100B u humanim melanomskim ćelijskim linijama može da se koristiti u dijagnostici melanoma (Gaynor R. i sar., 1980; Nakajima T. i sar., 1982). S100B protein je visoko specifičan i i njegov povećan nivo se registruje kod 74–100% pacijenata sa stadijumome IV melanoma (Nikolin B. i sar., 2016) S100 su proteini male molekulske mase, uključeni u različite ćelijske funkcije kao što su fosforilacija proteina, transkripcioni faktori, enzimska aktivnost, regulacija kalcijuma i funkcionisanje konstituenata citoskeleta (Salama I. i sar., 2008). Pored važnih uloga koje imaju u ćeliji, deluju i ekstracelularno gde dovode do povećane leukocitne hemoatraktivnosti, aktiviraju makrofage i utiču na ćelijsku proliferaciju što ih dovodi u vezu sa inflamacijom i karcinogenezom. Pojedini S100 proteini regulišu p53 protein i apoptozu; neki deluju kao tumor promotori, a drugi kao tumor supresori. Protein S100B je prisutan u mnogim humanim tkivima (Salama I. i sar., 2008; Devery JM. i sar. 1994) i u različitim malignitetima, uključujući i melanome (Zimmer DB. i sar. 1995; Heizmann CW., 2002).

Radiološke i ostale dijagnostičke metode

U dijagnostici udaljenih metastaza kod melanoma primenjuju se različiti radiološki testovi kao što su RTG, UZ, CT, NMR, PET, scintigrafija kostiju, kontrastne pasaže, endoskopski pregledi, citološke i HP analize (Taback B. i sar., 2001; Hwo WJ. i sar., 2003).

1.5. KLASIFIKACIJA I PROGNOŠTIČKI FAKTORI MELANOMA

1.5.1. Klasifikacija melanoma

Prve klasifikacije melanoma pokušane su jos u 19. veku, a prvi ozbiljniji pokušaj klasifikacije ove bolesti datira iz 1954. godine, kada su Ackerman i Del Regato (1954) predložili klasifikaciju u četiri grupe:

- a - bolesnici sa udaljenim metastazama
- b - bolesnici sa klinički manifestnim i HP potvrđenim metastazama u limfnim čvorovima
- c - bolesnici sa samo HP potvrđenim metastazama u limfnim čvorovima
- d - bolesnici bez HP potvrde metastaza u limfnim čvorovima

Sedma revizija TNM klasifikacije i stadijuma bolesti kod melanoma kože predložena je 2000. godine od strane Melanoma Staging Committee AJCC

Revizija je prihvaćena 2003. godine od strane svih relevantnih kooperativnih grupa i asocijacija za borbu protiv raka širom sveta (AJCC, WHO, UICC i EORTC).

Klinička potvrda i opšte prihvatanje ove revizije rezultat je prospektivne studije obavljene na 17.600 bolesnika sa melanomom kože u Evropi, SAD i Australiji.

Rezultati ove studije doneli su modifikaciju TNM klasifikacije i nezavisnih prognostičkih faktora u pogledu debljine primarnog melanoma, prisustva ili odsustva ulceracije, broja i veličine metastatskih limfnih čvorova, satelitskih čvorova u okolini primarne lezije i in-tranzit metastaza, mestu udaljenih metastaza i nivou serumskog LDH kao značajnih faktorima prognoze bolesnika u različitim stadijumima melanoma kože.

Takođe, posebno je naglašen značaj peroperativnog markiranja i biopsije sentinel limfnih čvorova u preciznom stažiranju bolesti (Balch CM. i sar., 2001; Balch CM. i sar., 2004).

Na tabeli 1. je prikazana najnovija osma klasifikacija melanoma na osnovu UICC i AJCC koja važi od januara 2018. godine.

Tabela 1. TNM Klasifikacija (UICC, AJCC 8th edition)

T Klasifikacija (Stadijum I i II)		
Tis		melanom u početnoj fazi
Tx	≤ 1 mm	nepoznat ili neodređen
T1	T1a < 0,8 mm T1b < 0,8 mm 0,8-1,0 mm	bez ulceracije sa ulceracijom sa ili bez ulceracije
T2	>1,0-2,0 mm T2a >1,0-2,0 mm T2b >1,0-2,0 mm	nepoznat ili neodređen bez ulceracije sa ulceracijom
T3	>2,0-4,0 mm T3a >2,0-4,0 mm T3b >2,0-4,0 mm	nepoznat ili neodređen bez ulceracije sa ulceracijom
T4	> 4,0 mm T4a > 4,0 mm T4b > 4,0 mm	nepoznat ili neodređen bez ulceracije sa ulceracijom
N Klasifikacija (Stadijum III)		
N1	Jedan limfni čvor	a: mikrometastaza * b: makrometastaza **
N2	2-3 limfna čvora	a: mikrometastaza * b: makrometastaza ** c: in-tranzit met(s)/sateliti(s) bez metastatskih limfnih čvorova
N3	4 ili više metastatskih limfnih čvorova, sliveni limfni čvorovi, ili kombinacija in-tranzit met(s)/sateliti(s) i više metastatskih limfnih čvorova	
M Klasifikacija (Stadijum IV)		
M1	Udaljeni delovi kože, potkožno ili metastatski čvorovi udaljene regije	Normalan LDH
M2	Plućne metastaze	Normalan LDH
M3	Sve druge viscelarne metastaze ili druge udaljene metastaze	Normalan LDH Povišen LDH

* Mikrometastaze su dijagnostikovane posle sentinel biopsije ili elektivne disekcije, promera su do 2 mm

** Makrometastaze su definisane kao klinički detektabilni limfni čvorovi potvrđeni patohistološki posle terapijskih disekcija.

Tabela 2. Stadijumi bolesti kod melanoma kože

	Klinički stadijumi *			Patološki stadijumi **		
0	Tis	N0	M0	Tis	N0	M0
IA	T1a	N0	M0	T1a	N0	M0
IB	T1b	N0	M0	T1b	N0	M0
IIA	T2a	N0	M0	T2a	N0	M0
	T2b	N0	M0	T2b	N0	M0
IIB	T3a	N0	M0	T3a	N0	M0
	T3b	N0	M0	T3b	N0	M0
IIC	T4a	N0	M0	T4a	N0	M0
	T4b	N0	M0	T4b	N0	M0
III		N1	M0			
	Bilo koji T	N2				
		N3				
IIIA				T1-4a	N1a	M0
				T1-4a	N2a	M0
IIIB				T1-4b	N1a	M0
				T1-4b	N2a	M0
				T1-4a	N1b	M0
				T1-4a	N2b	M0
				T1-4a/b	N2c	M0
IIIC				T1-4b	N1b	M0
				T1-4b	N2b	M0
				Any T	N3	M0
IV	Bilo koji T	Bilo koji N	Bilo koji M1	Bilo koji T	Bilo koji N	Bilo koji M1

* Klinički stadijumi uključuju makroskopsko stažiranje primarnog melanoma i kliničko-radiološku evaluaciju regionalnih i udaljenih metastaza.

** Patohistološki stadijumi uključuju mikroskopsko stažiranje primarnog melanoma i regionalnih limfnih čvorova posle sentinel biopsije ili kompletne disekcije limfnih čvorova

Osnovna razlika između kliničke i patološke klasifikacije je razlika u kategorisanju limfnih čvorova, tj. u njihovoj kliničko-radiološkoj ili patohistološkoj kategorizaciji. Klinički i radiološki isključeni limfni čvorovi su klasifikovani u I i II stadijumu, dok je u III stadijumu nemoguće klinički odrediti broj metastaza, te se stoga koristi patološka klasifikacija. Za IV stadijum bolesti takođe nemamo kliničku subklasifikaciju (Tabela 2).

Biopsija sentinel (stražarskih) limfnih čvorova umnogome je pridonela razumevanju prirodnog metastaziranja melanoma, te je na osnovu toga došlo do promena u planiranju lečenja, samoj dijagnostici bolesti i planiranju kliničkih studija.

1.5.2. Prognostički faktori

1/Stadijum I i II

AJCC-analiza 13.581 bolesnika sa lokalizovanim primarnim melanomom je pokazala da debljina tumora i prisustvo ulceracije imaju najvažniji prediktivni značaj u preživljavanju, zatim su tu dugi prognostički faktori dob, pol i Klarkova dubina invazije melanoma. Kasnijom analizom 4.750 bolesnika iz AJCC-ove baze podataka kod kojih je HP analizom limfnih čvorova dokazan I i II stadijum, najvažniji prediktivni faktori preživljavanja su bili: odsustvo limfnih metastaza, a dubina invazije po Klarku i pol su izgubili tu važnost (Balch CM. i sar., 2001). Odnos preživljavanja i debljine tumora je obrnuto proporcionalan, a sama debljina tumora je povezana sa zahvaćenošću limfnih čvorova metastatskom bolešću i samim tim se pravi trijaža pacijenata kod kojih će se uraditi sentinel biopsija. Kod debljih tumora postoji češća pojava lokalnog recidiva, in-transit metastaza i satelitskih sekundarnih depozita.

Prisustvo ulceracije makroskopski ili mikroskopski povezano je sa češćom pojavom kako recidiva bolesti, tako i sa češćom pojavom metastaza, bilo da su lokoregionalne ili udaljene, što dovodi do zaključka da je preživljavanje kod melanoma kod kojih su prisutne ulceracije manje nego kod neulcerisanih tumora. Pri ovome treba voditi računa da je ulceracija kod tumora tanjih od 1mm manja od 6%, što potvrđuje značaj u otkrivanju melanoma u ranoj fazi i njegovog hirurškog lečenja kao značajan faktor prognoze u ukupnom preživljavanju. Kod ove debljine melanoma do 1 mm se kao dodatan prognostički faktor koristi dubina invazije prema Klarku, tako da je u TNM klasifikaciji kod T1 tumora uvrštena i dubina invazije (Balch CM. i sar., 2001).

Bolesnici sa melanomom T1a zastupljeni su u 75% slučajeva u svetu, a njihovo petogodišnje preživljavanje je 95%, dok je petogodišnje preživljavanje kod T1b oko 91%. Ukupno preživljavanje je obrnuto proporcionalno stadijumima bolesti, tako je petogodišnje preživljavanje oko 45%, a desetogodišnje 32% kod T4b tumora, reč je o lokalno uznapredovalim tumorima bez limfatičnih metastaza (Balch CM. i sar., 2001). Dalje, u prognozi melanoma značajnu ulogu imaju životna dob, pol, lokalizacija primarnog tumora, vrsta rasta, regresija melanoma, DNK ploidnost i mitotički indeks.

Prema AJCC-ovoj bazi podataka, kod starijih pacijenata tumori su obično bili: deblji, sa prisutnim ulceracijama, makroskopski vidljivim, lokalizovani na glavi i vratu, više kod muškaraca nego kod žena i muškarci preko 60 godina starosti su imali slabije preživljavanje nego mlađi muškarci (Ackerman L. i Del Regato J., 1954; Balch CM. i sar., 1970; Balch CM. i sar., 2001; Balch CM. i sar., 2003). Lokalizacija tumora na grudnom košu, glavi i vratu ima lošiju prognozu nego tumori na ekstremitetima (Schuchter L. i sar., 1996). Što se tiče histopatologije melanoma, a na osnovu obrađene velike baze podataka, lentigo maligna ima nešto bolju prognozu od ostalih histoloskih tipova (Balch CM., 1992). Dezmodoplastični neurotropni melanom ima češću pojavu recidiva nakon ekscizije od drugih melanoma [11%] iste debljine (Quinn MJ. i sar., 1998). Ukoliko je limfocitna infiltracija melanoma kože po tipu BRISK infiltrata, tada bolest ima bolju prognozu, posebno kod melanoma tanjih od 1,5 mm (Balch CM. i sar., 2001). Aneuploidija DNK određena protočnom citometrijom ima lošiju prognozu (Kheir SM. i sar., 1988). Lošija prognoza se pripisuje i vertikalnoj fazi rasta.

2/III stadijum

U ovom stadijumu bolesti, bolesnici imaju metastaze u regionalnim limfnim čvorovima i/ili in-transit metastaze. Petogodišnje preživljavanje kod ovih pacijenata je oko 69% za one koji imaju neulcerisani tumor i jednu HP verifikovanu metastazu, a oko 13% za ulcerisane tumore sa više od četiri metastaze (Balch CM. i sar., 2001).

3/IV stadijum

Kod ovog stadijuma bolesti pacijenti su sa udaljenim metastazama (visceralni organi), a uzimaju se u obzir i lokalizacije metastaza i povišene vrednosti serumske laktat dehidrogenaze /LDH/. Ovde je važno navesti i da dužina remisije ima statistički značajnu ulogu u preživljavanju, tako da remisija od 12 meseci ima značajno bolje

ukupno preživljavanje od kraćih remisija kod pojave metastaza. Generalno, pacijenti u IV stadijumu bolesti imaju znatno lošije preživljavanje: jednogodišnje od 40 do 60%, a petogodišnje manje od 15% (Balch CM. i sar., 2001; Barth A. i sar., 1995).

Imprint citologija

Metoda otiska, ili imprint citologija, primenjuje se kao metoda izbora za primarni tumor ali i za metastaze, a danas i za sentinel-čvorove, što nije slučaj kod nas. Tumor ili metastatski limfni čvor se prereže i sa prerezane površine se uzme otisak, tako što se pažljivo pritisne na predmetno staklo. Preparati se boje brzom tehnikom i odmah analiziraju, da bi se rezultat javio u hiruršku salu nakon desetak minuta.

1.6. LEČENJE MELANOMA

- A) hirurgija
- B) radioterapija
- C) hipertermijska izolovanana perfuzija i izolovana infuzija ekstremiteta
- D) hemioterapija i biohemioterapija
- E) imunoterapija, genska i hormonska terapija

1.6.1. Hirurško lečenje melanoma

Hirurgija je i dalje osnovni vid lečenja melanoma, sa ciljem da se suspektne tumorske promene odstrane u celosti i da se na taj način postigne trajna lokalna kontrola bolesti, bez obzira na mogućnost pojave tumora na drugim delovima tela. Hirurška intervencija mora biti dovoljno radikalna da bi se sve maligne ćelije uklonile, ali i poštena kako bi kozmetički efekat bio zadovoljavajući, a funkcionalna oštećenja minimalna.

Hirurško lečenje podrazumeva:

- A) hirurško lečenje primarnog melanoma kože (stadijum 0, I i II bolesti)
- B) uloga SLČB u lečenju melanoma
- C) hirurško lečenje regionalne bolesti (stadijum III)
- D) hirurško lečenje metastatske bolesti (stadijum IV).

1.6.1.1. Hirurško lečenje primarnog melanoma kože (stadijum 0, I i II)

Prema TNM klasifikaciji bolesti primarni melanom kože je lezija bez zahvaćenosti limfatika i visceralnih organa, a hirurgija je terapija izbora.

Hirurgija podrazumeva:

A1) *ekscizionu biopsiju*

A2) *terapijsku eksciziju melanoma kože*

A1) *Ekscizionu biopsija*

Podrazumeva eksciziju na melanom suspektne kožne tu lezije, koja se radi u lokalnoj ili opštoj anesteziji, preparat se šalje na standardan HP pregled i na osnovu definitivnog histopatološkog nalaza se pacijent prikazuje konzilijumu za melanoma koji donosi odluku o daljem lečenju (reekscizija ožiljka, SLČB ili praćenja pacijenta u određenim vremenskim intervalima).

A2) *Terapijska ekscizija melanoma kože*

Savremena doktrina hirurškog lečenja melanoma kože se bazira na produženju života obolelih, zadovoljenju kozmetskih i funkcionalnih efekata, a samim tim poboljšanju kvaliteta života.

- Melanom in situ (Tis)

Leči se ekscizijom tu lezije, okolne kože i potkožnog tkiva do fascije sa slobodnim ivicama kože od 0,5 cm uz histopatološku kontrolu.

- Ekscizija invazivnog melanoma debljine ≤ 1 mm

Slobodne ivice resekcije uz HP kontrolu moraju biti 1 cm uz eksciziju potkožja do fascije.

- Ekscizija melanoma debljine > 1 mm i ≤ 2 mm.

Nijedna dosadašnja studija nije utvrdila veličinu slobodnih ivica ekscizije kod melanoma ove debljine, a podaci variraju od 1 do 2 cm, zajedno sa potkožjem do fascije.

- Ekscizija melanoma debljine > 2 mm i ≤ 4 mm.

Ekscizija ove debljine melanoma sa slobodnom ivicom resekcije je 2 cm, zajedno sa potkožjem do fascije.

- Ekscizija primarnog melanoma debljine > 4 mm.

Preporučena veličina slobodnih ivica kod melanoma debljih od 4 mm je od 2 do 3 cm prilikom čega se posebno mora voditi računa o funkcionalnom i kozmetskom efektu.

Kada se dijagnoza melanoma postavi u najranijima fazama bolesti, hirurško lečenje iz navedenog opisa je jednostavno - tumor se ekscidira zajedno sa okolnom kožom i potkožnim tkivom jednostavnim eliptičnim rezom 0,5-2 cm i operativna rana se zatvara najčešće primarnom suturom. Kozmetski i funkcionalni efekti su uglavnom zadovoljavajući, a komplikacije neznatne. Rez se mora pre operacije pažljivo isplanirati, prilikom čega limfna drenaža mora ostati neoštećena. Anatomska lokalizacija, tkivna elastičnost, prokrvljenost lokalnog tkiva i sposobnost zarastanja rana samo su neki od faktora koji određuju veličinu i oblik hirurškog reza. Ekscizijom se odstranjuju uz tumor i okolna koža, potkožno tkivo, do fascije. Opravdanost odstranjivanja fascije ili subfascijalnog tkiva, mišića, kosti, neurovaskularnih elemenata nije potvrđena ukoliko ne postoji invazija istih, ali se tada ne radi o primarnom melanoma kože.

Ne treba zanemariti ulogu plastičnog hirurga kod hirurških intervencija gde ranu nije moguće primarno zatvoriti. Tada se koriste različite metode režnjeva ili transplantata, a sve u cilju što boljeg kozmetskog i funkcionalnog efekta. Preporučljivo je prilikom rekonstrukcije koristiti što jednostavnija rešenja (Ross MI. i Balch CM., 1998).

1.6.2. Uloga slčb kod lečenja melanoma

Sentinel ili stražarski limfni čvor predstavlja čvor koji prima aferentnu limfnu drenažu iz malignog tumora. Metoda intraoperativnog mapiranja sentinel limfnog čvora doživljava svoju punu primenu kod melanoma, što je omogućilo da se rade selektivne disekcije regionalnih limfnih čvorova umesto do tada elektivnih, koje su uglavnom odbačene u većini svetskih centara kao i kod nas (Morton, DL. i sar. 1992).

Jedan od najvažnijih pomaka u lečenju primarnog melanoma kože nastao je uvođenjem obeležavanjem limfnih čvorova i biopsijom limfnih čvorova-stražara (SLČB). Od kada je značajan rad Mortona i saradnika objavljen 1992. godine pa do danas, načinjene su brojne kliničke studije koje su preciznije definisale korist SLČB tehnike (Morton DL. i sar., 1992; Zagarella S. i sar., 2015; Moser J. i sar, 2016). Osnovno je da se identifikuju pacijenti koji imaju subkliničke nodalne metastaze, a sa minimalnim morbiditetom (Cadili A. i Dabs K., 2010; Han D. i sar., 2012); Sladden M. i sar. 2015). SLČB status je inkorporiran i u najnoviju reviziju Američkog Združenog Komiteta za Kancer (American Joint Comitee on Cancer (AJCC)) i stažiranje melanoma

kože (Gershenwald JE. i sar, 2010; Balch CM. i Gershenwald JE., 2014; Balch CM. i sar., 2015). Generalno je prihvaćeno da je kod pacijenata sa melanomom kože debljine 1-4 mm po Breslovu, rizik okultnih metastaza dovoljno veliki i da zahteva SLČ biopsiju.

Međutim, ostala je kontroverza u vezi pacijenata čiji je melanom tanji od 1 mm, iako se zna da je prognostički značaj pozitivnosti SLČB kod pomenute grupe pacijenata veliki jer je petogodišnje preživljavanje lošije kod nađene okultne nodalne bolesti (Han D. i sar., 2012; Hunger RE. i sar, 2015). Naime, incidencija melanoma kože porasla je za poslednjih nekoliko dekada brže nego incidencija bilo koje druge maligne bolesti. Od toga, 70% novih slučajeva melanoma čine tanke lezije, tj. tumori čija je debljina manja od 1 mm (McKinnon JG. i sar., 2003; Gimotty PA. i sar., 2004; Yamamoto M. i sar., 2015) što u apsolutnom broju čini značajan broj pacijenata. S druge strane, ako se nekritički SLČ biopsije prošire i na sasvim tanke melanome, smatra se da je takvo stažiranje i lečenje pacijenata ekonomski neopravdano i da se troškovi lečenja neopravdano uvećavaju za više stotina hiljada dolara po pacijentu u Sjedinjenim državama (Farries MB. i sar., 2010). Ako je tumor debljine 0,76 mm-1,0 mm po Breslovu, postoji SLČ pozitivnost u 12,8% slučajeva (Vermeeren L. i sar., 2010; Han D. i sar., 2012).

U pokušaju da se jasno identifikuju pacijenti sa melanomom kože <1 mm po Breslovu koji bi imali korist od SLČ, najnovije studije su se fokusirale na druge karakteristike samog tumora kao i karakteristike samih pacijenta. To su: starost, pol, prisustvo ulceracije, mitotski indeks, nivo po Klark-u, prisustvo regresije i limfovaskularne invazije i lokalizacije primarnog tumora (Gershenwald JE. i sar, 2010; Sekula-Gibbs SA i Shearer MA, 2011; Thomson JF. i Ollila DW., 2011; Ross K. i sar., 2013). Novije studije su pokazale da je pored debljine tumora po Breslovu, važan i uzrast pacijenta, broj mitoza u primarnom tumoru, lokalizacija kao i limfovaskularna invazija (Farries MB. i sar., 2010; Sondak VK. i sar., 2004). Faktori koji su značajni za predviđanje pozitivnosti SLČ biopsija se razlikuju od centra do centra.

Dugogodišnje iskustvo i SLČ biopsije u mnogim centrima, rezultovale su objavljivanjem petogodišnjeg rezultata Multicentrične Selektivne Limfadenektomije, kliničkom studijom (Multicenter Selective lymphadenectomy Trial (MSLT-1) (Morton DL. i sar., 2006). Rezultati su kontroverzni jer studija nije pronašla prednost u

preživljavanju pacijenata kojima je rađena SLČ biopsija nakon 5 godina praćenja. Međutim, autori su primetili bolji ishod kada je u pitanju period bez bolesti (*disease free-survival*) čime je procedura SLČB bolja za ishod lečenja nego samo opservacija i čime se značajno doprinosi boljem kvalitetu života pacijenata. Protivnici obavljanja SLČ biopsija (Tojresen I., 2013) smatraju da “ne postoji jasan dokaz da će SLČ biopsije poboljšati ishod lečenja”, kao i da postoje postoperativne komplikacije. Ipak, s obziroma na najnovije AJCC preporuke, procedura SLČ biopsija ima veliki broj pristalica. Čak, dr Vernon Sondak, učenik Donalda Mortona, lekara koji je razvio SLČ procedure, smatra da se SLČ biopsija preporučuje za pacijente sa intermedijarnom debljinom melanoma i treba je razmotriti za pacijente sa debljim melanomom kao i strogo definisanom grupom rizičnih tankih melanoma (Sondak VK. i sar., 2004; Egger ME. i sar., 2016). Prema rezultatima studije dr Hana i saradnika iz 2012 godine - 8,4% pacijenata sa melanomom debljine primarnog tumora $\geq 0,76$ mm imalo je pozitivnost SLČ biopsija. Prema Han-u, SLČ biopsija je indikovana za melanome $\geq 0,76$ mm gde je broj mitoza najmanje 1/mm² kao i ako postoji ulceracija (Han D. i sar., 2012).

Dve velike i važne kliničke studije, Mulicentrični Selektivni Limfadenektomija Trajal I i II (engl. *Multicenter selective Lymphadenectomy Trial, MSLT*) (Morton i sar., 2014,; Faries i sar., 2017) su pokazale da disekcija regionalnih limfnih čvorova kod pozitivnog sentinela povećava stopu regionalne kontrole bolesti sa dužim intevalom bez relapsa bolesti, ali ne utiče na duže preživljavanje specifično za melanom kod bolesnika s melanomom i metastazama u sentinel- limfnom čvoru (Faries i sar., 2017).

Disekcija regionalnih limfnih čvorova ima dvostruki značaj:

- dijagnostički
tako se vrši staziranje bolesti, a na osnovu prisustva, odnosno odsustva metastaza u limfnom čvoru, koje se mogu potvrditi jedino hp analizom ekstirpanog čvora. Na taj način se dobija jedan od najznačajnijih prognostičkih faktora bolesti.
- terapijski
uklanjanjem metastatski zahvaćenog limfnog čvora se sprečava dalje širenje bolesti.

Koncept mapiranja i provere stražarskih limfnih čvorova ima za cilj da omogući:

- ranu i preciznu histološku dijagnostiku klinički nezahvaćenih limfnih čvorova (N0)
- detekcija limfnih čvorova stražara koji nisu dostupni standardnim operacijama (druga drenažna područja)

- detekciju mikrometastaza manjih od 2 mm (ptN1mi) koje bi standardnim histološkim postupcima mogle da budu neprepoznate
- smanjenje učestalosti ranih i kasnih postoperativnih komplikacija - morbiditeta koji se javlja posle disekcije.

Mapiranje stražarskog limfnog čvora se vrši na dan operacije, injiciranjem u peritumorsko tkivo radioaktivnog koloida obeleženog tehnecijumom (Tc 99m) koji se specifično zadržava u limfnim čvorovima, a položaj "vrućih čvorova" (sentinel) detektuje se dinamskom limfoscintigrafijom (0, 15, 30, 60, 120 min.) i projekcija na koži se obeleži markerom. Hirurgija podrazumeva minimalnu inciziju kože, detekciju SLČ gama probom i njegovu ekstirpaciju i slanje na hp proveru, nakon čega se određuje strategija u daljem lečenju. Mapiranje se može vršiti i vitalnom bojom (metilen blue), peritumorskim subdermalnim injiciranjem na početku, obično desetak minuta pre hirurške intervencije. Boja se zadržava u SLČ koji se ekstirpira i šalje na hp proveru, nakon čega se na osnovu tražene analize pravi strategija u daljem lečenju (Ross MI. i sar., 1998; Hauschild A i Christopher E., 2001).

Indikacije za sentinel biopsiju na osnovu Nacionalnog vodiča iz 2014 godine kod melanoma kože su:

- kod klinički nepalpabilnih limfnih čvorova (N0), koji ni UZ nisu okarakterisani kao suspektni, i odsustvom udaljenih metastaza nakon ekscizije primarnog melanoma a
- kada je primarni melanom prema Breslovu 1 mm ili deblji,
- kod melanoma debljina manje od 1mm uz postojanje dodatnih faktora rizika: ulceracija, jedna ili više mitoz/mm² ili IV stepen invazije po Klarku slučajevima mikrosatelitoze u patohistološkom nalazu primarnog melanoma, iako ovi pacijenti pripadaju N2 stadijumu bolesti, radi potvrde N3 stadijuma

Najpouzdanije je mapiranje i biopsiju raditi neposredno pre operacije, jer naknadno može biti nepouzdana zbog moguće kompromitacije limfne drenaže kao i anatomskih struktura, korišćenjem različitih režnjeva u rekonstrukciji primarnog defekta. Najbolji rezultati u obeležavanju limfnih čvorova postignuti su na ekstremitetima zbog poznate limfne drenaže, a nepouzdana je na trupu, glavi i vratu zbog drenažnih puteva u više regija (Morton DL i sar., 1999; Porter GA. i sar., 2000; Mayer T. i sar., 2002). SLČB se primenjuju kod svih melanoma debljine od 1-4 mm sa klinički negativnim

nalazom (nepalpabilnim čvorovima) u regionalnim drenažnim područjima. Na osnovu markiranja stražarskih čvorova određuje se i potvrđuje prisustvo mikrometastaza (metastatske lezije 0,2-2 mm u najvećoj dimenziji), na osnovu čega se donosi odluka o daljem lečenju.

U slučaju identifikacije mikrometastaza vrši se selektivna disekcija limfnih čvorova regije u kojoj je identifikovan. Makrometastaze su klinički palpabilni limfni čvorovi koji mogu i drugim metodama biti potvrđeni, najčešće ultrazvučno, prilikom čega se radi biopsija ex tempore HP verifikacija i u slučaju pozitivnog nalaza disekcija tog drenažnog područja. Iz opisanog se vidi da je terapija izbora, bez obzira na to da li se radi o mikrometastazi ili makrometastazi - disekcija regionalnih limfnih čvorova (Balch CM 2000; Galliot RC. i sar., 2006)

N-klasifikacija prema AJCC iz 2002. godine:

N1-jedan limfni čvor

a-mikrometastaza

b-makrometastaza

N2-2-3 limfna čvora

a-mikrometastaze

b-makrometastaze

c-in-transit/satelitske lezije bez metastatskih limfnih čvorova

N3-4 ili više metastatskih limfnih čvorova ili kombinacija in-transit/satelitskih lezija i metastatskih limfnih čvorova

Najčešće limfonodalne metastaze kod melanoma jesu u:

- aksilama
- vratu
- ingvinumu
- retroperitonealno duž ilijakalnih krvnih sudova

1.6.3. Drugi terapijski modaliteti u lečenju melanoma

Radioterapija se uspešno može primeniti i u palijativnom lečenju pacijenata s bolnim metastazama melanoma u kostima ili u cilju sprečavanja patološke frakture metastazom zahvaćene kosti. U cilju postizanja antidoloroznog efekta, aplikovanje doze od 8 Gy u jednoj frakciji efikasnije je u odnosu na aplikovanje doze koja je < 8 Gy.

Na osnovu procenjenih prognostičkih parametara, lečenje metastaza melanoma u CNS i kostima ima za cilj postizanje lokalne kontrole bolesti, postizanje antidoloroznog efekta, poboljšanje neurološkog statusa, kvaliteta života i ukupnog perioda preživljavanja.

Na ASCO sastanku juna 2013. godine objavljeni su rezultati Hendersonove studije u kojoj su pacijenti s kompletno resekovanim palpabilnim limfnim čvorovima metastatskog melanoma, postoperativno lečeni adjuvantnom radioterapijom ili samo praćeni. Zaključeno je da adjuvantna radioterapija znatno redukuje incidenciju relapsa u limfnim čvorovima, ali da nema značajnog uticaja na DFS i OS.

Adjuvantna terapija podrazumeva primenu sistemske terapije posle kompletne hirurške resekcije melanoma s velikim rizikom za relaps bolesti, bez obzira na to da li se radi o lokalizovanom melanomu (stadijumi I i II) ili metastatskom melanomu (stadijumi III i IV). Visokorizičnim pripadaju stadijumi IIC i III (A-C), kod kojih je procenat desetogodišnjeg preživljavanja manji od 50%, dok se stadijum IIA (prema NCCN) i IIB smatra melanomom srednjeg rizika (procenat desetogodišnjeg preživljavanja 50%–65%). Adjuvantna terapija ima za cilj da produži period bez bolesti (engl. disease free survival, DFS) i ukupno preživljavanje (engl. overall survival, OS) pacijenata.

Najveći broj prospektivnih randomizovanih studija ispitivao je terapijske efekte primene interferona- α u adjuvantnoj terapiji stadijuma IIB, IIC i stadijuma III, korišćenjem niskih, srednjih i visokih doza. U nedavno publikovanoj meta-analizi svih dosadašnjih studija nije, međutim, utvrđena značajna razlika u efikasnosti različitih doza, šema i dužine davanja interferona, te za sada o tome ne postoji jedinstvena preporuka. Nova generacija interferona je pegilovani interferon (PegIFN α 2b). Terapija interferonom- α i pegilovanim interferonom, ima znatne neželjene efekte, posebno kada se primenjuje u visokim dozama.

Dakarbazin (DTIC) je još uvek najčešće korišćeni citostatik u metastatskom melanomu i smatra se referentnim lekom za sistemsku hemioterapiju, uz stopu RR od 7.5-20% (kompletne remisije, CR 1%) i medijanom trajanja odgovora 2.5 meseca. Slična stopa RR i trajanja odgovora postiže se i monohemioterapijom derivatima nitrozoureje, cisplatinom, karboplatinom, vindezinom i temozolomidom.

Polihemioterapijskim režimom koji sadrži cisplatin, vindezin i DTIC (CVD) ostvaruje se, kod agresivne simptomatske bolesti, RR od 40%, bez uticaja na OS (A, Ia). Darthmouth režim koji sadrži cisplatin, dakarbazin, BCNU i tamoksifen (CDBT) ne postiže statistički značajno veći odgovor u odnosu na dakarbazin, uz izraženiju hematološku toksičnost.

Biohemioterapija, kombinacija IL-2 i/ili IFN- α sa citostatskim lekovima (DTIC, TMZ, fotemustin, cisplatin, karboplatin, vinblastin, paklitaksel ili docetaksel) ostvaruje veći RR bez produženja OS u odnosu na monohemioterapiju. Istovremeno je primećeno i značajno povećanje toksičnosti, te se ova terapija ne može preporučiti u svakodnevnoj praksi.

Najnovije terapijske strategije, kao što su imunoterapija (ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab), selektivni BRAF inhibitori (vemurafenib i dabrafenib), C-KIT inhibitori i MAPK/ERK kinaza (MEK) inhibitori (trametinib), pokazale su impresivnu antitumorsku aktivnost kod pacijenata s metastatskim melanomom. Ovi lekovi su znatno poboljšali stopu odgovora i/ili preživljavanje bolesnika koji su bili uključeni u prospektivne randomizovane studije.

Pre odluke o terapiji metastatskog melanoma, tumorsko tkivo, po mogućnosti metastatske lezije, trebalo bi testirati na određene genske mutacije (BRAF, NRAS, c-KIT kod melanoma kože i sluzokoža) koje pomažu u odabiru pacijenata za ciljanu (target) terapiju. Kod pacijenata sa BRAF V600 mutiranim melanomom, optimalan izbor za prvu liniju sistemske terapije (II, B) jesu ipilimumab, monoterapija BRAF inhibitorom ili kombinacija BRAF i MEK inhibitora. Faze III kontrolisane randomizovane studije okončane su odobravanjem vemurafeniba, dabrafeniba, trametiniba i ipilimumaba od strane FDA (engl. Food & Drug Administration) u Sjedinjenim Američkim Državama i Evropske agencije za lekove (engl. European Medicine Agency, EMA) (osim trametiniba) kod bolesnika sa uznapredovalim, neresektabilnim i/ili metastatskim melanomom kože (Novaković M i sar., 2014).

1.7. PRAĆENJE PACIJENATA NAKON OPERACIJE MELANOMA KOŽE

Melanom je primarno bolest mladih ljudi prosečne starosti oko 45 godina pri postavljanju dijagnoze. Protokol kontrolnih pregleda mora zadovoljiti rano dijagnostikovanje i lečenje recidiva bolesti. Studije su pokazale da nema razlike u preživljavanju pacijenata kod kojih je recidiv otkriven u ranom stadijumu putem radioloških pretraga i bolesnika kod kojih je recidiv otkriven fizikalnim pregledom. Izuzetno je važno praćenje bolesnika sa melanomom sprovoditi prema klinički definisanom protokolu kontrolnih pregleda.

U literaturi postoje različiti protokoli praćenja pacijenata sa melanomom, koji se razlikuju prema učestalosti kontrolnih pregleda i prema obimu dijagnostičkih pregleda. Opšte je prihvaćeno da su radi rane dijagnoze recidiva bolesti ili novog primarnog tumora neophodni kontrolni pregledi unutar prvih pet godina od inicijalnog lečenja. Nakon pete godine od inicijalnog lečenja preporučuju se kontrolni pregledi jednom godišnje do kraja života. Učestalost kontrolnih pregleda povećava se sa povećanjem debljine primarnog tumora, odnosno stadijumom bolesti (Stanec S i, Stanec Z., 2006; Džodić R, 2008).

Kontrolni pregledi pacijenata obolelih od melanoma obuhvataju sledeće metode: anamneza, fizikalni pregled, dermatološki pregled, laboratorijske analize i radiološke metode.

Stadijum 0 (melanoma in situ) i IA

Detaljna anamneza je osnov svakog kontrolnog pregleda. Pitanja su u vezi sa faktorima rizika za nastanak novog primarnog tumora ili simptome vezane za recidiv bolesti. Fizikalni pregled obuhvata pregled lokoregionalne regije, pregled cele kože i kožnih adneksa, genitalne organe i vidljive sluzokože. Pregledi se sprovode dva puta godišnje unutar prve dve godine, a potom jednom godišnje. Dermatološki pregled se preporučuje jednom godišnje zbog povišenog rizika od nastanka novog primarnog melanoma. Dermatoskopija, digitalna epiluminiscentna mikroskopija mogu pomoći u dijagnozi novog primarnog melanoma i značajne su za odvajanje i praćenje suspektne promene na koži. Pacijenti sa povišenim rizikom od primarnog melanoma (displastični nevus sindrom) zahtevaju dermatološki pregled dva puta godišnje (Stanec S i, Stanec Z., 2006; Poo-Hwu WJ i sar., 1999).

Stadijum IB i II

Anamneza i fizikalni pregled su sastavni deo kontrolnih pregleda. Posebnu pažnju treba posvetiti pregledu područja regionalne limfne drenaže uz načinjenu limfoscintigrafiju. Takve preglede je neophodno sprovoditi na 3 do 6 meseci unutar prve tri godine, nakon toga na 6 do 12 meseci tokom sledeće dve godine i nakon toga jednom godišnje. S obzirom na povišen rizik za nastanak novog primarnog melanoma, preporučuje se dva puta godišnje dermatološki pregled cele kože i adneksa. Pacijenti sa povišenim rizikom za nastanak novog primarnog melanoma zahtevaju dermatološke preglede na 3 do 6 meseci tokom prvih pet godina, a nakon toga jednom godišnje. Laboratorijski testovi (KKS, LDH, AST, ALT, AP, GGT) sprovode se na 3 do 6 meseci unutar prve tri godine, nakon toga na 6 do 12 meseci naredne dve godine, a nakon toga jednom godišnje. Jednom godišnje u ovom stadijumu je indikovano i Rtg pluća, UZ regionalnih limfnih čvorova i UZ abdomena. Ostale radiološke pretrage su indikovane samo u simptomatskih bolesnika (Poo-Hwu WJ i sar., 1999, Coit C i Ferrone CR., 2003).

Stadijum III

Anamneza i fizikalni pregled su sastavni deo kontrolnih pregleda. U sklopu anamneze potrebno je ispitati pacijenta o simptomima vezanim za najčešće udaljene metastaze (umor, učestale glavobolje, neurološki ispadi, gubitak telesne težine, poremećaj vida). Takođe je potrebno obratiti pažnju na simptome vezane za ređe udaljene metastaze (pojava krvi u stolici ili mokraći). Dermatološki pregledi se preporučuju na svakih 3 do 6 meseci tokom prvih pet godina, praćeni dopunskim neinvazivnim dijagnostičkim metodama. Nakon toga dermatološki pregledi se preporučuju jednom godišnje. Laboratorijski testovi se sprovode na 3 do 6 meseci tokom prve tri godine, nakon toga na 4 do 12 meseci tokom sledeće dve godine, a nakon toga jednom godišnje. Dva puta godišnje u ovom stadijumu je indikovano Rtg pluća, UZ regionalnih limfnih čvorova i UZ abdomena. Ostale radiološke pretrage su indikovane samo u simptomatskih bolesnika (Karakousis CP. i sar., 1991).

Stadijum IV

Uzimanje detaljne anamneze je sastavni deo kontrolnih pregleda i u IV stadijumu bolesti. Neophodno je obratiti pažnju na simptome vezane za udaljene metastaze bolesti (umor, učestale glavobolje, neurološki ispadi, gubitak telesne težine, poremećaj vida, pojava krvi u stolici ili mokraći). Posebnu pažnju treba obratiti na pregled regionalnog limfatičnog područja. Takvi pregledi se obavljaju na svaka 2 do 3 meseca. Dermatološki pregledi se preporučuju na svaka tri meseca i obuhvataju pregled cele kože i kožnih adneksa, genitalnih organa i vidljivih sluzokoža. Melanom najčešće metastazira u kožu i potkožno tkivo i u područje regionalne limfatične drenaže i u mozak. Laboratorijski testovi se sprovode na svaka tri meseca. Najčešći znak metastatske bolesti može biti izolovan porast LDH ili serumske alkalne fosfataze. Izolovani porast LDH je u korelaciji sa lošijom prognozom i kraćim preživljavanjem. Veoma je značajno i određivanje proteina S100B koji ima ulogu, ne samo u dijagnostici pacijenata sa melanomom, već i u monitoringu pacijenata u toku terapije. Naime, povećanje vrednosti ovog proteina javlja se tokom progresije bolesti, a smanjenja njegove vrednosti sreću se u regresiji bolesti (Abraha HD. i sar., 1997). Bez obzira na obećavajući potencijal S100B, postoje stanja u kojima se nespecifično povećava njegov serumski nivo, kao što su povrede bubrega ili jetre, metastaze različitih karcinoma u jetru i različite inflamatorne i infektivne bolesti. Dva puta godišnje je indikovano načiniti Rtg pluća, UZ regionalnih limfatika i UZ abdomena. Ostale radiološke metode (Rtg, UZ, CT, MR, PET, scintigrafija kostiju, endoskopski pregledi uz biopsiju i PH verifikaciju) indikovane su samo u simptomatskih bolesnika. Učestalost novog primarnog melanoma kod lečenih pacijenata iznosi od 2 do 6%. Incidenca je veća u pacijenata sa povišenim rizikom (displastični nevus sindrom) i/ili u pacijenata sa pozitivnom porodičnom anamnezom. Pojava recidiva je u korelaciji sa stadijumom bolesti. Dvadeset pet procenata bolesnika sa stadijumom I i II ima pojavu recidiva bolesti. In transit metastaze pojavljuju se kao prvo sedište recidiva u 2 do 38% pacijenata. Iako melanom može da metastazira u svaki organ, najčešća mesta metastaziranja su: pluća, mozak, jetra i gastrointestinalni trakt.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Glavni cilj ovog istraživanja je da se utvrde klinički prediktori kod pacijenata i klinički i patohistološki prediktori primarnog melanoma za prisustvo patohistološki verifikovanih metastaza u stražarskim (sentinel) limfnim čvorovima kod pacijenata sa melanomom kože i sa tankim melanomom kože po staroj (≤ 1 mm) i novoj klasifikaciji ($\leq 0,8$ mm).

Radi realizacije ovog cilja postavili smo dodatne ciljeve:

1. Prikazati demografske karakteristike pacijenata (uzrast, pol i lokalizacija tumora) i patohistološke parametre primarnog melanoma kože (prisustvo ulceracije, mitotski indeks, nivo po Klarku i Breslovu, prisustvo regresije i limfovaskularne invazije) kod pacijenata sa melanoma kože
2. Prikazati demografske karakteristike pacijenata (uzrast, pol i lokalizacija tumora) i patohistološke parametre primarnog melanoma kože (prisustvo ulceracije, mitotski indeks, nivo po Klarku i Breslovu, prisustvo regresije i limfovaskularne invazije) u grupi pacijenata sa tankim melanomom kože po staroj (≤ 1 mm) i novoj klasifikaciji ($\leq 0,8$ mm).
3. Utvrditi najznačajnije prediktivne parametre za prisustvo metastaza u stražarskom (sentinel) limfnom čvoru kod pacijenata sa melanomom kože.
4. Analiza ROC krive debljine melanoma po Breslovu i identifikacije patohistološki verifikovanih pozitivnih sentinel limfnih čvorova
5. Prikazati vreme do pojave lokalnog i/ili udaljenog relapsa bolesti pacijenata sa melanomom u odnosu na patohistološki status stražarskih limfnih čvorova i poznatih prediktora (uzrast, pol i lokalizacija tumora, prisustvo ulceracije, mitotski indeks, nivo po Klarku, prisustvo regresije i limfovaskularne invazije) u periodu praćenja.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. SELEKCIJA ISPITANIKA

U periodu od januara 2014. do decembra 2017. na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije u Beogradu je operisano 799 pacijenata sa primarnim kožnim melanomom. Na osnovu dostupnih podataka najveći broj pacijenata, njih 45,4% je imalo lokalizaciju primarnog kožnog melanoma na trupu, 27,3% na donjim ekstremitetima, 14,3% na gornjim ekstremitetima i 13% pacijenata na glavi i vratu. Iz ove grupe pacijenata u našu retrospektivnu studiju je uključeno 148 pacijenata prosečne starosti $53,9 \pm 15,1$ godina obolelih od primarnog melanoma kože (49% muškaraca, 51% žena) stadijuma I i II kod kojih je urađena biopsija stražarskog limfnog čvora lokoregionalnih limfatika.

Studija je planirana u skladu sa etičkim standardima datim u Helsinškoj deklaraciji (prema revidiranoj verziji iz 1983. godine) i u skladu sa pravilima Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu (broj etičke dozvole 29/IV-13 od 25.04.2016.god.). U studiju su bili uključeni pacijenti koji su primarno operisani zbog melanoma kože sa klinički nezahvaćenim limfnim čvorovima (N0). Pacijenti sa klinički uvećanim lokoregionalnim limfnim čvorovima (N1) ili udaljenim metastazama (M1) neće biti uključeni u ovu studiju.

Za određivanje značaja u predikciji pozitivnih sentinel limfnih čvorova analizirane su sledeće kliničko-patohistološke karakteristike pacijenata:

Kliničke karakteristike:

- uzrast – do 40 godina, preko 40 godina starosti
- pol
- lokalizacija tumora – ekstremiteti, trup, glava i vrat

Patohistološki parametri primarnog melanoma kože:

- debljina u milimetrima (Breslov)
- prisustvo ulceracije

- mitotski indeks
- nivo po Klarku
- prisustvo regresije
- prisustvo limfovaskularne invazije
- relaps bolesti (prisustvo lokoregionalnih ili udaljenih metastaza u periodu od poslednje kontrole bolesti u periodu praćenja)

3.2. DIJAGNOSTIKA

Svi pacijenti su dijagnostikovani i lečeni prema postojećem protokolu za dijagnostiku i lečenje melanoma kože, modifikovanom sa najnovijim preporukama za biopsiju stražarskog limfnog čvora AJCC od 2010. godine. (AJCC, 2010) Dijagnostika podrazumeva klinički pregled, ultrasonografiju abdomena i male karlice, rtg. pluća, laboratorijske analize krvi sa akcentom na hepatogram, kao i nalaz interniste kardiologa kao preoperativni zaključak, a kod pacijenata iz studije su rađeni još i limfoscintigrafija nanokoloidom Tc99m i injiciranje vitalne boje, metilen-plavo, pojedinačno ili kao kombinacije dve metode radi određivanja klinički ne palpabilnih regionalnih limfnih čvorova u aksili ili ingvinumu, kao prvih koji primaju metastazu iz primarnog tumora što određuje dalji tok lečenja.

Pre operacije sa pacijentima se obavlja informativni razgovor o injiciranju nanokoloida i/ili vitalne boje u dijagnostičke svrhe u sklopu hirurške procedure oko samog tumora ili mesta primarne ekscizije HP verifikovanog melanoma kože, kao i o toku same operacije koja zavisi od ex tempore histopatološke analize markiranog sentinel limfnog čvora.

Pacijent potpisuje opštu saglasnost za lečenje koja je u skladu sa zakonskim regulativama, saglasnost o mogućim komplikacijama hirurške intervencije. Takođe, potpisuje posebnu saglasnost za injiciranje nanokoloida.

3.3. HIRURŠKA PROCEDURA

Preoperativno se u okolinu primarnog tumora ili mesta primarne ekscizije ubrizgava 0,1ccm Tc99m nanokoloida, te se radi limfoscintigrafija u određenim

vremenskim intervalima (30 min, 60 min. i 120 min.). Na osnovu scintigrafskog nalaza pristupi se hirurškoj intervenciji, radikalnoj eksciziji primarnog melanoma kože ili reeksciziji ožiljka i regionalnim limfaticima (aksila ili ingvinum), gde se uz pomoć gama kamere identifikuje "vruć" sentinel, limfni čvor koji se ekstirpira i pošalje na ex tempore HP verifikaciju. Svi limfni čvorovi se pregledaju i na standardnim HE i IHH metodama. U slučaju potvrde metastaze, radi se disekcija limfnih čvorova u istom aktu ili po dobijanju definitivnog HP nalaza.

3.4. HISTOPATOLOŠKA PROCEDURA

Primarni melanom kože i reekscidirani ožiljak sa okolnom kožom, kao i svi limfni čvorovi se analiziraju na smrznutim preparatima (hematoxilyn eosin, HE) standardnim HE preparatima. Melanom poseduje čitav spektar histoloških osobina koje mogu da predstavljaju diferencijalno dijagnostički problem u odnosu na epitelne, hematološke, mezenhimalne i neuralne neoplazme, kao i pojedine benigne i reaktivne lezije.

Uloga histohemijske analize u dijagnostici melanoma se može podeliti na primenu imunohistohemijske analize primarnog melanoma, metastaza u sentinel limfnim čvorovima, regionalnim limfnim čvorovima i u udaljenim metastazama. U rutinskoj histopatološkoj dijagnostici koristiće se: S-100 antitelo koje pokazuje visoku senzitivnost (95%), ali malu specifičnost, HMB-45 i Melan A koji pokazuju veću specifičnost, ali manju senzitivnost od S-100.

Za detekciju klinički nepalpabilnih metastaza u sentinel limfnim čvorovima i u regionalnim limfnim čvorovima koristiće se Melan A i HMB-45 u odnosu na S-100 koji pored melanocita daje pozitivnost i u drugim ćelijama u limfnom čvoru i obzirom da je S-100 jedarno bojenje otežana je analiza jedarne morfologije. Upotreba antitela Ki-67 kao markera proliferativnosti u dijagnostici melanoma je značajna u dijagnostici retkih histoloških tipova melanoma (dezmoplastični melanom), kao i razlikovanja displastičnih high grade nevusa u odnosu na melanom. Pored navedenih antitela koja se rutinski koriste (obično kao panel antitela) koriste se i sledeća antitela Microphtalmia transkripcioni faktor, anti-tyrozinaza, NKIC 3, PNL-2 i MAGE.

3.5. STATISTIČKA ANALIZA

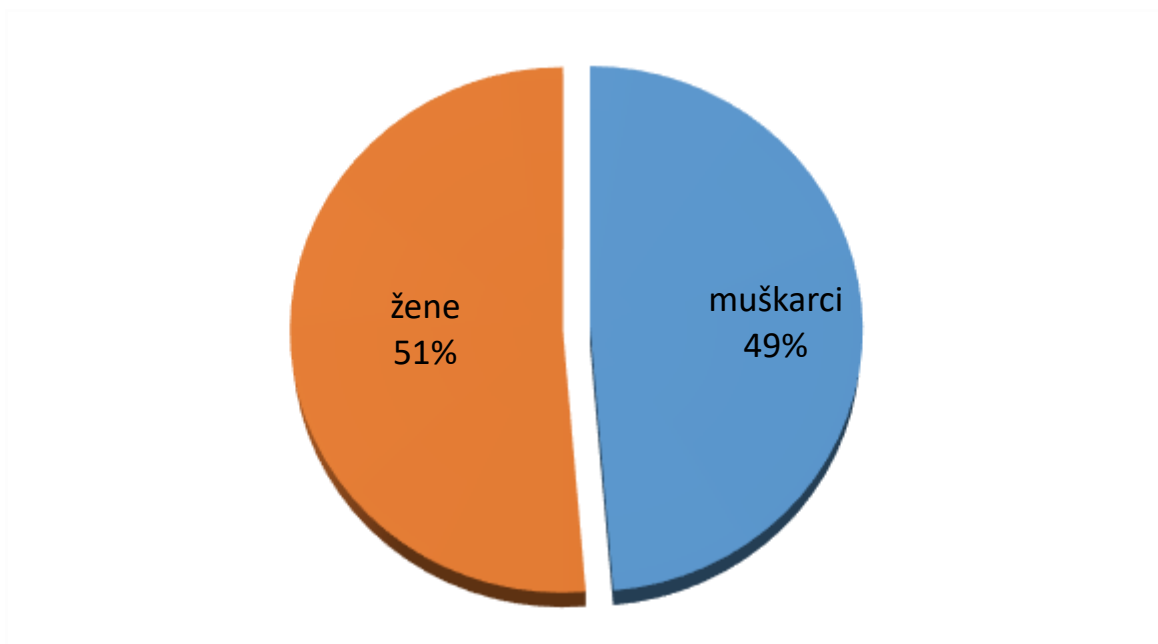
Za analizu primarnih podataka korišćene su deskriptivne statističke metode, metode za testiranje statističkih hipoteza, metode za analizu odnosa ishoda i potencijalnih prediktora i metode za analizu vremena do nastanka događaja od interesa. Od deskriptivnih statističkih metoda korišćene su mere centralne tendencije, mere varijabiliteta i relativni brojevi. Od metoda za testiranje statističkih hipoteza korišćeni su: hi-kvadrat test, Fisherov test tačne verovatnoće i MannWhitney test. Od metoda za analizu odnosa binarnih ishoda i potencijalnih prediktora korišćena je logistička regresija. Za analizu preživljavanja obolelih od melanoma kože korišćena je Kaplan Meierova metoda, za procenu funkcije do prvog relapsa ovih pacijenata u zavisnosti od pola, anatomske lokalizacije, debljine po Breslovu, prisustva ulceracije i mitotskog indeksa Log Rank test, a za pronalaženje nezavisnog prediktora relapsa kod osoba obolelih od melanoma univarijantni Coxov regresioni model sa 95% intervalom poverenja. Podaci su cenzorisani iz sledećih razloga: pacijent preživeo celokupan period praćenja ili je izgubljen iz evidencije. Za ispitivanje diskriminacionog potencijala faktora od značaja i njegovih graničnih vrednosti za dihotomni ishod, koristiće se metodologija ROC krive (eng, *Receiver Operating Characteristic curve*).

4. REZULTATI

4.1. PRIKAZ DEMOGRAFSKIH KARAKTERISTIKA PACIJENATA I PATOHISTOLOŠKIH PARAMETARA PRIMARNOG MELANOMA KOŽE

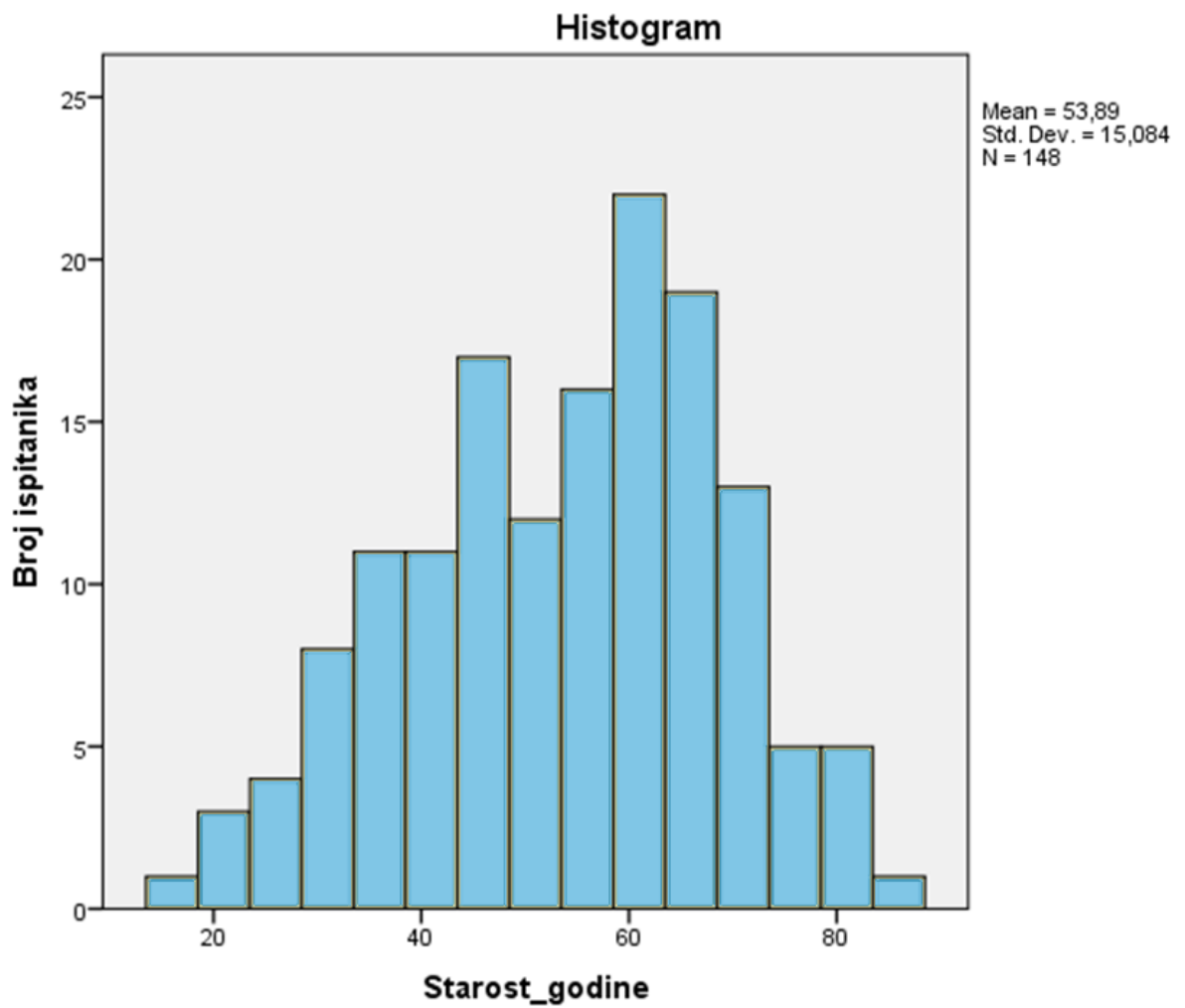
4.1.1. Demografske karakteristike pacijenata

U istraživanje je bilo uključeno 148 pacijenata od kojih je 72 (48,6%) je bilo muškog, a 76 (51,4%) ženskog pola (Grafikon 1).



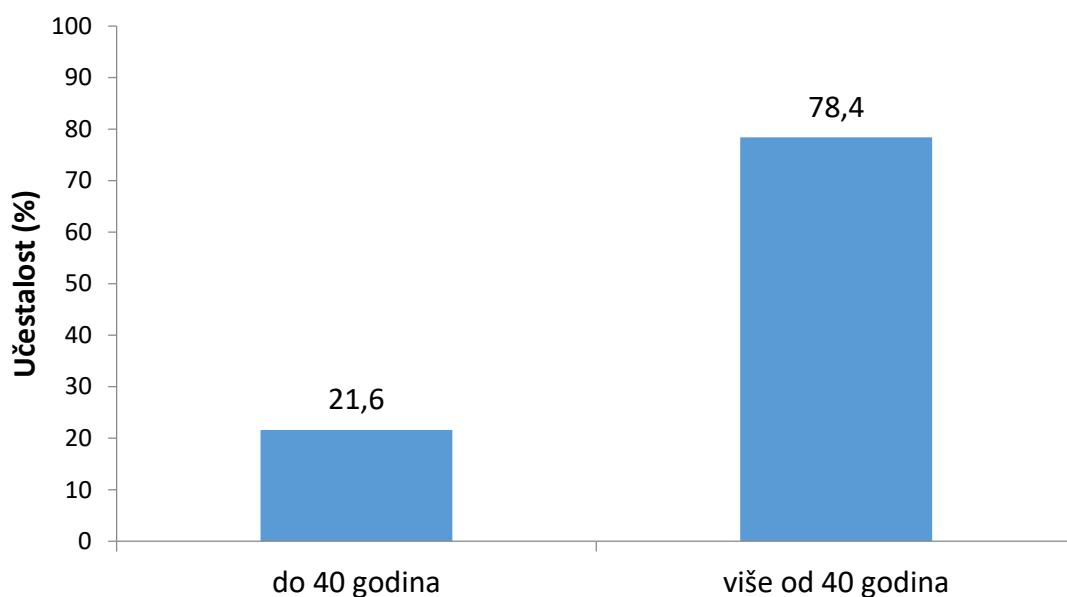
Grafikon 1. Polna struktura svih pacijenata uključenih u istraživanje

Prosečna starost svih pacijenata uključenih u istraživanje iznosila je $53,9 \pm 15,1$ godinu. Najmlađi pacijent imao je 16 a najstariji 85 godina (Grafikon 2).



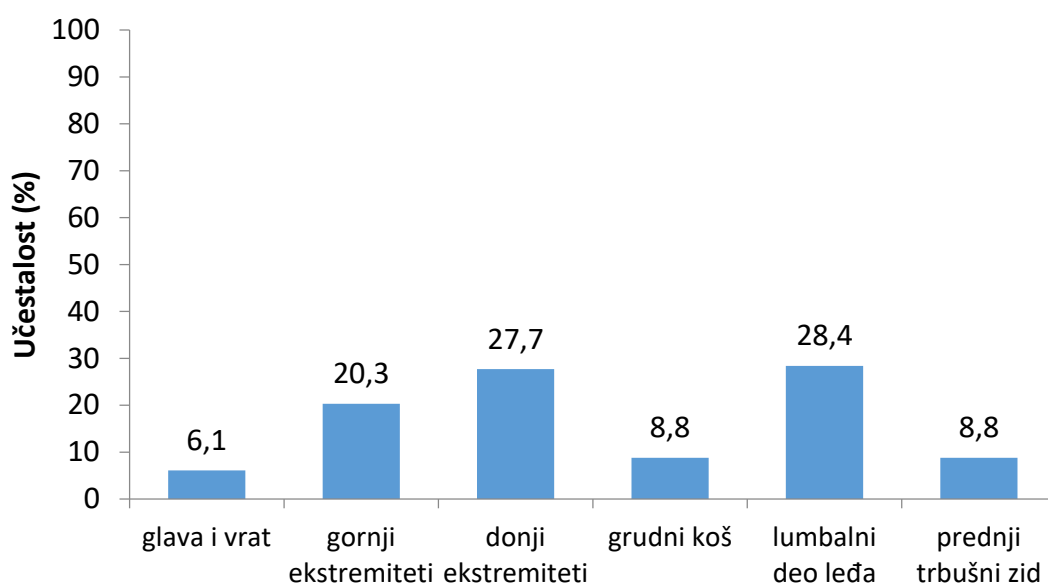
Grafikon 2. Histogram starosti svih pacijenata uključenih u istraživanje

Najveći broj pacijenata odnosno 116 (78,4%) je bio starosti preko 40 godina, dok je 32 (21,6%) pacijenata bilo mlađe od 40 godina (Grafikon 3).



Grafikon 3. Distribucija pacijenata prema kategorijama starosti

Lokalizacija primarnog tumora najčešće je bila na lumbalnom delu leđa (28,4%), kao i donjim ekstremitetima (27,7%), dok je na gornjim ekstremitetima lokalizaciju melanoma imalo 30 pacijenata (20,3%). Ostale lokalizacije su bile ređe zastupljene, grudni koš i prednji trbušni zid kod 13 pacijenata (8,8%) i glava i vrat kod 9 pacijenata (6,1%) (Grafikon 4)

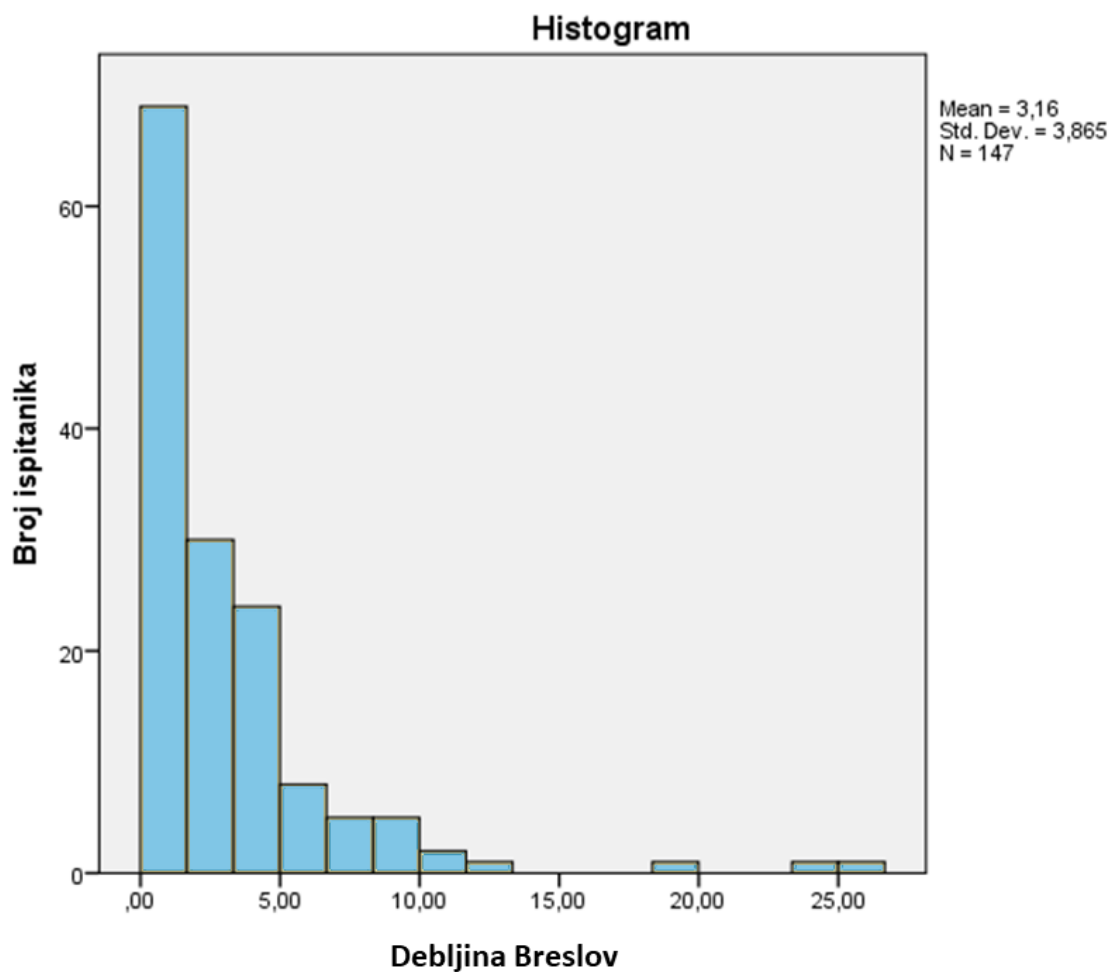


Grafikon 4. Distribucija pacijenata prema lokalizaciji primarnog tumora

4.1.2. Patohistološke karakteristike primarnog melanoma

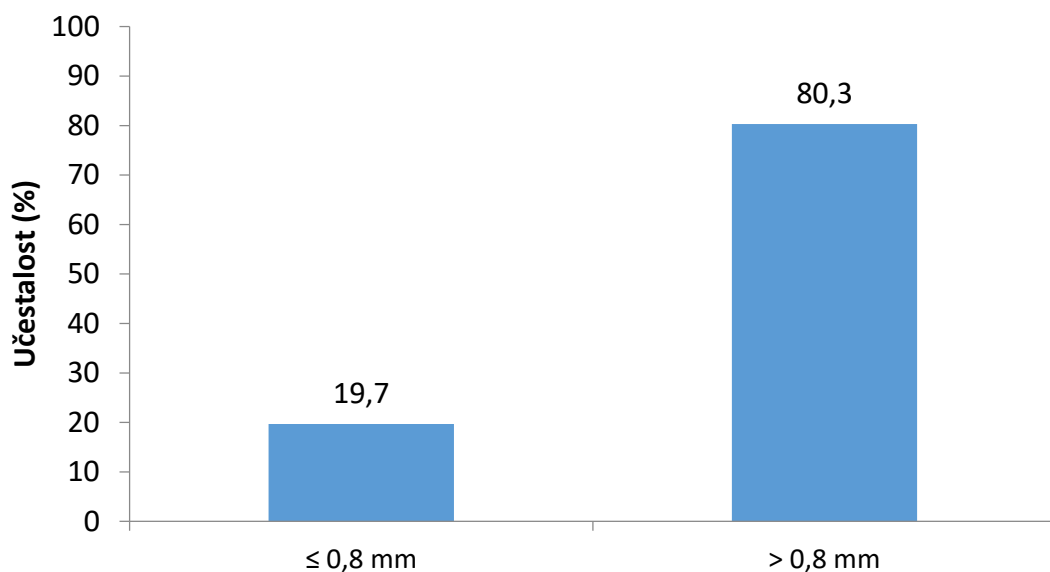
Debljina po Breslovu

Medijana debljine tumora po Breslovu iznosila je 1,8 mm (opseg, 0,1-26,2) (Grafikon 5).

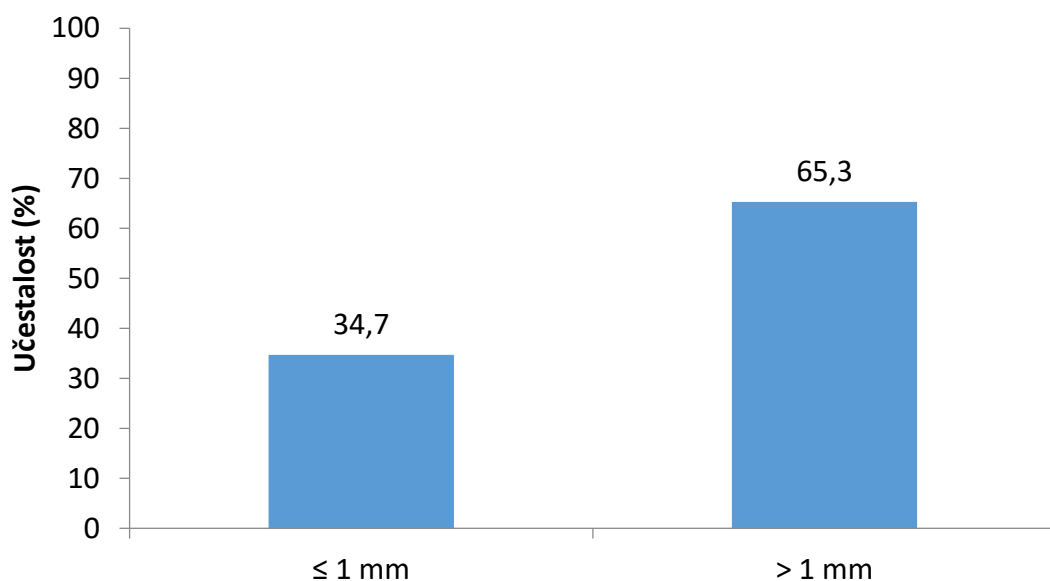


Grafikon 5. Histogram debljine melanoma po Breslovu svih pacijenata uključenih u istraživanje

Od 147 pacijenata sa podatakom o debljini primarnog melanoma po Breslovu, debljinu manju ili jednaku 0,8 mm imalo 29 (19,7) pacijenata (Grafikon 6), dok je debljinu manju ili jednako 1 mm imalo je 51 (34,7%) pacijenata (Grafikon 7).

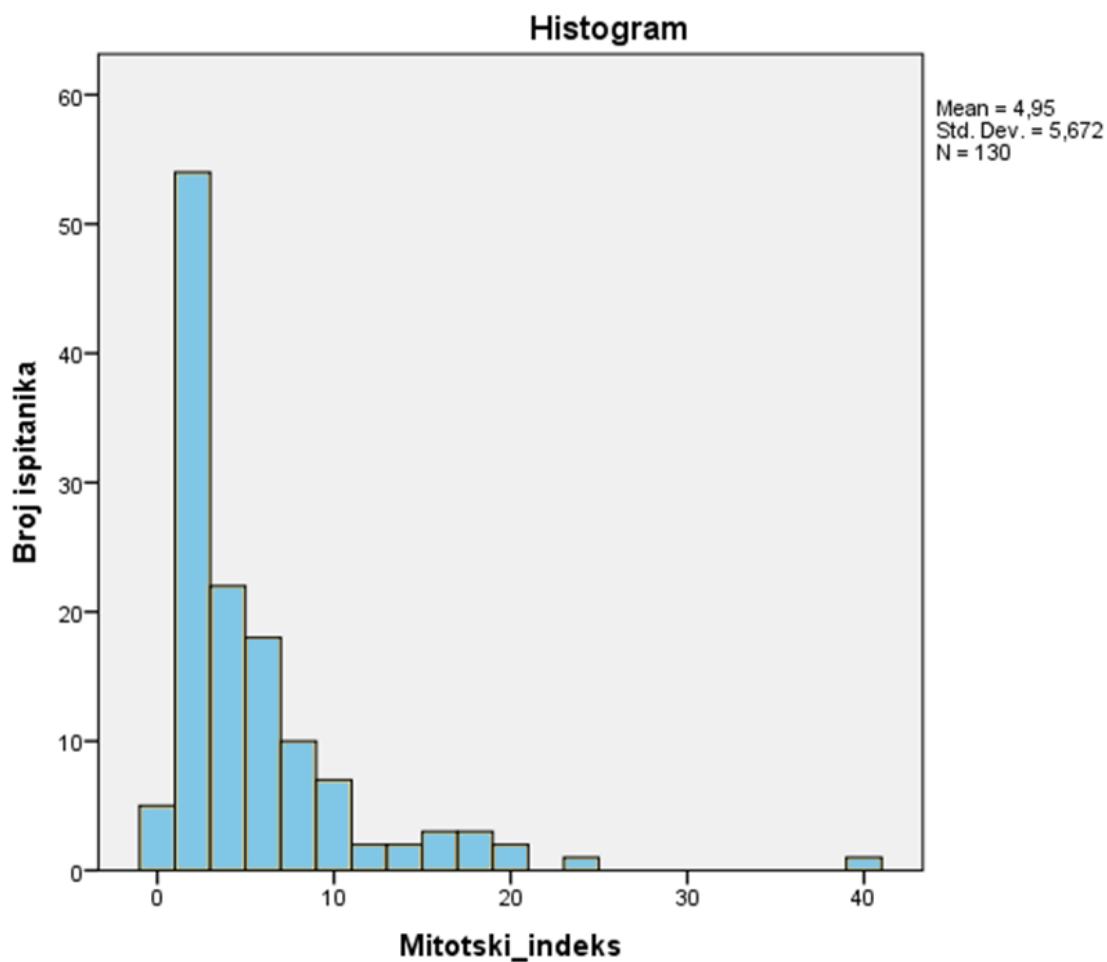


Grafikon 6. Distribucija pacijenata prema debljini po Breslovu po novoj klasifikaciji (≤0,8 mm).



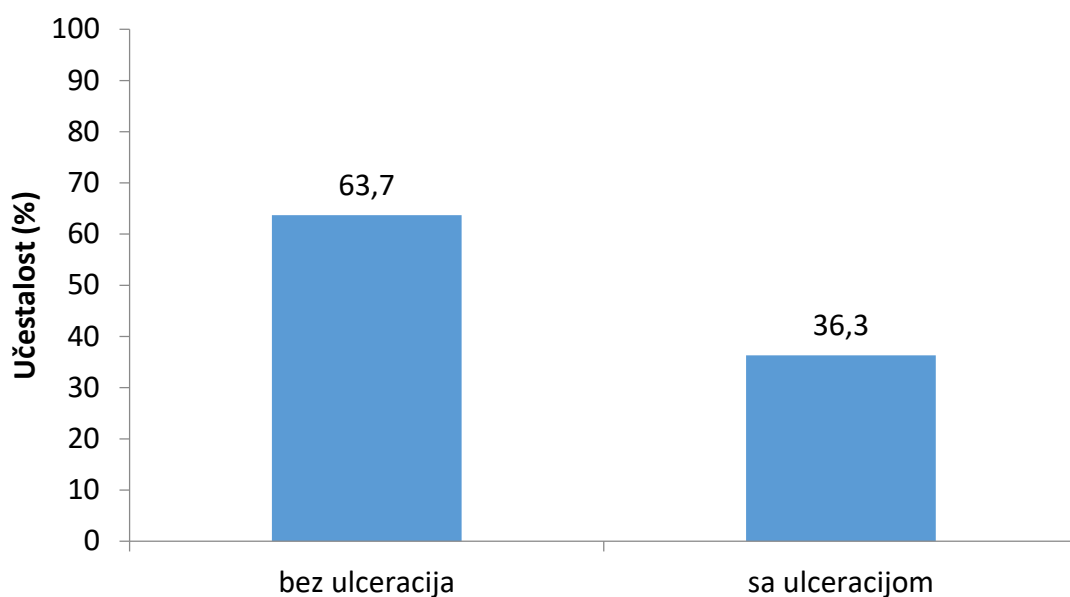
Grafikon 7. Distribucija pacijenata prema debljini po Breslovu po staroj klasifikaciji (≤1 mm).

Medijana mitotskog indeksa iznosila je 3 (opseg, 0-40) (Grafikon 8). Najveći broj pacijenata 88 (67,7%) imao je mitotski indeks 1-5, mitotski indeks > 6 je bio prisutan kod 37 (28,5%), a mitotski indeks 0 je imalo 8 (3,8%) pacijenata.



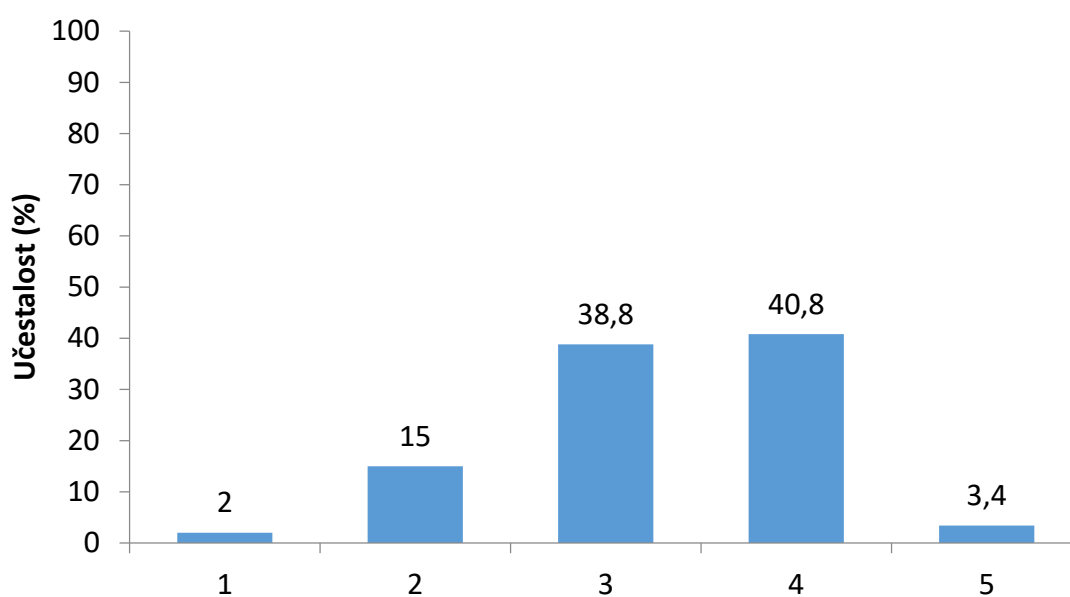
Grafikon 8. Histogram mitotskog indeksa kod pacijenata sa melanomom kože

Od 148 pacijenata, 135 ima u patohistološkom nalazu podatak o prisustvu ili odsustvu ulceracije na tumoru. Ulceraciju primarnog tumora imalo je 49 (36,3%) pacijenata (Grafikon 9).



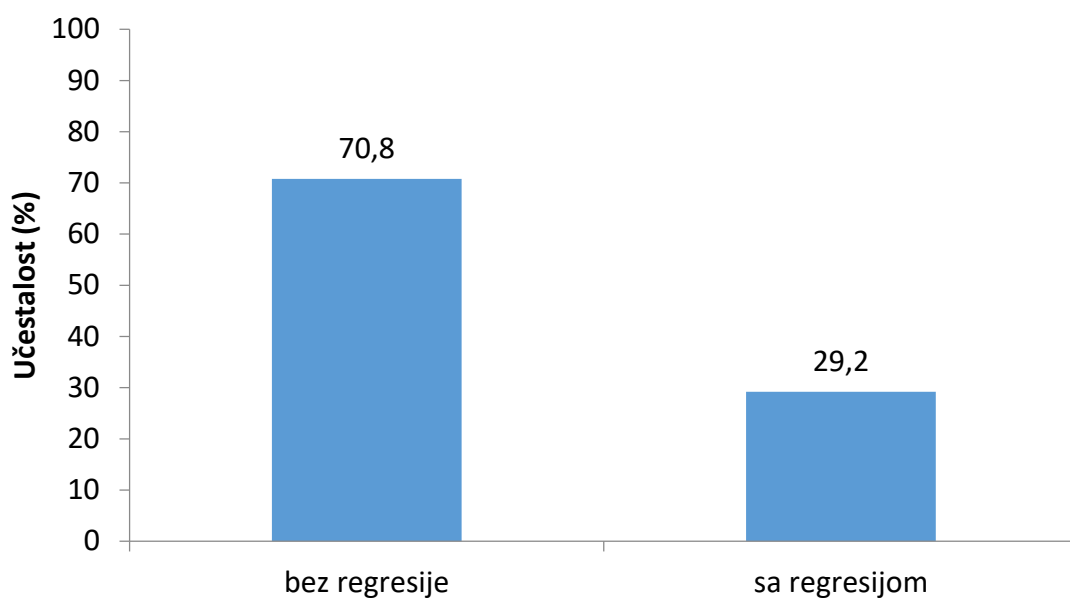
Grafikon 9. Distribucija pacijenata u odnosu na ulceraciju primarnog tumora

Pacijenti su najčešće imali 4 stepen debljine po Klarku (40,8%) (Grafikon 10).



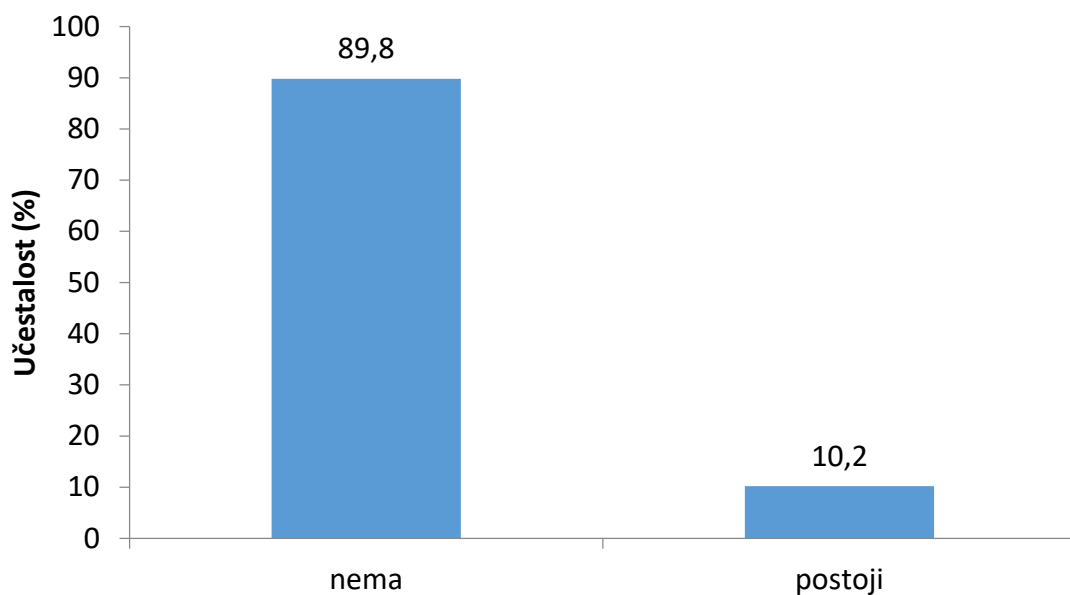
Grafikon 10. Distribucija pacijenata prema debljini po Klarku

Od 148 pacijenata kod 24 pacijenata postoji podatak o regresiji tumora od kojih je regresiju imalo 7 (29,2%) pacijenata (Grafikon 11).



Grafikon 11. Distribucija pacijenata prema regresiji tumora

Od 88 pacijenata sa podatakom o limfovaskularnoj invaziji, limfovaskularnu invaziju imalo je 9 (10,2%) pacijenata, a kod 79 (89,8%) nije bilo limfovaskularne invazije (Grafikon 12).

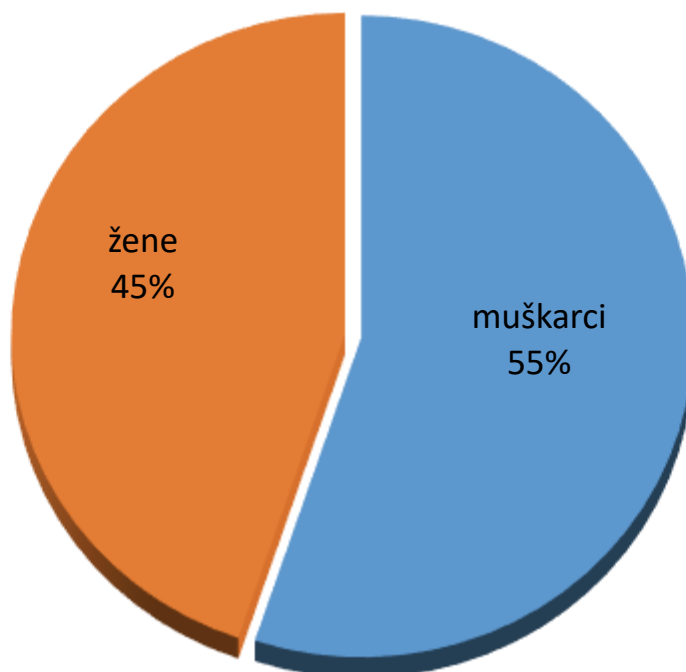


Grafikon 12. Distribucija pacijenata prema limfovaskularnoj invaziji

4.2. TANKI MELANOMI

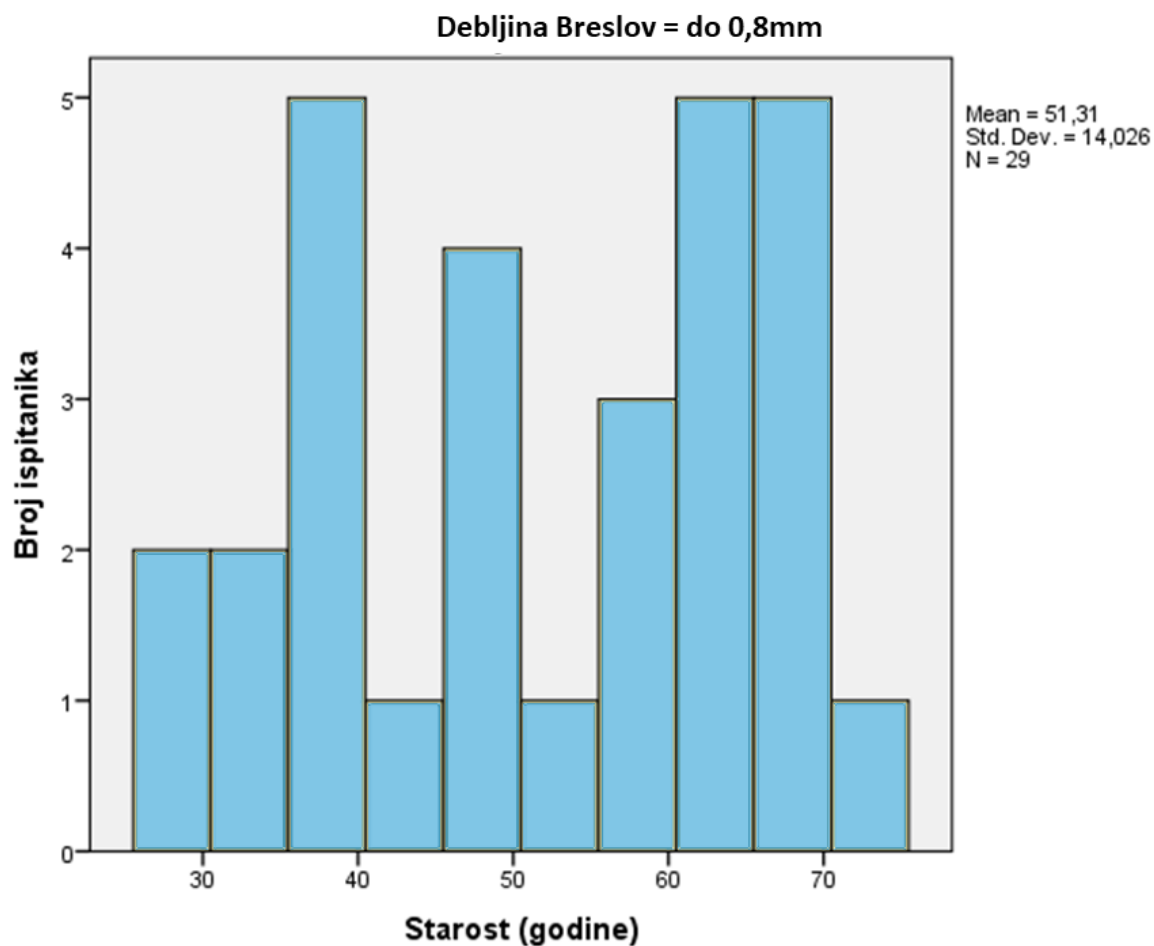
4.2.1. Prikaz demografskih karakteristika pacijenata i patohistoloških parametara primarnog melanoma kože debljine po Breslovu $\leq 0,8$

Pacijenata muškog pola sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu bilo je 16 (55,2%), dok je 13 (44,8%) pacijenata bilo ženskog pola (Grafikon 13).



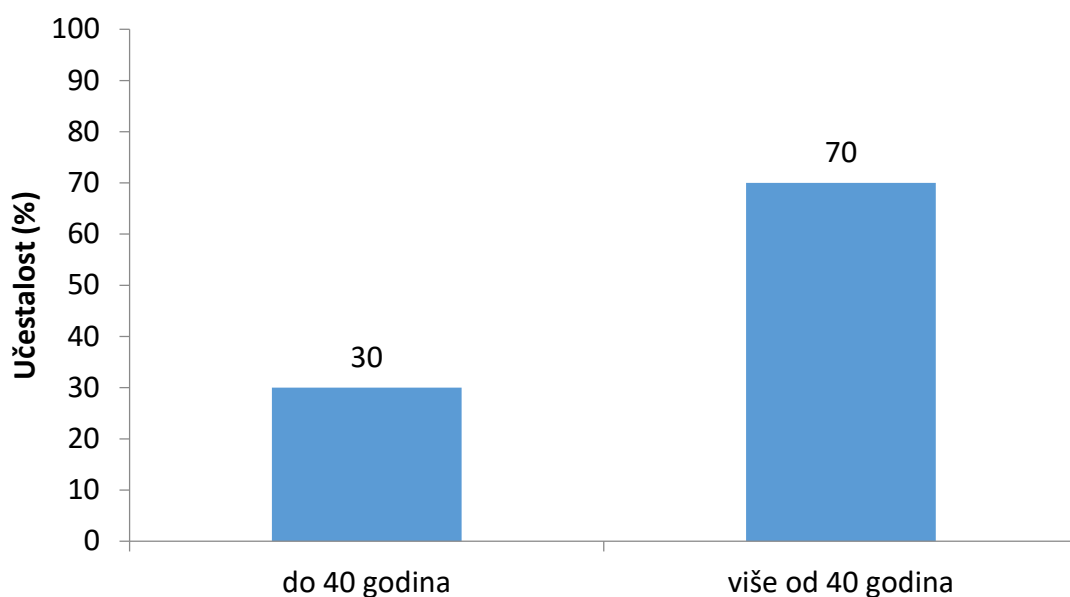
Grafikon 13. Polna struktura pacijenata sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu

Prosečna starost pacijenata sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu iznosila je $51,3 \pm 14,0$ godina. Najmlađi ispitanik imao je 28, a najstariji 71 godinu (Grafikon 14).



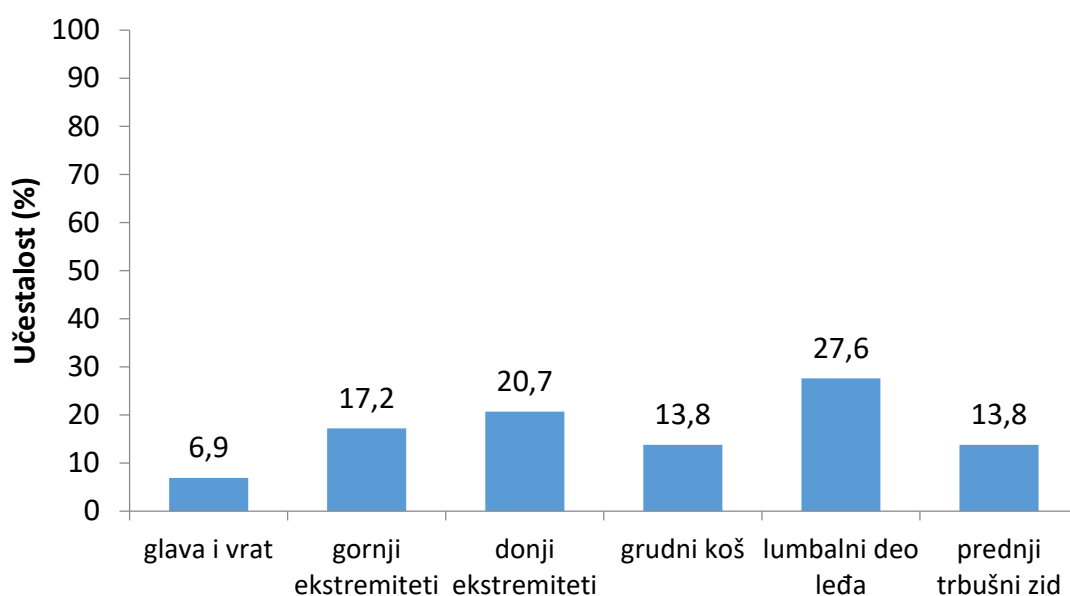
Grafikon 14. Histogram starosti pacijenata sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu

Do 40 godina starosti bilo je 9 (31,0%) pacijenata, dok je 20 (69,0%) bilo preko 40 godina starosti (Grafikon 15).



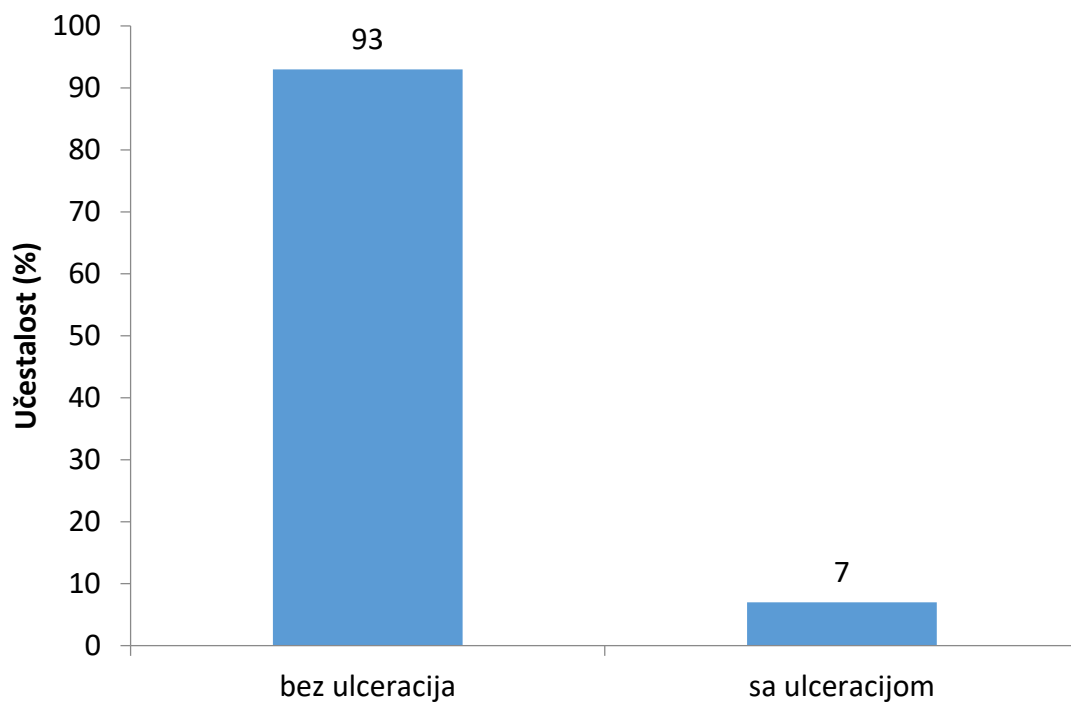
Grafikon 15. Distribucija pacijenata prema kategoriji starosti sa debljinom melanoma \leq 0,8 mm po Breslovu

Kod pacijenata sa debljinom melanoma \leq 0,8 mm po Breslovu, tumori su najčešće bili lokalizovani na lumbalnom delu leđa 8 (27,6%) i donjim ekstremitetima 6 (20,7%) (Grafikon 16).



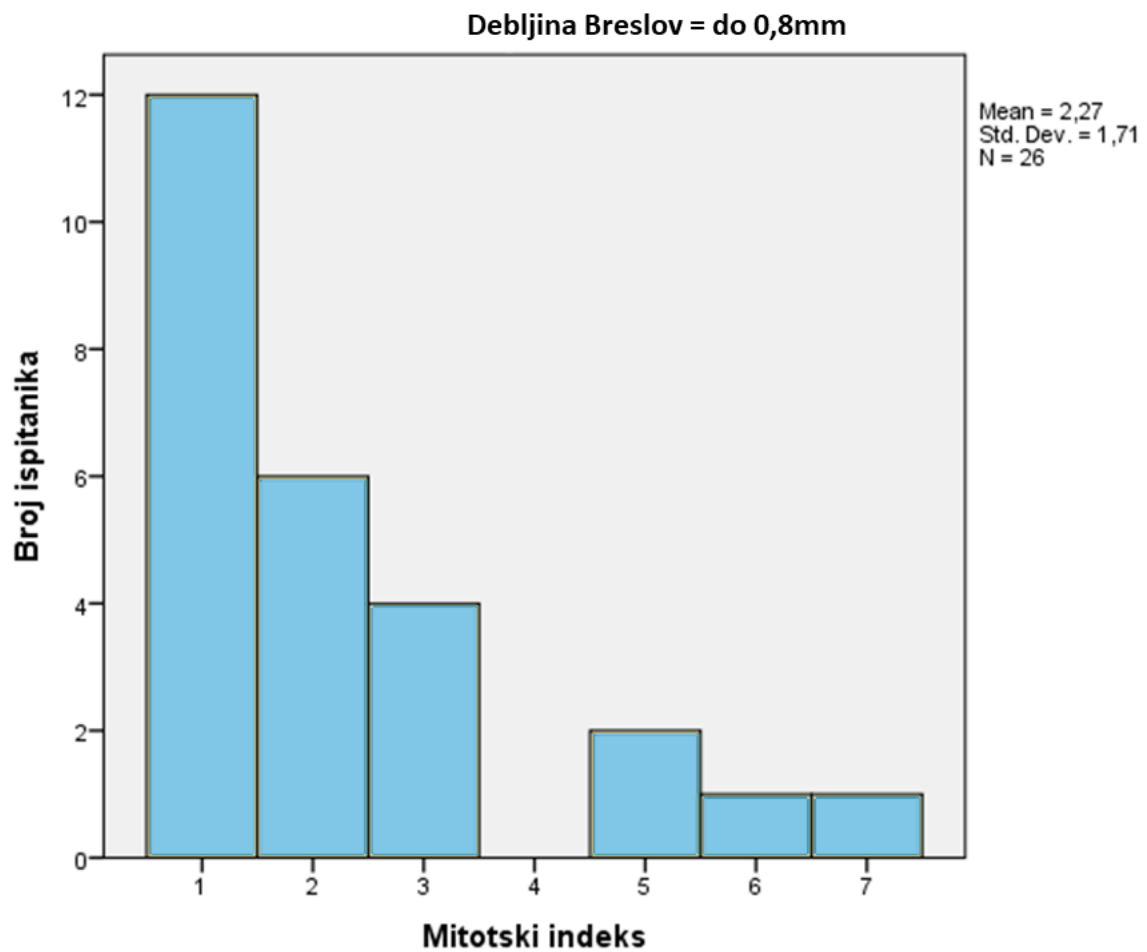
Grafikon 16. Distribucija pacijenata prema lokalizaciji primarnog tumora sa debljinom melanoma \leq 0,8 mm po Breslovu

Od pacijenata koji su imali taj podatak, ulceraciju primarnog tumora imalo je 2 (7,4%) pacijenta sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu, 25 (92,6%) pacijenata je bilo bez ulceracije primarnog tumora (Grafikon 17).

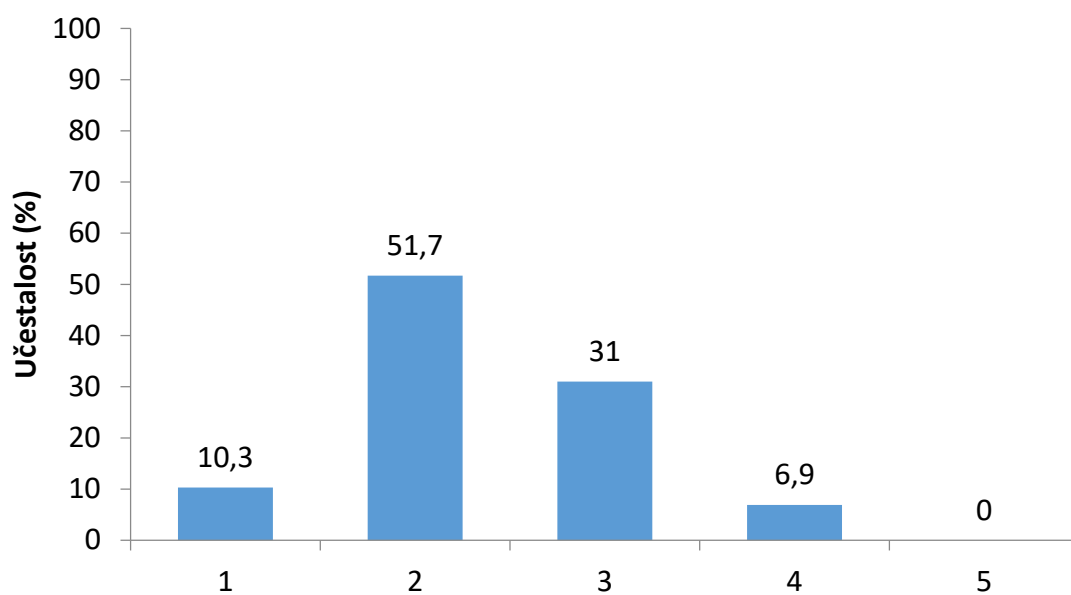


Grafikon 17. Distribucija pacijenata u odnosu na ulceraciju primarnog tumora sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu

Kod ispitanika sa veličinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu, medijana mitotskog indeksa iznosila je 2 (opseg, 1-7). Najveći broj pacijenata 24 (92,3%) imao je mitotski indeks 1-5, a 2 (7,7%) pacijenata mitotski indeks >6 (Grafikon 18).



Grafikon 18. Histogram mitotskog indeksa kod pacijenata sa debljinom melanoma \leq 0,8 mm po Breslovu

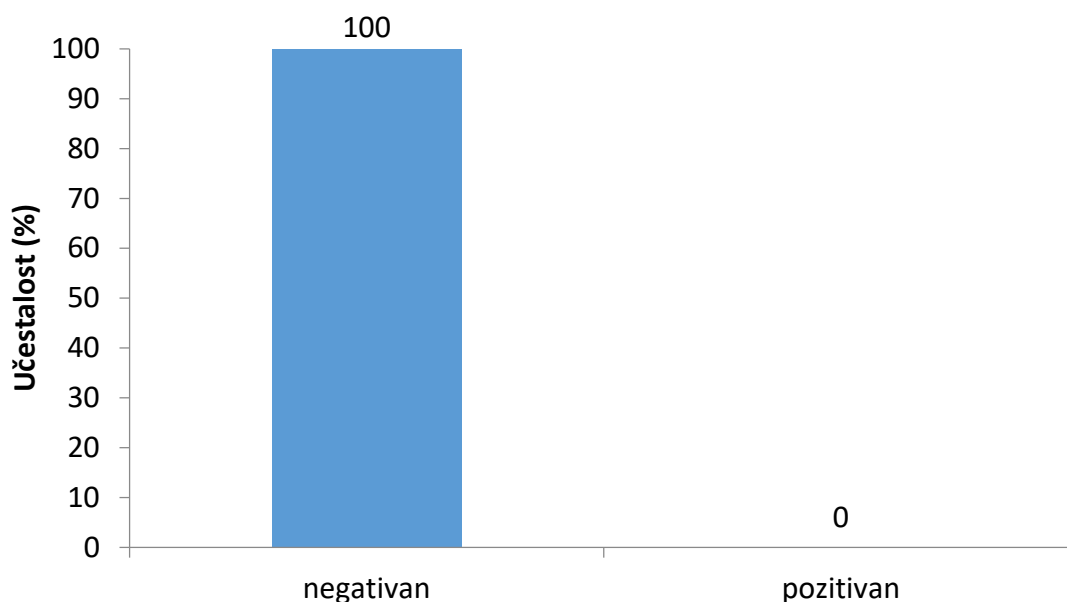


Grafikon 19. Distribucija pacijenata u odnosu na debljinu prema Klark-u sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu

Kod pacijenata sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu, najčešće je bio 2 stepen debljine kod 15 (51,7%) i 3 stepen debljine 9 (31,0%) pacijenata po Klarku. Step 1 debljine po Klarku imala su 3 (10,3%), a step 4 svega 2 (6,9%) pacijenata. Step 5 debljine po Klarku nije imao ni jedan pacijent (Grafikon 19).

Kod pacijenata sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu i kod kojih postoji taj podatak, limfno vaskularnu invaziju nije imao ni jedan pacijent.

Kod pacijenata sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu, pozitivan sentinel nije imao nijedan pacijent (0,0%) od 29 pacijenata (Grafikon 20).



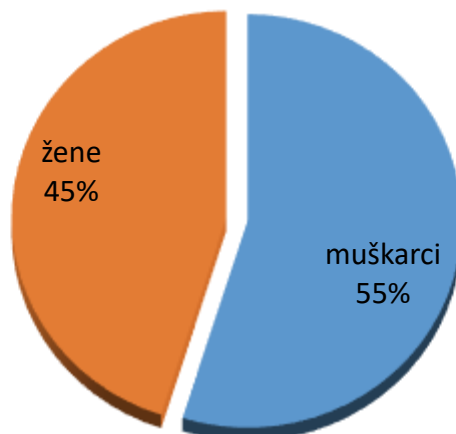
Grafikon 20. Distribucija pacijenata prema statusu stražaraskog limfnog čvora sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu.

Kod pacijenata sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu, relaps nije imao ni jedan pacijent.

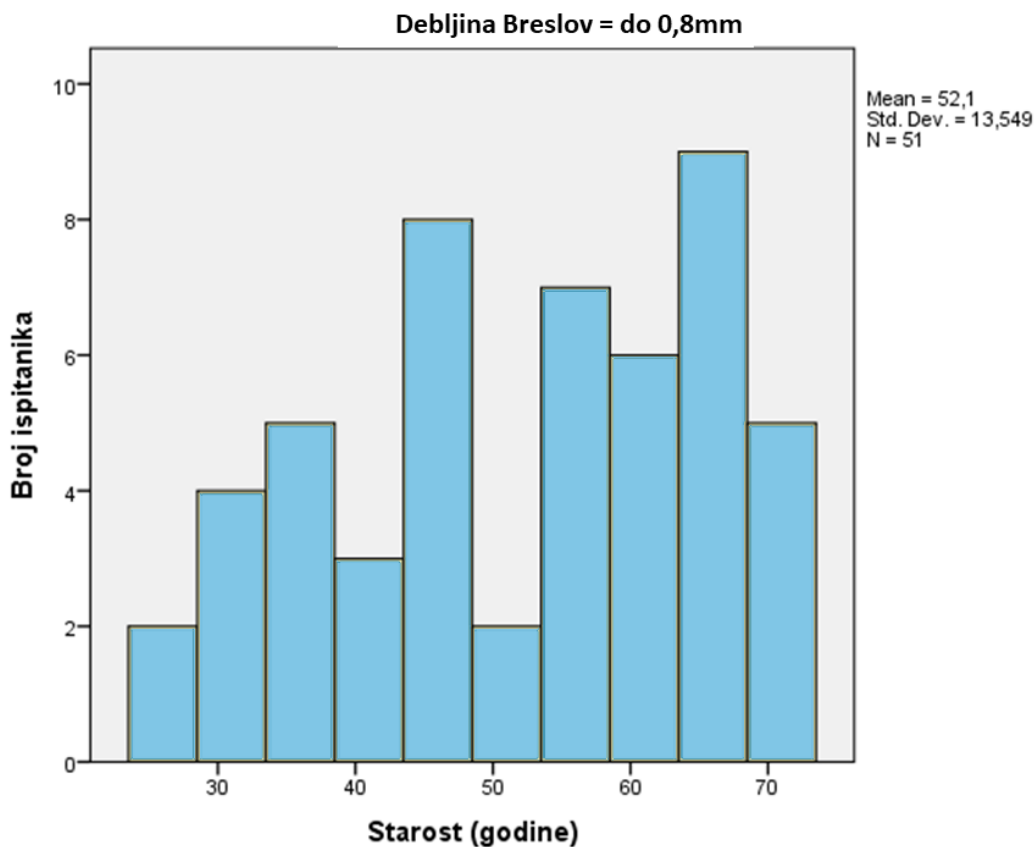
Kod pacijenata sa debljinom melanoma $\leq 0,8$ mm po Breslovu, smrtni ishod imao je jedan pacijent (3,4%).

4.2.2. Prikaz demografskih karakteristika pacijenata i patohistoloških parametara primarnog melanoma kože debljine po Breslovu ≤ 1 mm

Kod pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu, 28 (54,9%) pacijenata je bilo muškog, a 23 (45,1%) ženskog pola (Grafikon 21).

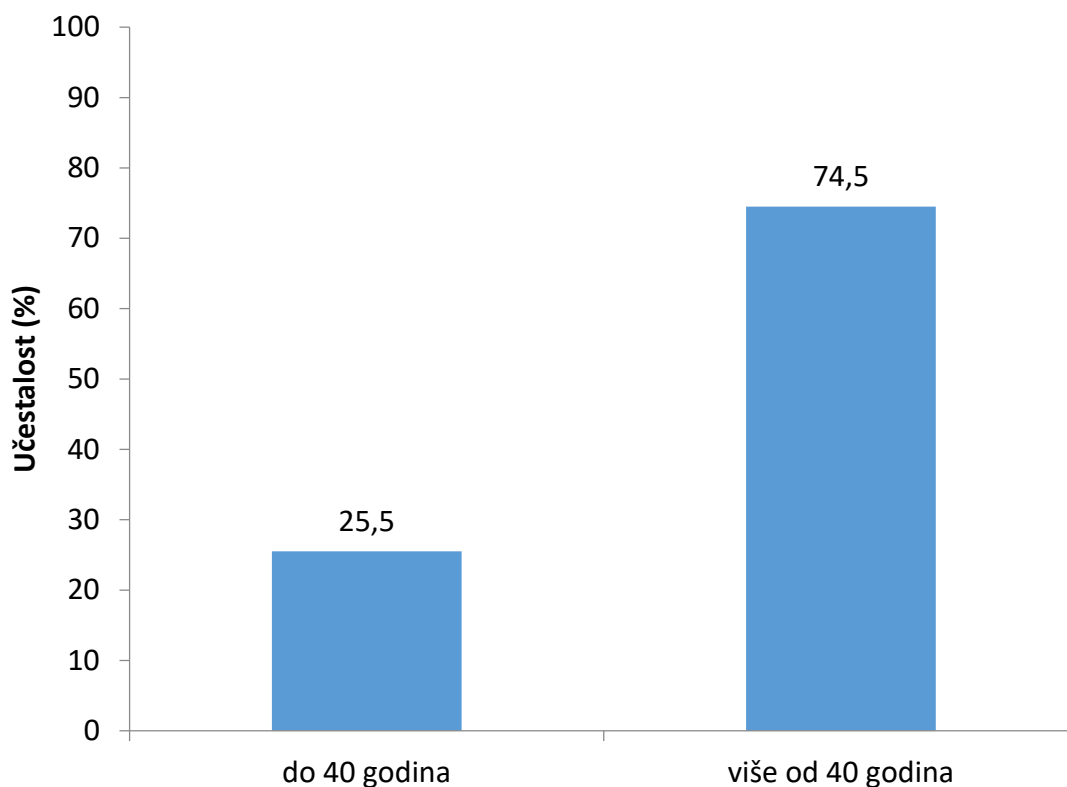


Grafikon 21. Polna struktura pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu



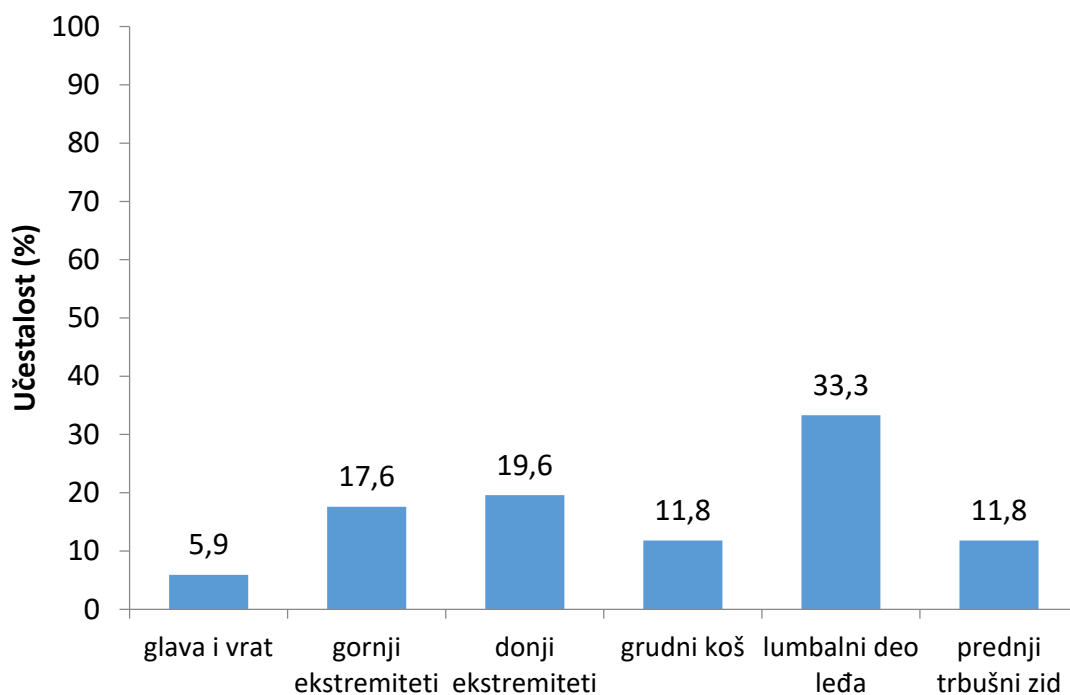
Grafikon 22. Histogram starosti pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu

Kod pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu, prosečna starost iznosila je $52,1 \pm 13,5$ godina. Najmlađi pacijent imao je 26, a najstariji 71 godinu (Grafikon 22). Do 40 godina starosti bilo je 13 (25,5%) pacijenata, dok je 38 (74,5%) bilo preko 40 godina starosti (Grafikon 23).



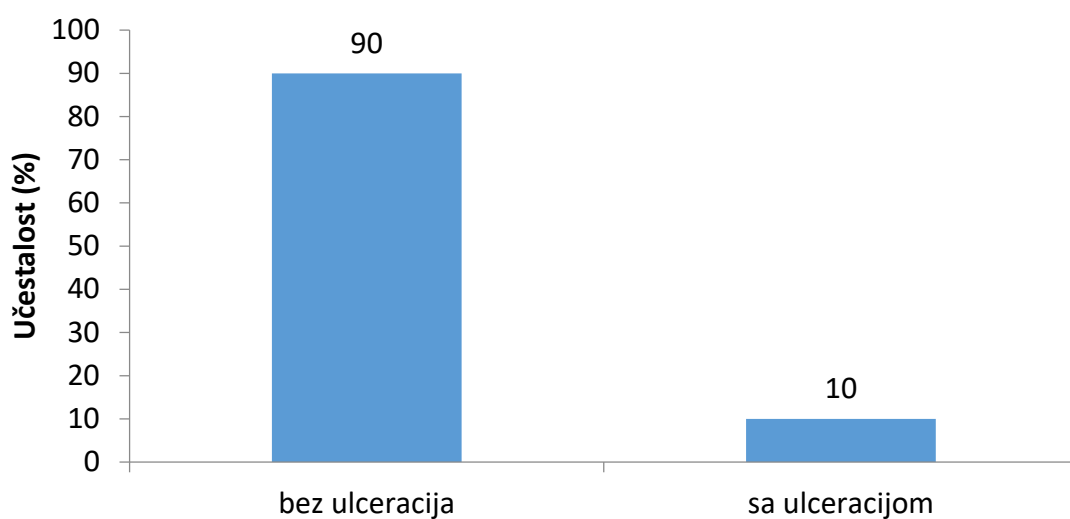
Grafikon 23. Distribucija pacijenata prema kategoriji starosti sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu

Kod pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu, tumori su najčešće bili lokalizovani na lumbalnom delu leđa kod 17 (33,3%) i donjim ekstremitetima kod 10 pacijenata (19,6%). Lokalizaciju na gornjim ekstremitetima imalo je 9 (17,6%) pacijenata, a kod 6 (11,8%) pacijenata melanom je bilo lokalizovano na grudnom košu i prednjem trbušnom zidu, dok je samo 3 (5,9%) pacijenata imalo je melanom lokalizovan na glavi i vratu. (Grafikon 24).

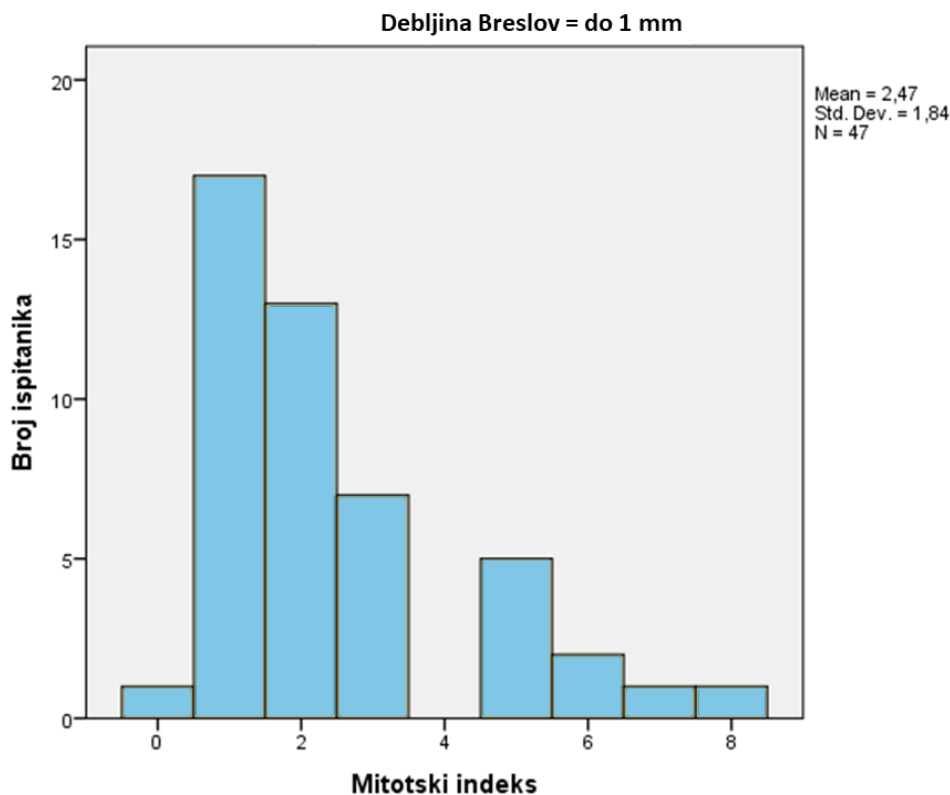


Grafikon 24. Distribucija pacijenata prema lokalizaciji primarnog tumora sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu

Od pacijenata koji su imali taj podatak, ulceraciju primarnog tumora imalo je 5 (10,2%) pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu, a 44 (89,8%) pacijenata je bilo bez ulceracije primarnog tumora (Grafikon 25).

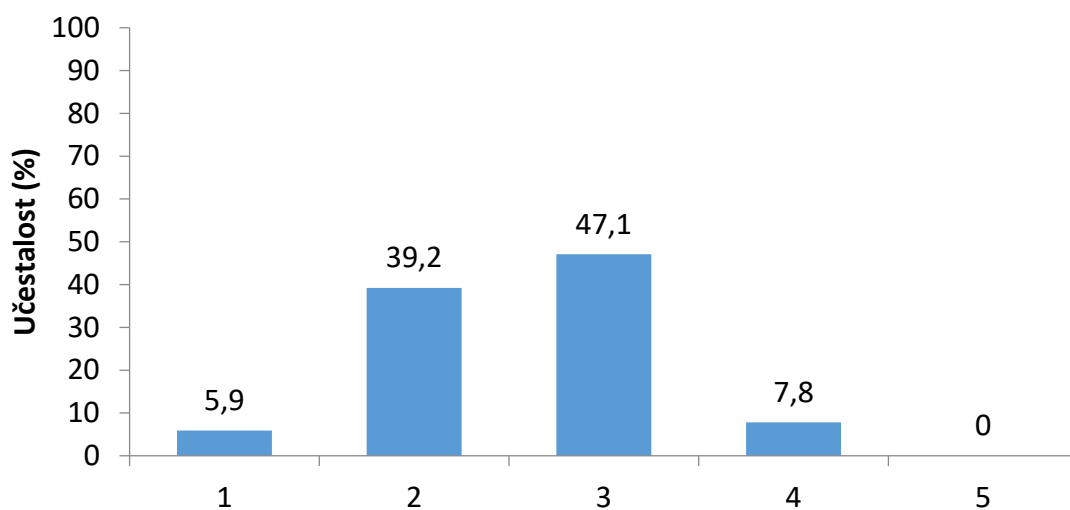


Grafikon 25. Distribucija pacijenata u odnosu na ulceraciju primarnog tumora sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu



Grafikon 26. Histogram mitotskog indeksa kod pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu

Kod ispitanika sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu, medijana mitotskog indeksa iznosila je 2 (opseg, 0-8). Najveći broj pacijenata 42 (89,4%) je imalo mitotski indeks 1-5, 4 (8,5%) pacijenta imala su mitotski indeks >6 , dok je 1 pacijent (2,1%) imao mitotski indeks 0 (Grafikon 26).

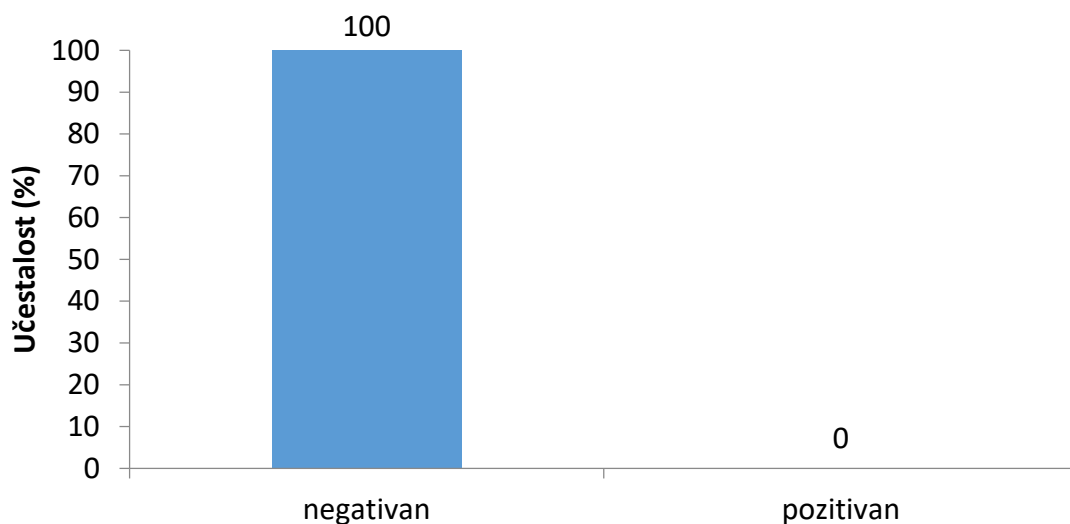


Grafikon 27. Distribucija pacijenata u odnosu na debljinu prema Klark-u sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu

Kod pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu, najčešće je bio 3 stepen debljine kod 24 (47,1%) i 2 stepen debljine kod 20 (39,2%) pacijenata po Klarku. Stepen 1 debljine po Klarku imalo je 3 (5,9%), a 4 (7,8%) pacijenata je imalo stepen 4 po Klarku. Stepen debljine 5 po Klarku nije imao ni jedan pacijent (Grafikon 27).

Kod pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu i kod kojih postoji taj podatak, limfno vaskularnu invaziju je imao jedan pacijent (2,8%).

Kod pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu, pozitivan sentinel nije imao nijedan (0,0%) od 51 pacijenta (Grafikon 28).



Grafikon 28. Distribucija pacijenata prema statusu stražaraskog limfnog čvora sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu.

Kod pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu, relaps je bio prisutan kod 2 (3,9%) pacijenata.

Kod pacijenata sa debljinom melanoma ≤ 1 mm po Breslovu, smrtni ishod su imala 2 pacijenata (3,9%).

Tabela 3. Komparativni prikaz karakteristika pacijenata i patohistoloških karakteristika tankog melanoma po novoj ($\geq 0,8\text{mm}$) i staroj ($\geq 1\text{mm}$) klasifikaciji

Karakteristike	Breslov $\leq 0,8$	Breslov $>0,8$	Breslov ≤ 1	Breslov >1
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Godine				
≤ 40	9 (31,0)	23 (19,5)	13 (25,5)	19 (19,8)
> 40	20 (69,0)	95 (80,5)	38 (74,5)	77 (80,2)
Pol				
Muški	16 (55,2)	55 (46,6)	28 (54,9)	43 (44,8)
Ženski	13 (45,8)	63 (53,4)	23 (45,1)	53 (55,2)
Anatomska lokalizacija				
glava i vrat	2 (6,9)	7 (5,9)	3 (5,9)	6 (6,3)
gornji ekstremiteti	5 (17,2)	25 (21,2)	9 (17,6)	21 (21,9)
donji ekstremiteti	6 (20,7)	34 (28,8)	10 (19,6)	30 (31,3)
grudni koš	4 (13,8)	9 (7,6)	6 (11,8)	7 (7,3)
lumbalni deo leđa	8 (27,6)	34 (28,8)	17 (33,3)	25 (26,0)
prednji trbušni zid	4 (13,8)	9 (7,6)	6 (11,8)	7 (7,3)
Ulceracija*	2 (7,4)	46 (43,0)	5 (10,2)	43 (50,6)
Regresija *	2 (33,3)	5 (27,8)	4 (36,4)	3 (23,1)
Stepen mitotskog indeksa				
0	0 (0)	5 (4,9)	1 (2,1)	4 (4,9)
1-5	24 (92,3)	64 (62,1)	42 (89,4)	46 (56,1)
> 6	2 (7,7)	34 (33,0)	4 (8,5)	32 (39,0)
Limfovaskularna invazija*	0 (0,0)	9 (13,2)	1 (2,8)	8 (15,7)
Pozitivan sentinel	0 (0,0)	14 (11,9)	0 (0)	14 (14,6)
Relaps	0 (0,0)	23 (19,5)	2 (3,9)	21 (21,9)

*svi pacijenti sa melanomom koji su u studiji nisu imali sve histopatološke podatke

4.3. STATUS (STRAŽARSKIH) LIMFNIH ČVOROVA

4.3.1. Prikaz statusa (stražarskih) limfnih čvorova u grupi pacijenata sa melanomom kože

Na tabeli 4 prikazani pacijenti kod kojih je rađena provera stražarskog limfnog čvora. Od 148 pacijenata 15 (10,1%) je imalo pozitivan, metastaski izmenjen stražarski limfni čvor.

Tabela 4. Distribucija pacijenata prema statusu stražarskog limfnog čvora

Status sentinel	n	%
negativan	133	89,9
pozitivan	15	10,1
Ukupno	148	100,0

Od 15 pacijenata sa metastatski izmenjenim SLČ kod njih 14 samo je sentinel bio pozitivan, dok su kod jednog pacijenta uz 2 pozitivna sentinel limfna čvora u disektatu limfnih čvorova pronađena još 2 limfna čvora sa prisutnim metastazama. Od 15 pacijenata sa metastaskim stražarskim limfnim čvorom na definitivnom HP preparatu, njih 12 su imali metastaze preko 2 mm u stražarskom limfnom čvoru. Kod 3 pacijenta stražarski limfni čvorovi su bile mikrometastaze (metastaza \leq 2 mm). Kod 3 pacijenta ekscirpirani su po jedan sentinel, kod 5 po dva sentinela od kojih je jedan bio pozitivan, kod dva pacijenta su identifikovana 3 sentinela, jedan je bio pozitivan, kod 2 pacijenta izvađena su po 4 sentinela od kojih je kod jednog pacijenta bilo 2 pozitivna limfna čvora, a kod jednog samo jedan pozitivan. Kod 2 pacijenta su identifikovana 5 sentinela od kojih je po jedan bio pozitivan i u slučaju jednog pacijenta ekscirpirano je 10 sentinel limfnih čvorova sa 2 pozitivna i samo kod tog pacijenta su u histologiji koja je brojala još 15 limfnih čvorova identifikovane još 2 metastaze. Prosečno su ekscirpirana 3 stražarska limfna čvora, 1 najmanje, a 10 najviše. U proseku je u histologiji pregledano 14 limfnih čvorova od čega je najmanji broj u disektatu bio 7, a najveći 25 limfnih čvorova. Na tabeli 5 prikazane su kliničke karakteristike pacijenata sa kliničko-patološkim karakteristikama tumora kod pozitivnog SLČ.

Tabela 5. Kliničke karakteristike pacijenata sa kliničko-patološkim karakteristikama tumora kod pozitivnog SLČ

Pacijent pol/dob	Lokalizacija	Tip	Breslov, mm	Klark, nivo	Mitoza	U	R	LVI	+ SLČ	Disektat	Disektat i SLČ
1.M/64	Prepona	S	3	IV	+	+	-	+	1/4	0/9	1/13
2.Ž/61	Prednji trbušni zid	N	6	III	5/10	+	-	-	1/1	0/12	1/13
3.M/25	Natkolenica	S	2,9	III	7/10	+	-	-	1/2	0/11	1/13
4.M/49	Leđa	N	3,25	III	18/10	-	-	+	1/2	0/9	1/11
5.Ž/66	Rame	S	1,5	IV	2/10	-	+	-	1/1	0/11	1/12
6.M/62	Leđa	N	24	V	20/10	+	-	-	1/5	0/13	1/18
7.Ž/78	Potkolenica	S	13,2	IV	13/10	+	N.P.	-	1/3	0/7	1/10
8.Ž/58	Nadlaktica	-	7	III	6/10	+	N.P.	N.P.	1/3	0/14	1/17
9. M/85	Natkolenica	S	N.P.	N.P.	7/10	+	N.P.	N.P.	1/1	0/6	1/7
10.M/64	Stopalo	S	5	III	15/10	-	N.P.	+	1/2	0/8	1/10
11.Ž/44	Leđa	N	3,5	IV	4/10	+	N.P.	+	1/5	0/9	1/14
12.Ž/25	Potkolenica	S.M.	1,8	IV	2/10	+	-	-	1/2	0/11	1/13
13.M/75	Leđa	S	5,7	IV	1/10	+	-	-	2/10	2/15	4/25
14.M/55	Glava	S	10,9	IV	17/10	+	-	-	1/1	0/18	1/19
15.M/86	Podlaktica	N	4	IV	6/10	+	N.P.	+	2/4	0/12	2/16

SLČ-sentinel limfni čvor, S-superficialni, N-nodularni, S.M-Spitz melanom, U-ulceracija, R-regresija, N.P.-nema podataka, LVI-limfovaskularna invazija

Svi pacijenti sa pozitivnim SLČ su i dalje pod redovnim kontrolama. Nije bilo lokalnog recidiva bolesti, niti smrtnog ishoda u dosadašnjem periodu praćenja.

Tabela 6 prikazuje distribuciju pacijenata prema korišćenom sredstvu za obeležavanje stražarskog limfnog čvora (radiokoloid, vitalna boja, metilen plavo ili oba). Mapiranje sa radiokoloidom je izvedeno kod 35,1% pacijenata, samo metilen plavim kod 15,5%, a skoro polovina pacijenata (49,3%) je mapirana korišćenjem oba sredstva.

Tabela 6. Distribucija pacijenata prema korišćenom sredstvu za mapiranje stražarskog limfnog čvora

Sredstvo za mapiranje sentinela	n	%
radiokoloid	52	35,1
vitalna boja, metilen plavo	23	15,5
oba	73	49,3
Ukupno	148	100,0

Na tabeli 7. prikazane su kliničke i histološke karakteristike pacijenata u odnosu na status stražarskog limfnog čvora. Prisustvo metastaza u stražarskim limfnim čvorovima bilo je značajno povezano sa debljinom po Breslovu i Klarku, prisustvom ulceracija i višim mitotskim indeksom. Prisustvo metastaza u stražarskim limfnim čvorovima nije bilo povezano sa polom, godinama starosti, anatomskom lokalizacijom, regresijom ili infiltracijom tumora.

Tabela 7. Kliničke karakteristike pacijenata i patohistološke karakteristike melanoma u odnosu na metastatski stražarski limfni čvor

Karakteristike	Broj (%) pacijenata sa negativnim limfnim čvorovima	Broj (%) pacijenata sa pozitivnim limfnim čvorovima	p-vrednost
Godine			
≤ 40	30 (22,6)	2 (13,3)	0,525
> 40	103 (77,4)	13 (86,7)	
Pol			
Muški	63 (47,7)	9 (60,0)	0,353
Ženski	70 (52,6)	6 (40,0)	
Anatomska lokalizacija			
Glava i vrat	8 (6,0)	1 (6,7)	0,580
Ekstremiti	62 (46,6)	9 (60,0)	
Trup	63 (47,4)	5 (33,3)	
Stepen debljine po Breslovu, mm*			
≤ 0,8	29 (21,8)	0 (0,0)	0,001
0,81-2,0	49 (36,8)	2 (14,3)	
2,01-4,0	27 (20,3)	5 (35,7)	
> 4,0	27 (21,1)	7 (50,0)	
Debljina po Klarku *			
1	3 (2,3)	0 (0)	0,048
2	22 (16,5)	0 (0)	
3	52 (39,1)	5 (35,7)	
4	52 (39,1)	8 (57,1)	
5	4 (3,0)	1 (7,1)	
Ulceracija*			
Odsutna	83 (69,2)	3 (20,0)	<0,001
Prisutna	37 (30,8)	12 (80,0)	
Regresija*			
Odsutna	14 (70,0)	8 (75,0)	1,000
Prisutna	6 (30,0)	1 (25,0)	
Stepen mitotskog indeksa*			
0	5 (4,3)	0 (0)	<0,001
1-5	84 (72,4)	4 (28,6)	
> 6	27 (23,3)	10 (71,4)	
Limfovaskularna invazija*			
Odsutna	71 (91,0)	8 (80,0)	0,270
Prisutna	7 (9,0)	5 (20,0)	

*-ne postoje podaci kod svih pacijenata

Na tabeli 8, prikazani su rezultati univarijantne logističke regresije sa prisustvom metastaze u stražarskom limfnom čvoru kao zavisnom varijablom kod pacijenata sa melanomom kože. Dobijeni rezultati ove analize pokazuju da su debljina po Breslovu i Klarku, prisustvo ulceracija i visok mitotski indeks bili značajno povezani sa pozitivnošću stražarskog limfnog čvora. Naime, pacijenti sa svakim višim stepenom debljine po Breslovu imaju 2,6 veći rizik za prisustvo metastaza u stražarskom limfnom (B=0,964; p=0,003). Slično, pacijenti sa svakim višim stepenom debljine po Klarku imaju 2,2 puta veći rizik za prisustvo metastaza u stražarskom limfnom (B=0,795; p=0,048). Prisustvo ulceracije povećava rizik od metastaza u stražarskom limfnom čvoru oko 9 puta (B=2,194; p=0,001), dok svaki viši stepen mitotskog indeksa povećava rizik od metastaza u stražarskom limfnom čvoru oko 8 puta (B=2,071; p=0,001). Zbog nepovoljnog odnosa broja ishoda od interesa i potencijalnih prediktora nije bilo moguće uraditi multivarijantnu logističku regresiju.

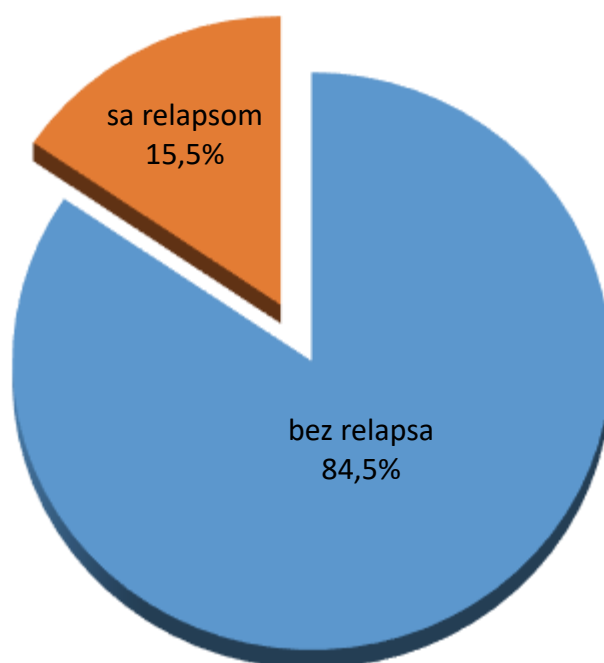
Tabela 8. Univarijantna logistička regresija sa metastatskim stražarskim limfnim čvorovima kao zavisnom varijablom kod pacijenata sa melanomom kože

Karakteristike	OR (95% CI)	p-vrednost
Starost		
≤40	1,00	
>40	1,89 (0,40-8,86)	0,418
Pol		
Muški	1,00	
Ženski	0,60 (0,20-1,78)	0,357
Anatomska lokalizacija		
Glava i vrat	1,00	
Trup	0,64 (0,07-6,14)	0,695
Ekstremiteti	1,16 (0,13-10,41)	0,894
Stepen debljine po Breslovu, mm	2,62 (1,38-4,99)	0,003
Debljina po Klarku	2,21 (1,01-4,86)	0,048
Ulceracija		
Odsutna	1,00	
Prisutna	8,97 (2,39-33,70)	0,001
Regresija		
Odsutna	1,00	
Prisutna	0,78 (0,07-9,08)	0,841
Stepen mitotskog indeksa	7,93 (2,33-26,96)	0,001
Limfovaskularna invazija		
Odsutna	1,00	
Prisutna	2,54 (0,45-14,35)	0,293

4.4. RELAPS KOD PACIJENATA SA MELANOMOM

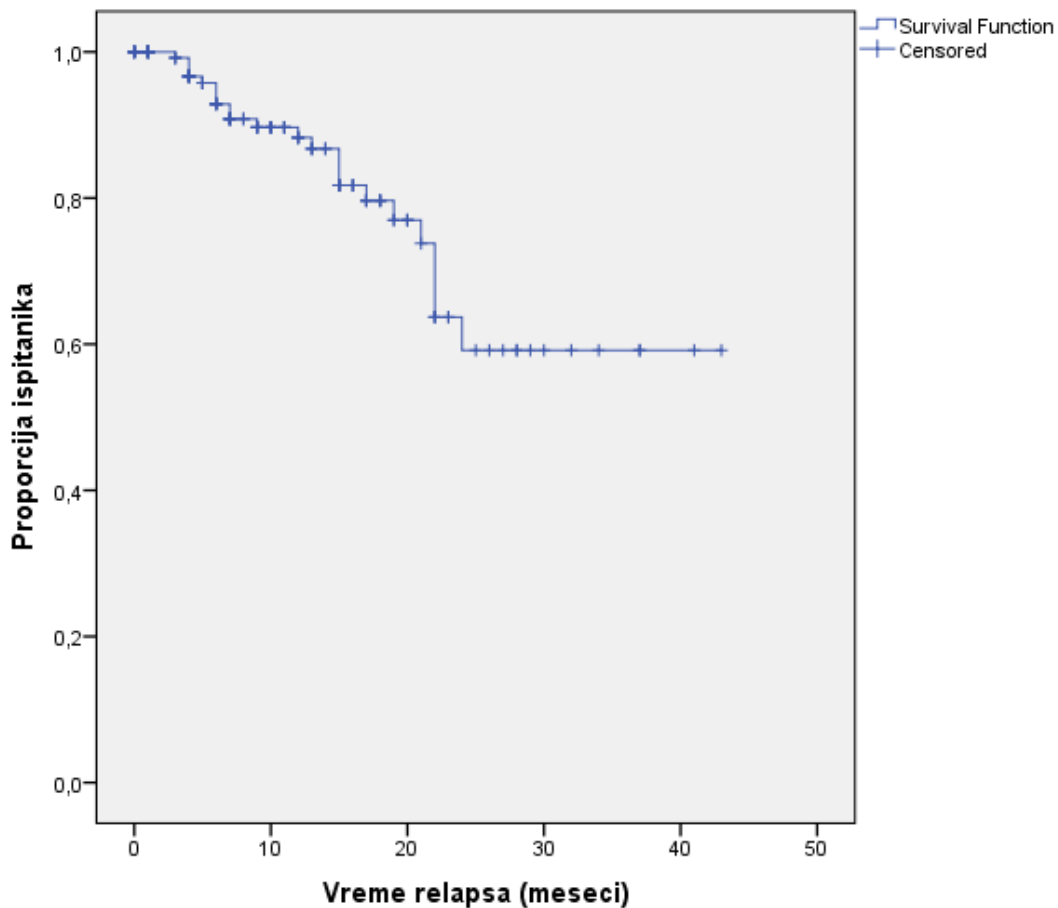
Na grafikonu 29. i tabeli 9. prikazan je relaps pacijenata sa melanomom, tokom perioda praćenja do 43 meseca. Medijana vremena praćenja iznosila je 14,5 meseci. Najkraće vreme praćenja iznosi 1 mesec a najduže 43 meseca.

Relaps je imalo 23 (15,5%) pacijenata uključenih u istraživanje. Bez relapsa bilo je 125 pacijenata (84,5%) (grafikon 29).



Grafikon 29. Relaps pacijenata u istraživanju

Procenjena aritmetička sredina vremena do relapsa kod svih pacijenata iznosi 32,0 meseca (95% CI 28,1 – 35,9) (Grafikon 30).



Grafikon 30. Vreme do relapsa kod pacijenata sa melanomom kože

U tabeli 9. prikazani su rezultati log rank test prvog relapsa u odnosu na pol, anatomsku lokalizaciju, debljinu po Breslovu, ulceracije i mitotski indeks kod pacijenata sa melanomom kože. Postoji statistički značajna razlika u vremenu pojave prvog relapsa između muškaraca i žena ($p=0,046$). Postoji statistički značajna razlika u vremenu do relapsa u odnosu na stepen debljine po Breslovu ($p=0,001$). Pored toga, postojala je statistički značajna razlika u vremenu pojave prvog relapsa kod pacijenata sa melanomom sa i bez ulceracije ($p=0,016$). Vreme pojave prvog relapsa je bilo manje ako je melanoma bio lokalizovan na glavi i vratu (23,2 meseca) i trupu (23,5 meseca), u poređenju sa lokalizacijom melanoma na ekstremitetima (33,8 meseca). Međutim, ova razlika ipak nije bila i statistički značajna ($p=0,413$). Pacijenti sa melanomom koji imaju visok mitotski indeks (>6 /mm²) imali su 21,1 meseca do pojave prvog relapse bolesti, dok su oni sa nižim mitotskim indeksom imali 32 meseca do ponovne pojave bolesti. Međutim, ova razlika nije i statistički značajna ($p=0,159$).

Tabela 9. – Log Rank test vremena do pojave prvog relapsa

Karakteristike	Vreme do pojave prvog relapsa (meseći)	95% CI	p-vrednost
Pol			
Muški	27,9	22,3 – 33,5	0,046
Ženski	34,6	29,7 – 39,5	
Anatomska lokalizacija			
Glava i vrat	23,2	11,9 – 34,5	0,413
Trup	23,5	18,3 – 28,7	
Ekstremiteti	33,8	29,1 – 38,6	
Stepen debljine po Breslovu, mm			
≤ 0,8	*		0,001
0,81-2	33,9	28,3-39,5	
2,01-4	26,4	22,7-30,1	
> 4,0	17,8	14,2-21,3	
Ulceracija			
Odsutna	34,2	29,5 – 38,8	0,016
Prisutna	21,0	17,4 – 24,6	
Stepen mitotskog indeksa			
0	*		0,159
1-5	32,2	27,5-36,9	
> 6	21,1	16,6-25,5	

*nije bilo ishoda od interesa

4.4.1. Cox regresioni modeli sa relapsom kao zavisnom varijablom

Na tabeli 10. prikazani su rezultati univarijantne COX regresione analize. Varijable koje su povezane sa povećanim hazardom za pojavu relapsa su: viši stepen debljine tumora po Breslovu (B=0,810; p<0,001), viši stepen debljine tumora po Klarku (B=1,046; p=0,001), postojanje ulceracije primarnog tumora (B=1,024; p=0,023) i pozitivan sentinel (B=2,022; p<0,001).

Tabela 10. Univarijantni cox regresioni modeli sa relapsom kao zavisnom varijablom

Nezavisna varijabla	B	p	HR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Starosna grupa (>40/≤40)	0,389	0,482	1,48	0,50	4,36
Pol (ženski/muški)	-0,829	0,054	0,44	0,19	1,02
<i>Lokalizacija TU</i>					
glava i vrat	referentna kategorija				
trup	-0,230	0,736	0,79	0,21	3,02
ekstremiteti	-0,697	0,287	0,50	0,14	1,80
Breslov (stepen debljine)	0,810	<0,001	2,25	1,43	3,53
Klark (stepen debljine)	1,046	0,001	2,85	1,55	5,22
Ulceracije (ima/nema)	1,024	0,023	2,78	1,15	6,74
Regresija (ima/nema)	-0,583	0,625	0,56	0,05	5,80
Mitotski indeks (stepen)	0,816	0,064	2,26	0,95	5,36
Limfovaskularna invazija (ima/nema)	0,091	0,907	1,10	0,24	5,04
Sentinel (pozitivan/negativan)	2,022	<0,001	7,55	2,78	20,52

U multivarijantnom COX regresionom modelu varijabla koja je povezana sa povećanim hazardom za pojavu relapsa je pozitivan sentinel (B=1,513; p=0,004) (Tabela 11). Pacijenti sa pozitivnim sentinelom imaju 4,5 puta veći hazard za nastanak relapsa.

Tabela 11. Multivarijantni cox regresioni model sa relapsom kao zavisnom varijablom

Nezavisna varijabla	B	p	HR	95% interval poverenja	
				donja granica	gornja granica
Breslov (stepen debljine)	0,506	0,105	1,66	0,90	3,06
Klark (stepen debljine)	0,653	0,084	1,92	0,92	4,03
Ulceracije (ima/nema)	-0,252	0,657	0,78	0,26	2,36
Sentinel (pozitivan/negativan)	1,513	0,004	4,54	1,61	12,81

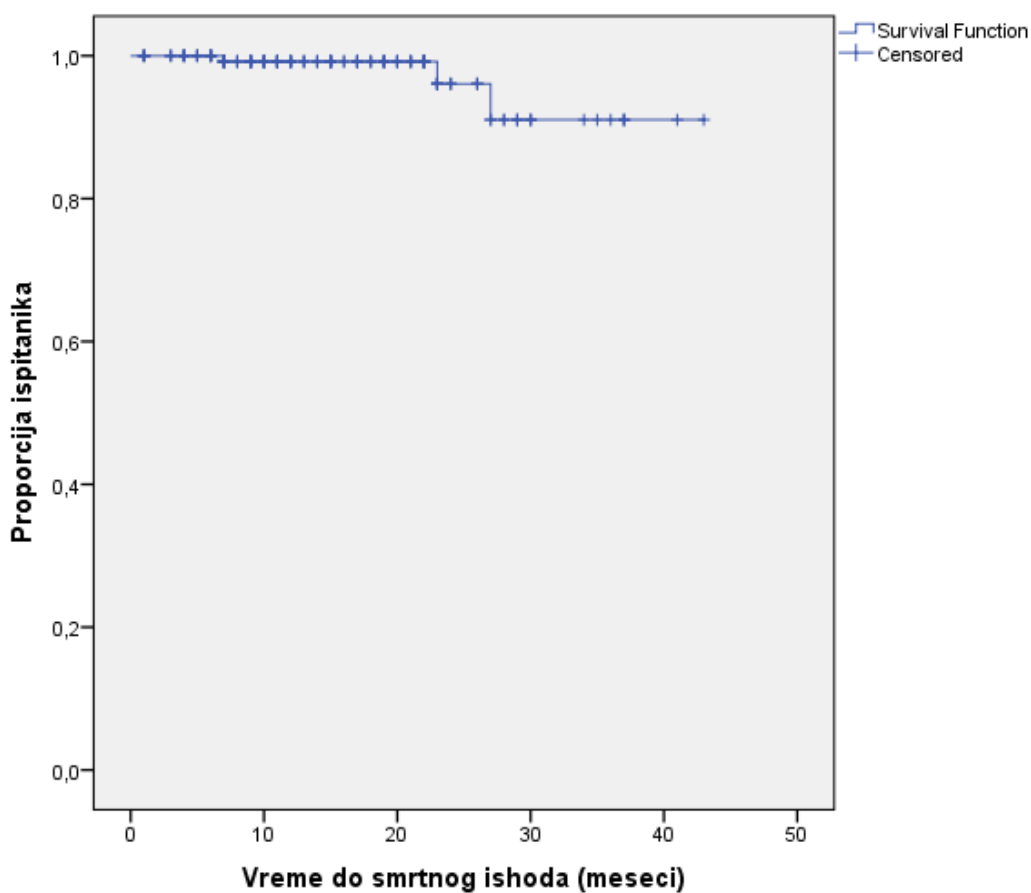
4.5. PREŽIVLJAVANJE KOD PACIJENATA SA MELANOMOM

Tabeli 12. prikazan je ishod (preživljavanje) kod pacijenata sa melanomom. Smrtni ishod imalo je 3 (2,0%) pacijenata. U pitanju je troje pacijenata starosti 48, 62 i 70 godina, Breslov tumora debljine 0,85, 0,25 i 1,6 mm, respektivno. Mitotski indeks ie iznosio 8, bez podatka o mitotskom indeksu i 2, dok je Klark nivo bio 3, 2, i 4, respektivno. Ulceraciju je imao samo pacijent od 70 godina. Kod pacijenta od 48 godina prvi relaps se javio nakon 22 meseca, a ekzitirao 27 meseci posle prvog relapsa, dok za pacijente od 62 i 70 godina nema podataka za relaps bolesti, samo podatak da je pacijent starosti 62 živeo 23 meseca od intervencije, a pacijent od 70 godina 7 meseci od poslednje kontrole. Svi umrli pacijenti su imali negativne SLČ.

Tabela 12. Ishod pacijenata u istraživanju

Ishod	n	%
živ	145	98,0
nije živ	3	2,0
Ukupno	148	100,0

Procenjena aritmetička sredina vremena do smrtnog ishoda kod svih pacijenata iznosi 41,3 meseci (95% CI 39,3 – 43,3) (Grafikon 31).

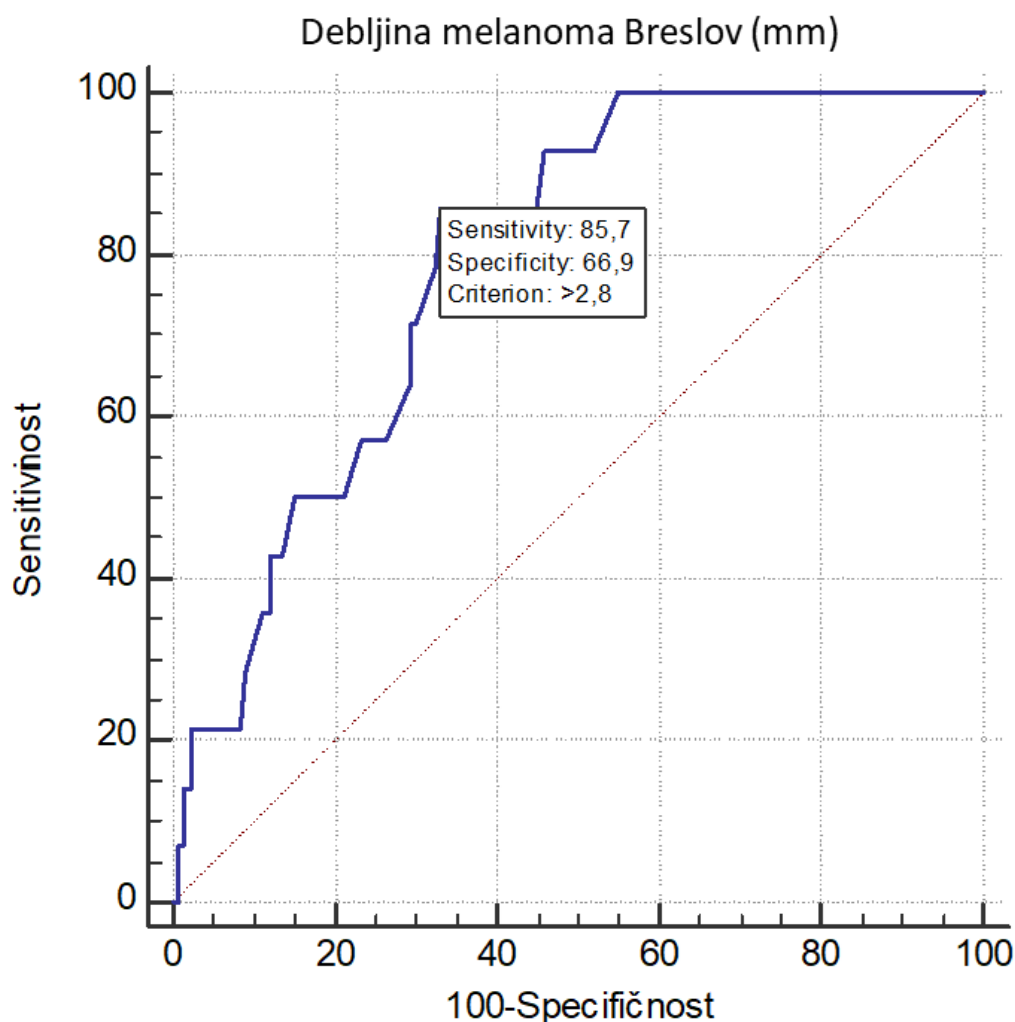


Grafikon 31. Kaplan-Meier kriva preživljavanja kod pacijenata sa melanomom kože

Zbog nepovoljnog odnosa broja ishoda i potencijalnih prediktora nije bilo moguće raditi dodatne analize.

4.6. ROC KRIVA ZA DEBLJINU MELANOMA PO BRESLOVU KOD POZITIVNOG STRAŽARSKOG LIMFNOG ČVORA

Na grafikonu 32. prikazana je ROC (engl. *Receiver Operating Characteristic*, ROC) kriva za debljinu po Breslovu kod pozitivnog stražarskog limfnog čvora. Ocene tačnosti debljine melanoma po Breslovu u otkrivanju pozitivnosti sentinel limfnih čvorova iznose: Senzitivnost=86% i Specifičnost=67%. Optimalna vrednost praga debljine melanoma po Breslovu za detekciju pozitivnosti sentinel limfnih čvorova iznosi 2,9 mm. Površina ispod krive debljine melanoma po Breslovu iznosi 0,79 (95% CI 0,72 – 0,85).



Grafikon 32. ROC kriva ocene tačnosti debljine melanoma po Breslovu u otkrivanju pozitivnosti sentinel limfnih čvorova

5. DISKUSIJA

U grupi od 148 pacijenata sa primarnim kožnim melanomom naši rezultati su pokazali da su debljina po Breslovu i Klarku, mitotski indeks i prisustvo ulceracije značajni nezavisni prediktori metastaza u sentinel limfnim čvorovima. Pored toga, utvrđena je povezanost debljine po Breslovu i prisustvo ulceracije sa pojavom prvog relapsa bolesti. Prema AJCC-a, Breslov debljina, prisustvo ulceracije i metastaze u stražarskim limfnim čvorovima smatraju se najvažnijim prognostičkim faktorima kod pacijenata sa melanomom (Kruper LL., i sar., 2006; Wong SL. i sar., 2012), dok se mitotski indeks (MI) prepoznaje samo kao prognostički faktor u podgrupi tankih melanoma (Kesmodel SB., i sar., 2005). Naime, Kruper L. i saradnici su ispitivali 682 pacijenata sa melanomom bez kliničkih dokaza metastatske bolesti. Metodom logističke regresije analizirana je veza između SLČ pozitivnosti i debljine po Breslovu i Klarku, prisustvu ulceracije, MI, pola i starosti pacijenata. U multivarijantnoj analizi utvrđeno je da su MI i debljina po Breslovu i Klarku nezavisni prognostički faktori za SLČ pozitivnost, što je u saglasnosti sa našim rezultatima. Velika metaanaliza Wonga i sar. koja je obuhvatala sistematski pregled 73 studije objavljene u periodu 1990-2011. godine pokazala je da je biopsija SLČ prihvatljiva metoda za potvrdu pozitivnosti limfnih čvorova većine pacijenata sa novo dijagnostifikovanim melanomom, stadijum N0 (Wong SL i sar., 2012). Na osnovu dobijenih rezultata ove metaanalize SLČ biopsija se preporučuje za pacijente sa melanomom srednje debljine (debljina po Breslovu, 1-4 mm), bilo koje anatomske lokalizacije. Štaviše, pokazano je da upotreba SLČ biopsije u ovoj populaciji omogućava preciznu potvrdu pozitivnosti limfnih čvorova (Wong i sar., 2012). Iako postoji nekoliko studija koje su fokusirane na pacijente sa debelim melanomom (T4, Breslov debljina >4 mm), biopsija SLČ se može preporučiti zbog stažiranja i lokoregionalne kontrole bolesti (Wong i sar., 2012). Pored toga, nema dovoljno dokaza za podršku rutinskoj SLČ biopsiji za pacijente sa tankim melanomom (T1, debljina Breslov <1 mm), iako se može uzeti u obzir kod određenih pacijenata sa prisutnim faktorima rizika (ulceracija, visok mitotski indeks, histološki mikrosateliti...). S druge strane, radikalna disekcija regionalnih limfatika je preporučena za sve pacijente sa pozitivnom SLČ biopsijom i na osnovu toga se postiže dobra lokoregionalna kontrola

bolesti. Da li radikalna disekcija regionalnih limfatika nakon pozitivne biopsije SLČ poboljšava preživljavanje, bila je predmet multicentričnih selektivnih studija I i II (*Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial, MSLT I i II*). (Morton DL. i sar., 2014, ; Faries i sar., 2017). Rezultati prve velike internacionalne, multicentrične, prospektivne, randomizovane studije o selektivnim limfadenektomijama kod melanoma (*Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial, MSLT*) (Morton DL. i sar., 2005; Morton DL. i sar., 2006; Morton DL. i sar., 2014) ukazali su na značaj rane nodalne evaluacije i lečenja, obzirom da je patohistološki status sentinel limfnih čvorova bio najvažniji prognostički faktor i da su oni pacijenti kod kojih je učinjena SLČB imali manje recidiva, nego oni koji su tretirani samo širokom ekscizijom primarnog tumora, uz dalju observaciju limfnih čvorova. Kod pacijenata sa melanomima srednje debljine (definisano u MSLT-I kao debljina primarnog tumora 1,2-3,5mm) i nodalnim metastazama, rano hirurško lečenje ovih metastaza, vođeno SLČB, bilo je povezano sa boljim preživljavanjem specifičnim za bolest (definisano u MSLT-I kao preživljavanje do smrtnog ishoda od melanoma). Rezultati ove prve MSLT studije bili su osnova za preporuke referentnih onkoloških udruženja (Wong SL. i sar. 2012; Garbe C. i sar., 2002; Coit DG. i sar., 2016) da se SLČB primeni za stažiranje limfnih čvorova, kada je to moguće. Uprkos pokazanom prognostičkom značaju statusa limfnih čvorova kod melanoma, benefit od kompletiranja limfonodalne disekcije kod dokazanih metastaza u sentinelima i dalje je predmet rasprava, a nekolicina autora, umesto kompletiranja limfonodalne disekcije kod ovih pacijenata, preporučuje samo praćenje u smislu pojave nodalne bolesti (Wong SL. i sar., 2006; Bamboat ZM. i sar., 2014; Lee DY. i sar., 2016; Leiter U. i sar., 2016). Razlozi za preispitivanje "smisla" limfonodalnih disekcija nakon pozitivnih sentinela odnose se na komplikacije hirurškog lečenja (Faries MB. i sar., 2010), ali i činjenicu da većina pacijenata sa nodalnom bolešću ima metastaze samo u sentinel limfnim čvorovima koji su uklonjeni tokom SLČB. Sa druge strane, pokazano je da pacijenti koji imaju mikroskopske metastaze izvan sentinel limfnih čvorova imaju lošiju prognozu i sličan ishod lečenja kao pacijenti sa klinički evidentnim nodalnim metastazama (Reintgen M. i sar., 2013; Leung AM. i sar., 2013).

U nastavku MSLT, autori su analizirali klinički benefit od limfonodalnih disekcija kod pacijenata sa melanomom i metastazama u sentinel limfnim čvorovima, u

odnosu na ultrazvučno praćenje i disekciju samo kod onih pacijenata kod kojih se klinički verifikuje recidiv nodalne bolesti (Faries i sar., 2017).

Rezultati MSLT-II su, nasuprot rezultatima MSLT-I, pokazali da kompletiranje disekcije kod pozitivnih sentinela (disekciona grupa) nije bilo povezano sa boljim preživljavanjem specifičnim za bolest u odnosu na praćenje takvih pacijenata (observaciona grupa), iako je stopa preživljavanja bez znakova bolesti nakon 3 godine bila neznatno veća u disekcionoj, u odnosu na observacionu grupu. Sa druge strane, metastaze izvan sentinel limfnih čvorova, koje su verifikovane kod 11,5% pacijenata disekcione grupe, bile su nezavistan prognostički faktor za recidiv bolesti. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima naše studije u kojoj je kod 1 pacijenta (7%) bilo prisutna metastaza izvan sentinel limfnih čvorova. Naime, najvažnija varijabla koja je povezana sa povećanim rizikom za relaps bolesti u našoj studiji je SLČ pozitivnost. Njihovi rezultati su doveli do zaključka da kompletiranje disekcije kod pozitivnih sentinel limfnih čvorova povećava stopu kontrole regionalne bolesti, iako ne povećava preživljavanje specifično za bolest kod pacijenata sa melanomom i metastazama u sentinelima, ali je procenat zabeleženih komplikacija u disekcionoj grupi 4 puta veći nego u observacionoj. Prema DeCOG studiji kod SLČ metastaza koje su 1mm ili tanji nije potrebno raditi kompletnu disekciju lokoregionalnih limfatika budući da nema razlike od relapsu bolesti i ukupnog preživljavanja u odnosu na pacijente kod kojih je urađena kompletna disekcija lokoregionalnih limfatika, a značajno se smanjuje stopa intraoperativnog i postoperativnog komplikacija (krvarenje, limfedem ekstarmiteta) (Leiter U. i sar, 2016). U našem istraživanju ukupna stopa pozitivnosti stražarskog limfnog čvora je bila prisutna kod 10% pacijenata, što je niže u odnosu na prijavljenu stopu od 13 do 25% većine drugih autora (Berk DR. i sar., 2005). Međutim, Kesmodel i saradnici su pronašli da je ukupna stopa SLČ pozitivnosti bila svega 5% (Kesmodel SB. i sar., 2005). Svi njihovi pacijenti sa pozitivnim SLČ imali su $MI > 0$. Univarijantnom analizom, MI i debljina melanoma su bili značajni prediktori SLČ pozitivnost u ovoj studiji, kao što su pokazali i rezultati našeg istraživanja. Pored toga, ovi autori su pokazali da pacijenti sa $MI > 0$ i debljinom tumora $\geq 0,76$ mm su grupa sa većim rizikom i sa stopom pozitivnih SLČ od 12,3%. Studija Berka i saradnika je pokazala da su pozitivni SLČ otkriveni u 39 (15%) od 260 slučajeva, uključujući 0 (0%) od 45 za kožne melanome 1,0 mm debljine ili manje (T1), 21 (18%) od 115 za melanome

debljine od 1,01 do 2,0 mm (T2), 12 (19%) od 64 za melanome od 2,01 do 4,0 mm debljine (T3) i 5 (16%) od 32 za melanome debljine od 4,0 mm (T4). Ovo istraživanje je pokazalo da je srednja vrednost debljine tumora po Breslovu bila 1,89 mm za SLČ-pozitivne biopsije i 1,50 mm za SLČ-negativne biopsije. Stopa recidiva je iznosila 46% kod SLČ-pozitivnih pacijenata, sa srednjim vremenom ponavljanja bolesti od 8 meseci. Ovi autori daljom analizom pokazuju da je SLČ pozitivnost povezana sa AJCC tumorskom klasifikacijom, lokalizacijom na grudnom košu i prisustvom ulceracije (Berk DR. i sar., 2005). Naši rezultati takođe pokazuju vezu SLČ pozitivnosti sa prisustvom ulceracije. Međutim, naši rezultati nisu pokazali ovu vezu i sa primarnom lokalizacijom kožnog melanoma. Pored toga, autori ove studije, multivarijantnom logističkom regresijom su potvrdili da je ulceracija bila prediktivna za SLČ pozitivnosti, dok su SLČ status, ulceracija i lokacija bili prediktori za rekurentnu bolest. Ovi rezultati u vezi relapsa bolesti su u skladu sa rezultatima našeg istraživanja. Naime, i naši rezultati pokazuju da su SLČ pozitivnost i ulceracija povezani sa kraćim vremenskim intervalom do pojave relapsa bolesti. Još jedna velika metaanaliza Valsecchi ME i sar. bavila se ulogom biopsije SLČ za postavljanje dijagnoze kod pacijenata sa melanomom. Pregledani su objavljeni radovi na svim jezicima u periodu 1990-2009. godine i kritički su procenjeni. Primarni ishod uključivao je razmeru uspešno mapiranih pacijenata (*proportion successfully mapped*, PSM) i procenu testa, uključujući lažno negativnu stopu (*false-negative rate*, FNR), kao i pozitivnu prediktivnost za rekurentnu bolesti. Ukupno 71 studija, uključujući 25,240 pacijenata, ispunjavale su pune kriterijume za uključivanje u metaanalizu. Rezultati ove velike metaanalize su pokazali da je prosečna PSM 98,1%. Stopa je bila veća ukoliko su analizirani radovi novijeg datuma, kod osoba ženskog pola, ukoliko je prisutna i ulceracija i kod starijih osoba. FNR se kretao od 0,0% do 34,0%, u proseku 12,5%. FNR se povećao sa dužinom praćenja pacijenata, ali se smanjio sa većim indeksom PSM limfnih čvorova. Oko 20% pacijenata sa pozitivnim SLČ imalo je još dodatnih pozitivnih limfnih čvorova u kompletnom disektatu, dok je 7,5% bolesnika sa pozitivnim SLČ i nakon disekcije dobilo metastazu u istom limfatičkom region (Valsecchi ME. i sar., 2011). U našem istraživanju 15 (10,1%) pacijenata je imalo pozitivan SLČ, dok je samo 1 pacijent imao još dodatnih pozitivnih limfnih čvorova u kompletnom disektatu. Njihovi rezultati su takođe pokazali da je procenjeni rizik pojave metastaze u regionalnim limfaticima nakon negativne SLČ

biopsija bio je $\leq 5\%$, što ide u prilog ovoj tehnici obeležavanja regionalnih limfnih čvorova za staging bolesnika sa melanomom.

Naša stopa identifikacije biopsije stražarskog limfnog čvora (procenat pacijenata koji su uspešno mapirani) bio je 98%, što odgovara rezultatima sličnih serija i ukupnim prijavljenim stopama uspeha za biopsije od 98% (opseg 87-100%) (Wong SL. i sar., 2012). Sistematski pregled literature i metaanalize pokazuju da je biopsija SLČ izvodljiva i precizna tehnika, pri čemu se procene PSM kreću od 97,3% do 98,6% u meta-analizi (Wong i sar., 2012). Pored toga, dobijene stope od 12,5% i 3,4% za FNR, u većini studija podržavaju pouzdanost ove minimalno invazivne tehnike (Tejera-Vaquerizo A. i sar., 2015). Naši rezultati su pokazali da je prisustvo metastaza u stražarskim limfnim čvorovima bilo značajno povezano sa povećanom debljinom po Breslovu i Klarku, prisustvom ulceracije i visokim mitotskim indeksom, dok povezanost ne postoji za pol, starost, anatomsku lokalizaciju, regresiju i infiltraciju tumora. Slične rezultate pokazuje studija Tejera-Vaquerizo i sar. koja je takođe navodi da su ulceracija, debljina tumora i visoki mitotski indeks (≥ 6 mitoza/mm²) nezavisno povezani sa prisustvom metastaza u stražarskom limfnom čvoru (Tejera-Vaquerizo A. i sar., 2015) Pored toga, Tejera-Vaquerizo A. i saradnici su pokazali da je najvažniji prediktor SLČ pozitivnosti debljina po Breslovu. Rezultati ovih autora govore u prilog tome da su odsustvo inflamatornog infiltrata, starost pacijenata i lokalizacija tumora bili prediktivni za SLČ metastazu kod pacijenata sa tumorima debljim od 2 mm. U slučaju tanjih melanoma, prediktori su bili mitotski indeks (> 6 mitoza/mm²), prisustvo ulceracije i debljina tumora. S druge strane, ova studija pokazuje da starost pacijenta, mitotski indeks, debljina i lokalizacija tumora su važni prediktori preživljavanja kod pacijenata sa kožnim melanomom. Grupa Konofaosa i saradnika analizirala je sentinel limfne čvorove melanoma kože kod 144 pacijenata, sličnog broja pacijenata kao i mi u našem istraživanju. Kod 37 bolesnika (25,69%) SLČ je bio pozitivan. Nodularni melanomi, limfocitni infiltrat, mitotski indeks i debljina po Breslovu bili su prediktori SLČ pozitivnosti u njihovoj studiji. Recidiv bolesti, mortalitet i ukupna stopa preživljavanja bez bolesti (*disease free survival*, DFS) bila je 6,25, 1,4 i 93,75%. Pokazano je da je SLČ biopsija najvažniji prediktor za ranu pojavu bolesti i preživljavanje kod pacijenata sa kožnim melanomom (Konofaos P. i sar., 2014).

Štaviše, naši dobijeni rezultati pokazuju da debljina po Breslovu i Klarku, zajedno sa prisustvom ulceracije i visokim mitotskim indeksom imaju važnu ulogu u predviđanju metastaza u stražarskom limfnom čvoru. Naime, prisustvo ulceracije povećava rizik od metastaza u stražarskom limfnom čvoru oko 9 puta, a visoka mitotski indeks povećava rizik gotovo 8 puta. Pored toga, pacijenti sa debljinom po Breslovu > 0,8 mm i Klark nivoom 5 su imali oko 2,5 puta veći rizik od metastaza u stražarskom limfnom čvoru SLČ. Slično našim rezultatima, ulceracija je istaknuta kao važan nezavisni prediktor metastaza u stražarskom limfnom čvoru u nekoliko studija (Konofaos P. i sar., 2014; Tejera-Vaquerizo A. i sar., 2015). Studija Sartore L. i sar. je metodama univarijantne i multivarijantne logističke regresione analize ispitala odnose između prognostičkih faktora i pozitivnih limfnih čvorova. Dobijeni rezultati su pokazali da je 16% pacijenata imalo metastaze stražarskih limfnih čvorova. Univarijantnom analizom utvrđeno je da su debljina po Breslovu, ulceracija i limfovaskularna invazija značajni prognostički faktori za predviđanje postojanja klinički nepalpabilnih limfnih čvorova u regionalnim limfaticima. Pored toga, u daljoj analizi autori su korišćenjem ROC krive odredili debljinu po Breslovu zbog koje bi se izvršila SLČ biopsija. ROC kriva je identifikovala Breslov debljinu od 1,19 mm kao *cut off* vrednost, odnosno najbolju vrednost za postojanje rizika od metastaze limfnih čvorova ($p = 0,003$, senzibilnost 80%, specifičnost 69,6%). Pacijenti sa debljinom po Breslovu > ili = 1,19 mm, ulceracijom i limfovaskularnom invazijom imaju veći rizik od okultnih metastaza limfnih čvorova (Sartore L. i sar., 2008). Pored toga, naglasili su da je važno koristiti višestruke kriterijume selekcije pri izvođenju biopsije sentinel limfnih čvorova, naročito kod pacijenata sa tankim melanomom. Interesantno, u našoj podgrupi melanoma sa Breslov debljinom 0,8 mm ili manje, učestalost pozitivnosti stražarskog limfnog čvora bila je 0%, verovatno kao rezultat relativno malog broja pacijenata. S obzirom da se debljina po Breslovu tradicionalno smatra najvažnijim prediktorom prisustva metastaza u stražarskom limfnom čvoru, nakon analize ROC krive, dobili smo graničnu vrednost od 2,9 mm kao najbolju vrednost za postojanje rizika od metastaze limfnih čvorova. Rezultati različitih studija pokazali su nešto niže granične vrednosti (1,23, 1,50 i 1,8 mm) (Nguyen CL. i sar., 2001; Kesmodel SB i sar., 2005; Rex J. i sar., 2005; Tejera-Vaquerizo A. i sar., 2015). I pored toga što je u našoj studiji *cut off* vrednost 2,9 mm, kod dva pacijenta (14%) čiji je Breslov 1,5 i 1,8 mm pronađeni su

pozitivni SLČ. Iako se bilo koja granična vrednost mora pažljivo uzeti u obzir i trebalo bi uzeti u razmatranje više faktora od značaja kod pacijenata sa kožnim melanomom.

Iako mitotski indeks nije potvrđen kao konstantni prediktor metastaza u stražarskom limfnom čvoru kod pacijenata sa melanomom, naši rezultati pokazuju da mitotski indeks može imati značajnu prediktivnu ulogu metastaza u stražarskom limfnom čvoru, što je u skladu sa rezultatima studija Nagorom i sar. i Azzola i sar. (Azzola MF. i sar., 2003; Nagore E. i sar., 2005). Nagore E. i saradnici u svojoj studiji su određivali nezavisne kliničke i patološke prognostičke faktore za opšte preživljavanje i preživljavanje bez bolesti kod pacijenata sa melanomom u Španiji. Pregledano je 823 pacijenta sa lokalizovanim melanomom kože sa kompletnim kliničko-patološkim podacima (pol, lokalizacija, debljina tumora, stepen invazije, ulceracija, histološki podtip, inflamatorni infiltrat, mitotski indeks, vaskularna invazija, prisustvo mikroskopskih satelita, regresija tumora). Njihovi rezultati pokazuju da su pol, histološki podtip, debljina tumora, nivo invazije, ulceracija, inflamatorni infiltrat, prisustvo mikroskopskih satelita, vaskularna invazija i mitotski indeks bili povezani sa ukupnim preživljavanjem bez bolesti u ovoj studiji. Ovi autori navode da je debljina po Breslovu najznačajniji prognostički faktor za preživljavanje pacijenata sa primarnim melanomom kože. Pored toga, mitotski indeks se i u ovoj studiji potvrdio kao objektivni i nezavisni prediktor preživljavanja bez bolesti kod pacijenata sa melanomom (Nagore E. i sar., 2005).

U našoj studiji dalje smo analizirali asocijaciju ovih prognostičkih faktora sa ponovnom pojavom melanoma. Iako je prosečno vreme do prvog ponavljanja bilo 32 meseca, značajno kraći period bez relapsa bolesti bio je kod muškaraca. Pripadnici muškog pola imaju mnogo češće lošiji prognostički ishod kod melanoma kože u odnosu na žene. Naime, pokazano je da pripadnici muškog pola imaju mnogo češće lošiji prognostički ishod kod melanoma kože (Joosse A. i sar., 2011; Joosse A. i sar., 2013). Studija Joosse i sar. (2011) je pokazala da pacijenti ženskog pola sa melanomom generalno pokazuju značajno duže preživljavanje nego muškarci. Ova kohortna studija zasnovana na populaciji imala je za cilj ispitivanje razlika kod polova u preživljavanju i progresiji bolesti u svim stadijumima melanoma kože. Analizirano je ukupno 11.774 slučajeva melanoma izvučenih iz registra karcinoma u Minhenu (Nemačka), dijagnostikovanih između 1978. i 2007. godine Ovo istraživanje je pokazalo značajno

duže preživljavanja kod pacijenata ženskog pola. Pored toga, žene su imale manje rizik od progresije uključujući i manji rizik od metastaze limfnih čvorova i visceralnih metastaza. Lokalizovani primarni melanom kod žena pokazivao je manju sklonost metastazama, što je rezultiralo boljim preživljavanjem u poređenju sa muškarcima, čak i nakon prve progresije bolesti. Ovi rezultati ukazuju na razlike u interakciji između tumora i domaćina po polu. Rod je važan faktor kod pacijenata sa kožnim melanomom. Muškarci pacijenti imaju lošiji ishod u poređenju sa ženama. Razlozi za ovu razliku slabo su shvaćeni. I istraživačka grupa Scoggins CR. i sar. se bavila pacijentima od 18 do 70 godina sa melanomom > ili = 1,0 mm debljinom po Breslovu. Kliničko-patološki faktori, uključujući rod, procenjivani su u ovoj studiji su i koreliraju sa preživljavanjem bez bolesti (DFS), i ukupnim preživljavanjem (OS). Rezultati univarijantne analize pokazuju da je bilo više muškaraca od žena starijih od 60 godina, da muškarci imaju deblje melanome, imaju češće primarnu regresiju tumora, ulceraciju i aksijalno primarno mesto tumora. Međutim, autori su pokazali da nije bilo razlike u stopi SLČ metastaze između muškaraca i žena. Kada su razmotreni faktori koji utiču na preživljavanje, prognoza je bila lošija za muškarce, što je potvrđeno nižim DFS i OS. Muški pol je povezan sa većom učestalošću nepovoljnih primarnih tumorskih karakteristika bez povećanog rizika za metastazu u čvorovima. Ipak, rod je nezavisni faktor koji utiče na preživljavanje (Scoggins CR. i sar., 2006).

Log rank analiza naših rezultata pokazala je da samo debljina po Breslovu i ulceracija značajno utiču na relaps bolesti. Naime, vreme za pojavu relapsa kod pacijenata sa melanomom debljine po Breslovu manje od 0,8-2 mm je 33,9 meseci, dok kod bolesnika sa melanomom debljine po Breslovu više od 4 mm iznosi 17,8 meseci. Slično tome, u prisustvu ulceracije do pojave recidiva bolesti bilo je samo 21 mesec u odnosu na 34,2 meseca kod pacijenata bez ulceracije. Tako se debljina po Breslovu i prisustvo ulceracije smatraju najvažnijim prediktorima relapsa bolesti u našem istraživanju. Starost i anatomska lokalizacija melanoma kod pacijenta u našem istraživanju nisu bili statistički značajno povezani sa prisustvom metastaza u stražarskom limfnom čvoru i recidivom bolesti. Ipak, najkraće vreme za pojavu recidiva u našoj studiji, koje je primećeno u slučaju anatomske lokalizacije na glavi, vratu i trupu, potvrdili su i drugi autori (Fincher TR. i sar., 2004; Lin D. i sar., 2006). Svrha studije Lin i sar. bila je procena limfnih drenažnih obrasca kožnog melanoma glave i

vrata, koja je pokazana na preoperativnoj limfoscintigrafiji i tokom SLČB, kao i da se utvrdi diskrepanca od klinički predviđenih limfnih drenažnih područja. Izvršen je retrospektivni pregled 114 bolesnika sa melanomom kože glave i vrata, koji su imali preoperativnu limfoscintigrafiju i SLČB u periodu od 2001. do 2004. Najmanje jedan stražarski limfni čvor je identifikovan u 97% slučajeva. Na preoperativnoj limfoscintigrafiji, SLČ je identifikovan na području koja nije klinički predviđena u 49 slučajeva (43%). Najčešće drenažno mesto koje nije zahvaćeno standardnim disekcijama vrata bilo je u retroaurikularnoj regiji. Histološke karakteristike kao što je debljina po Breslovu, ulceracija i mitotski indeks su glavni kriterijumi za izvođenje biopsije limfnih čvorova (SLČB) u melanomu. Pored toga, složenost limfnog sistema na nivou glave i vrata izgleda da povećava verovatnoću hematogene metastaze (Lin D. i sar., 2006). Zaista, ovi nalazi su biološki prihvatljivi, jer je kraće vreme bez bolesti i ukupno preživljavanje u slučaju lokalizacije na glavi, vratu i trupu melanoma mogu biti posledica povećane vaskularizacije ovih tumora.

Dermoskopija može dodati komplementarne informacije ovim kriterijumima. Da bi se procenila korelacija između dermoskopije i SLČB pozitivnosti studija González-Álvarez i sar. analizirala je 123 pacijenata sa melanomom kože i Breslov debljinom >0,75 mm. SLČB je izvedena tokom kliničkog praćenja i nalaza dermoskopije. Prisustvo ulceracije i odsustvo pigmentirane mreže u dermoskopiji korelirao je sa pozitivnim SLČB. Histološka ulceracija takođe je u korelaciji sa pozitivnim SLČB. Dermoskopija SCORE predviđa SLČ status sa osetljivošću od 96,3% i specifičnost od 30,2%. Kada su dodata i debljina po Breslovu i pol (SCOREBRESEX), osetljivost je ostala na 96,3%, ali specifičnost se povećala na 52,1%. Dermoskopija je omogućila preciznije prognoziranje SLČ statusa. Ako se kombinovani SCOREBRESEX koristi za odabir bolesnika za SLČB, 41,5% procedura se može izbeći (González-Álvarez T. i sar., 2015). Naša studija ne uključuje podatke o dermoskopskim pregledima, ali prisustvo ulceracije i debljina po Breslovu su statistički značajani prediktori SLČ pozitivnosti. U narednim istraživanjima bilo bi poželjno uključiti i rezultate dermoskopskih pregleda kao potencijalne prediktivne parameter za SLČB. Studija Rossi i sar. je pokazala da je kod 20% pacijenata sa melanomom koji su imali pozitivan sentinel čvor imalo metastazu u drugim ne-sentinelnim limfnim čvorovima (NSČ), a nedavni dokazi dovode u pitanje terapeutsku korist završne disekcije limfnih čvorova. U ovoj studiji su izradili

nomogram za prognozu pozitivnih NSČ kod pacijenata sa melanomom i pozitivnim SLČ. Stoga su prikupljeni podaci iz devet italijanskih centara o antropometrijskim i kliničko-patološkim karakteristikama pacijenata sa kožnim melanomom koji su bili podvrgnuti disekciji lokoregionalnih limfatika nakon pozitivnog SLČ-a. Multivarijantna logistička regresija korišćena je za identifikaciju prediktora NSČ statusa. Podaci su bili dostupni za 1220 pacijenata koji su bili tretirani od 2000. do 2016. godine. Rezultati su pokazali da rizik od pozitivnosti NSČ-a bio je veći kada (1) je primarni melanom deblji ili (2) lokalizovan na trupu/glavi i vratu (3) kad je manje čvorova ekstirpirano i (4) kada postoji veći broj pozitivnih sentinel čvorova i (5) kada je metastatski izmenjen limfni čvor veći ili (6) je lociran u dubljem lokoregionalnom limfatičkom slivu. Nomogram uključujući ovih šest kliničko-patoloških varijabli izvršio je znatno bolju diskriminaciju i kalibraciju od pet drugih prethodno objavljenih modela. Ovaj nomogram bi mogao biti koristan za personalizaciju praćenja u kliničkoj praksi, kao i za stratifikaciju rizika kod pacijenta tokom sprovođenja kliničkih ispitivanja ili analiziranja njihovih rezultata (Rossi CR. i sar., 2018). Nedavni rezultati prospektivne studije Lee i sar. (Lee DY i Huynh KT; 2016) koja se bavila ispitivanjem 2986 pacijenata sa medijanom praćenja od 93 meseca. Prosečna starost kohorte bila je 56 godina, a srednja vrednost debljine po Breslovu bila je 1,8 mm. Većina bolesnika bila je muškog pola (61,0%) i imala je IV-V Klark nivo tumora (51,4%), dok je trup (38,7%) bio najčešća primarna lokalizacija tumora. Muški pol, in tranzit metastaze kod primarnog tumora glave i vrata najčešće su povezani sa lažno negativnim stražarskim limfnim čvorovima. Pacijenti sa lažno negativnim stražarskim limfnim čvorovima imali su češće udaljene metastaze i lokoregionalne recidive u poređenju sa onima koji su imali metastaze otkrivene tokom SLČB i onih koji su imali negativan SLČB. Osim toga, nalaz lažno negativnih stražarskih limfnih čvorova je bio nezavisni prediktor lošeg preživljavanja kod melanoma <4 mm, ali ova razlika u preživljavanju je postala očigledna tek nakon 5 godina praćenja.

6. ZAKLJUČCI

- Pacijenti sa višim stepenom debljine po Breslovu i Klarku, ulceracijama i višim stepenom mitotskog indeksa, imaju veći rizik za prisustvo metastaza u stražarskim limfnim čvorovima. Pacijenti sa svakim višim stepenom debljine tumora po Breslovu imaju 2,6 puta veći rizik za prisustvo metastaza u stražarskom limfnom čvoru. Pacijenti sa svakim višim stepenom debljine po Klarku imaju 2,2 puta veći rizik za prisustvo metastaza u stražarskom limfnom čvoru. Prisustvo ulceracije povećava rizik od metastaza u stražarskom limfnom čvoru oko 9 puta, dok svaki viši stepen mitotskog indeksa povećava rizik od metastaza u stražarskom limfnom čvoru oko 8 puta.
- Kraće vreme do prvog relapsa imali su pacijenti muškog pola, sa višim stepenima debljine tumora po Breslovu i ulceracijama.
- Viši stepen debljine tumora po Breslovu i Klarku, postojanje ulceracije primarnog tumora i pozitivan SLČ povezani su sa povećanim hazardom za pojavu relapsa bolesti.
- Pacijenti sa pozitivnim SLČ nalazom imaju 4,5 puta veći hazard za nastanak relapsa bolesti.
- Optimalna vrednost praga debljine melanoma po Breslovu za detekciju pozitivnosti sentinel limfnih čvorova iznosi 2,9 mm.
- Prilikom izvođenja i predviđanja SLČ pozitivnosti, kao i ponovnog pojavljivanja bolesti, treba koristiti višestruke kriterijume u analizi.

7. LITERATURA

1. Abraha HD, Fuller LC, Du Vivier AW, Higgins EM, Sherwood RA Serum S-100 protein: a potentially useful prognostic marker in cutaneous melanoma. *Br J Dermatol.* 1997;137(3):381-5.
2. Ackerman L, Del Regato J. *Cancer: Diagnosis, Treatment, and Prognosis.* St. Louis: CV Mosby; 1954
3. *AJCC Cancer Staging Manual (8th Edn).* Amin, M.B., Edge, S., Greene, F., Byrd, D.R., Brookland, R.K., Washington, M.K., Gershenwald, J.E., Compton, C.C., Hess, K.R., Sullivan, D.C., Jessup, J.M., Brierley, J.D., Gaspar, L.E., Schilsky, R.L., Balch, C.M., Winchester, D.P., Asare, E.A., Madera, M., Gress, D.M., Meyer, L.R. (Eds.). New York: Springer-Verlag, 2017.
4. Azzola MF, Shaw HM, Thompson JF. Tumor mitotic rate is a more powerful prognostic indicator than ulceration in patients with primary cutaneous melanoma: An analysis of 3,661 patients from a single center. *Cancer* 2003;97:1488-98.
5. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF. Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol.* 2001; 19(16):3635-48.
6. Balch CM, Gershenwald JE, Buzaid AC, et al. Staging and Classification, in Balch CM, Houghton AN, Sober AJ, et al. (eds). *Cutaneous Melanoma.* 4th ed. St. Louis, MO: Quality Medical Publishing; 2003: 55–76.
7. Balch CM, Soong SJ, Atkins MB, Buzaid AC, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF. An evidence-based staging system for cutaneous melanoma. *CA Cancer J Clin,* 2004; 54(3): 131-49
8. Balch CM, Gershenwald JE. Clinical value of the sentinel-node biopsy in primary cutaneous melanoma. *N Engl J Med* 2014; 370:663-4.

9. Balch CM, Murad TM, Soong SJ i sar. A multifunctional analysis of melanoma, prognostic histopathological features comparing Clark's and Breslow's staging methods. *Ann Surg* 1970; 172(5) 902-8
10. Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE Thompson JF, Reintgen DS, Cascinelli N, Urist M, McMasters KM, Ross MI, Kirkwood JM, Atkins MB, Thompson JA, Coit DG, Byrd D, Desmond R, Zhang Y, Liu PY, Lyman GH, Morabito A.. Prognostic factors analysis of 17600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol*. 2001; 19(16): 3622-34.
11. Balch CM. A new AJCC staging system for cutaneous melanoma. *Cancer* 2000; 88: 1484.
12. Balch CM. *Cutaneous Melanoma*, 2nd Ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1992.
13. Balch, MD, Thompson, MD, Faries, MD: The Clinical Value of Sentinel Lymph Node Biopsy In Melanoma Staging Regional Disease Control, and Survival. *Skin Cancer Foundation. The Melanoma Letter Summer 2015, Vol 33, No. 1*
14. Bamboat ZM1, Konstantinidis IT, Kuk D, Ariyan CE, Brady MS, Coit DG. Observation after a positive sentinel lymph node biopsy in patients with melanoma. *Ann Surg Oncol*. 2014;21(9):3117-23.
15. Barnhill RI, Mihm MC Jr. The histopatology of cutaneous malignant melanoma. *Semin Diagn Pathol* 1993; 10: 47-75
16. Barth A, Wanek LA, Morton D. Prognostic factors in 1521 melanoma patients with distant metastasis. *J Am Coll Surg* 1995; 181(3): 193-201.
17. Bastuji-Garin S, Diepgen TL: Cutaneous malignant melanoma, sun exposure, and sunscreen use: epidemiological evidence. *Br J Dermatol* 2002; 146(suppl.61): 24-30.
18. Berk DR, Johnson DL, Uzieblo A, Kiernan M, Swetter SM. Sentinel lymph node biopsy for cutaneous melanoma: the Stanford experience, 1997-2004. *Arch Dermatol* 2005;141(8):1016–22.

19. Borg A, Sandberg T, Nilsson K, Johansson O, Klinker M, Masback A, Westerdahl J, Olsson H, Ingvar C. High frequency of multiple melanomas and breast and pancreas carcinomas in CDKN2A mutation-positive melanoma families. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1260–6.
20. Bulliard JL, Cox B. Cutaneous malignant melanoma in New Zealand: trends by anatomical site, 1969-1993. *J Natl Cancer Inst* 2000; 29: 416-23
21. Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977;39:456-66.
22. Cadili A. and Dabbs K. Predictors of sentinel lymph node metastasis in melanoma. *Can J Surg*. 2010 Feb; 53(1): 32–36.
23. Cody HS, Fey J, Akhurst T. Complementarity of blue dye and isotope in sentinel localisation for breast cancer: univariate and multivariate analysis of 966 procedures. *Ann Surg Oncol* 2001; 8:13-19.
24. Coit C, Ferrone CR. Metastatic surveillance and follow up. U: Balch CM, Houghton AN, Sober AJ, Soong SJ. Cutaneous melanoma. St.Louis, Missouri: Quality Medical Publishing Inc. 2003; 511-522.
25. Coit DG, Thompson JA, Algazi A, Andtbacka R, Bichakjian CK, Carson WE 3rd, Daniels GA, DiMaio D, Fields RC, Fleming MD, Gastman B, Gonzalez R, Guild V, Johnson D, Joseph RW, Lange JR, Martini MC, Materin MA, Olszanski AJ, Ott P, Gupta AP, Ross MI, Salama AK, Skitzki J, Swetter SM, Tanabe KK, Torres-Roca JF, Trisal V, Urist MM, McMillian N, Engh A. NCCN Guidelines Insights: Melanoma, Version 3.2016. *J Natl Compr Canc Netw*. 2016;14(8):945-58.
26. Czarnecki D, Meehan CJ. Is the incidence of malignant melanoma decreasing in young Australians? *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 672-4.
27. Dale Han, Daohai Yu, Xiuhua Zhao, Suroosh S Marzban, Jane L Messina, Ricardo J Gonzalez, C Wayne Cruse, Amod A Sarnaik, Christopher Puleo, Vernon K Sondak, and Jonathan S. Zager. Sentinel node biopsy is indicated for thin melanomas ≥ 0.76 mm. *Ann Surg Oncol*. 2012; 19(11): 3335–3342.

28. Dancan LM, Deeds J, Cronin FE Deeds J, Cronin FE, Donovan M, Sober AJ, Kauffman M, McCarthy JJ. Melastatin expression and prognosis in cutaneous malignant melanoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 568-576.
29. Davies H Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, Teague J, Woffendin H, Garnett MJ, Bottomley W, Davis N, Dicks E, Ewing R, Floyd Y, Gray K, Hall S, Hawes R, Hughes J, Kosmidou V, Menzies A, Mould C, Parker A, Stevens C, Watt S, Hooper S, Wilson R, Jayatilake H, Gusterson BA, Cooper C, Shipley J, Hargrave D, Pritchard-Jones K, Maitland N, Chenevix-Trench G, Riggins GJ, Bigner DD, Palmieri G, Cossu A, Flanagan A, Nicholson A, Ho JW, Leung SY, Yuen ST, Weber BL, Seigler HF, Darrow TL, Paterson H, Marais R, Marshall CJ, Wooster R, Stratton MR, Futreal PA.. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417: 949-954.
30. Davis NC, William Norris, MD. A pioneer in the study of melanoma. *Med J Aust* 1980; 1: 52-4.
31. Devery JM1, King NJ, Geczy CL. Acute inflammatory activity of the S100 protein CP-10. Activation of neutrophils in vivo and in vitro. *J Immunol.* 1994 15;152(4):1888-97.
32. DL Morton, L Wanek, J A Nizze, I sar. Improved long-term survival after lymphadenectomy of melanoma metastatic to regional nodes. Analysis of prognostic factors in 1134 patients from the John Wayne Cancer Clinic. *Ann Surg.* 1991; 214(4): 491–9.
33. Džodić R. Hirurgija raka dojke. Dosije, Beograd 2005: 15-22.
34. Egger ME, Bhutiani N, Farmer RW, Stromberg AJ, Martin RC 2nd, Quillo AR, McMasters KM, Scoggins CR. Prognostic factors in melanoma patients with tumor-negative sentinel lymph nodes. *Surgery.* 2016; 159(5):1412-21.
35. Faries MB, Thompson JF, Cochran AJ, Andtbacka RH, Mozzillo N, Zager JS, Jahkola T, Bowles TL, Testori A, Beitsch PD, Hoekstra HJ, Moncrieff M, Ingvar C, Wouters MWJM, Sabel MS, Levine EA, Agnese D, Henderson M, Dummer R, Rossi CR, Neves RI, Trocha SD, Wright F, Byrd DR, Matter M, Hsueh E, MacKenzie-Ross A, Johnson DB, Terheyden P, Berger AC, Huston TL, Wayne JD,

- Smithers BM, Neuman HB, Schneebaum S, Gershenwald JE, Ariyan CE, Desai DC, Jacobs L, McMasters KM, Gesierich A, Hersey P, Bines SD, Kane JM, Barth RJ, McKinnon G, Farma JM, Schultz E, Vidal-Sicart S, Hoefler RA, Lewis JM, Scheri R, Kelley MC, Nieweg OE, Noyes RD, Hoon DSB, Wang HJ, Elashoff DA, Elashoff RM. Completion Dissection or Observation for Sentinel-Node Metastasis in Melanoma. *N Engl J Med*. 2017;376(23):2211-2222.
36. Faries MB, Wanek LA, Elashoff D, Wright BE, Morton DL. Predictors of occult nodal metastasis in patients with thin melanoma. *Arch Surg*. 2010 Feb;145(2):137-42.
 37. Fincher TR, O'Brien JC, McCarty TM, Fisher TL, Preskitt JT, Lieberman ZH, Stephens JF, Kuhn JA. Patterns of drainage and recurrence following sentinel lymph node biopsy for cutaneous melanoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 130(7):844–8.
 38. Galliot RC, Cailliod R, Trost O, Danino A, et al. The prognostic impact of the extent of lymph node dissection in patients with stage III melanoma. *Eur J Surg Oncol*. 2006; 32(7): 790-4
 39. Garbe C. A rational approach to the follow up of melanoma patients. *Recent Results Cancer Res* 2002; 160: 205-215.
 40. Gaynor R, Irie R, Morton D, Herschman HR. S100 protein is present in cultured human malignant melanomas. *Nature*. 1980 24;286(5771):400-1.
 41. Gennari R, Stoldt HS, Bartolomei M, Zurrida S, Testori A, Mazzarol G, Paganelli G, Veronesi U. Sentinel node localisation: A new prospective in the treatment of nodal melanoma metastases. *Int J Oncol*. 1999;15(1):25-32.
 42. Gennari R, Bartolomei M, Testori A, Zurrida S, Stoldt HS, Audisio RA, Geraghty JG, Paganelli G, Veronesi U. Sentinel node localization in primary melanoma: preoperative dynamic lymphoscintigraphy, intraoperative gamma probe, and vital dye guidance. *Surgery*. 2000;127(1):19-25.
 43. Gershenwald JE, Soong SJ, Balch CM; American Joint Committee on Cancer (AJCC) Melanoma Staging Committee. 2010 TNM staging system for cutaneous melanoma...and beyond. *Ann Surg Oncol*. 2010 Jun;17(6):1475-7.

44. Gimotty PA, Guerry D, Ming ME, Elenitsas R, Xu X, Czerniecki B, Spitz F, Schuchter L, Elder D. Thin primary cutaneous malignant melanoma: a prognostic tree for 10-year metastasis is more accurate than American Joint Committee on Cancer staging. *J Clin Oncol*. 2004 Sep 15;22(18):3668-76.
45. Giuliano AE, Haigh PI, Brennan MB. Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further axillary dissection in patients with sentinel node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18:2553-2559.
46. Goldstein AM, Struwing JP, Chidambaram A, Fraser MC, Tucker MA. Genotype-phenotype relationships in U.S. melanoma-prone families with CDKN2A and CDK4 mutations. *J Nat cancer Inst* 2000; 92:1006-10.
47. González-Álvarez T, Carrera C, Bennassar A, Vilalta A, Rull R, Alos L, Palou J, Vidal-Sicart S, Malveyh J, Puig S. Dermoscopy structures as predictors of sentinel lymph node positivity in cutaneous melanoma. *Br J Dermatol*. 2015 172(5):1269-77.
48. Gould EA, Winship T, Philbin PH, Kerr HH: Observations on a Sentinel Node in cancer of the parotid. *Cancer* 1960; 13:77-8
49. Gray-Schopfer VC, Wellbrock C and Marais R. Melanoma biology and new targeted therapy. *Nature* 2007; 445: 851-857.
50. Haqq C, Nosrati M, Sudilovsky D, Crothers J, Khodabakhsh D, Pulliam BL, Federman S, Miller JR 3rd, Allen RE, Singer MI, Leong SP, Ljung BM, Sagebiel RW, Kashani-Sabet M. The gene expression signatures of melanoma progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 6092-7.
51. Hauschild A, Christopher E. Sentinel node biopsy in melanoma. *Virchows Arch* 2001; 439: 99-106.
52. Heizmann CW, Fritz G, Schäfer BW. S100 proteins: structure, functions and pathology. *Front Biosci*. 2002 1;7:d1356-68.
53. Holmes EC, Moseley HS, Morton DL et al. A rational approach to the surgical management of melanoma. *Ann Surg* 1977;186:481-490.

54. Hunger RE, Michel A, Seyed Jafari SM, Shafighi M. Sentinel lymph node biopsy in thick malignant melanoma: A 16-year single unit experience. *Eur J Dermatol*, 2015 1;25(5):472-6.
55. Hussussian, CJ, Struewing, JP, Goldstein, AM Higgins PA, Ally DS, Sheahan MD, Clark WH Jr. et al. Germline p16 mutations in familial melanoma. *Nat Genet* 1994; 8: 23-6
56. Hwo WJ, Ralch CM, Houghton AN. Diagnosis of stage IV disease. U:Balch CM, Houghton AN, Sober AJ, Soon Sj, *Cutaneous melanoma 4 izd.* St.Louis, Missouri: Quality Medical Publishing Inc 2003; 523-46.
57. J.L. Builliard, B. Cox and J. Elwood, Trend by anatomic site in the incidence of cutaneous malignant melanoma in Canada, 1969–93. *cancer Causes control* 1999; 10: 407-16
58. Jemal A, Devesa SS J Recent trends in cutaneous melanoma incidence among whites in the United States. *Natl Cancer Inst.* 2001 May 2; 93(9): 678-83.
59. Joosse A, Collette S, Suci S, Nijsten T, Patel PM, Keilholz U, Eggermont AM, Coebergh JW, de Vries E. Sex is an independent prognostic indicator for survival and relapse/progression-free survival in metastasized stage III to IV melanoma: a pooled analysis of five European organisation for research and treatment of cancer randomized controlled trials. *J Clin Oncol* 2013; 31(18):2337–46.
60. Joosse A, De Vries E, Eckel R, ijsten T, Eggermont AM, Hölzel D, Coebergh JW, Engel J. Gender differences in melanoma survival: female patients have a decreased risk of metastasis. *J Investig Dermatol* 2011; 131(3):719–26.
61. Kakinuma T, Hwang ST. Chemokines, chemokine receptors and cancer metastasis. *J Leukoc Biol* 2006; 79: 639-51.
62. Kamb A, Shattuck Eidens D, Eeles R, Liu Q, Gruis NA, Ding. W, Hussey C, Tran T, Miki Y. Analysis of the p16 gene (CDKN2) as a candidate for the chromosome 9p melanoma susceptibility locus. *Nature Genet* 1994; 8: 23-6
63. Kanzler M, Mraz-Gernhard S. Primary cutaneous malignant melanoma and its precursor lesion: diagnostic and therapeutic overview. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45: 260-76

64. Karakousis CP, Emrich LJ, Driscoll DL, Rao U. Survival after groin dissection for malignant melanoma. *Surgery*. 1991; 109: 119-126.
65. Kelemen R. Development of sentinel lymph node biopsy for melanoma. *Facial Plast Surg Clin N Am* 2003; 11: 69-74.
66. Kesmodel SB, Karakousis GC, Botbyl JD, Canter RJ, Lewis RT, Wahl PM, Terhune KP, Alavi A, Elder DE, Ming ME, Guerry D, Gimotty PA, Fraker DL, Czerniecki BJ, Spitz FR. Mitotic Rate as a Predictor of Sentinel Lymph Node Positivity in Patients With Thin Melanomas. *Ann Surg Oncol* 2005;12(6):449–58.
67. Kheir SM, Bines SD, Vonroenn JH: Prognostic significance of DNA aneuploidy in stage I cutaneous melanoma. *Ann Surg* 1988; 207(4): 455-. 61.
68. Konofaos P, Karypidis D, Chrisostomidis C, Kostopoulos E, Champsas G, Papadopoulos O. *J BUON*. 2014;19(1):263-72.
69. Kottapurath Kanjumoiden. History of cancer. *Medicineworld.org*; 2005.
70. Krag D, Weaver D, Ashikana T. The sentinel node in breast cancer – a multicenter validation study. *New Engl J. Med* 1998; 339:941-946.
71. Kruper LL, Spitz FR, Czerniecki BJ, Fraker DL, Blackwood-Chirchir A, Ming ME, Elder DE, Elenitsas R, Guerry D, Gimotty PA. Predicting sentinel node status in AJCC stage I/II primary cutaneous melanoma. *Cancer*. 2006; 107(10):2436-45.
72. Lee DY, Huynh KT, Teng A, Lau BJ, Vitug S3, Lee JH, Stern SL, Foshag LJ, Faries MB. Predictors and Survival Impact of False-Negative Sentinel Nodes in Melanoma. *Ann Surg Oncol* 2016;23(3):1012-8.
73. Leiter U, Stadler R, Mauch C, Hohenberger W, Brockmeyer N, Berking C, Sunderkötter C, Kaatz M, Schulte KW, Lehmann P, Vogt T, Ulrich J, Herbst R, Gehring W, Simon JC, Keim U, Martus P, Garbe C; German Dermatologic Cooperative Oncology Group (DeCOG). Complete lymph node dissection versus no dissection in patients with sentinel lymph node biopsy positive melanoma (DeCOG-SLT): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(6):757-767.

74. Leung AM, Morton DL, Ozao-Choy J, Hari DM, Shin-Sim M, Difronzo AL, Faries MB. Staging of regional lymph nodes in melanoma: a case for including nonsentinel lymph node positivity in the American Joint Committee on Cancer staging system. *JAMA Surg* 2013;148(9):879-84.
75. Levy C, Khaled M, Fisher DE. MITF: master regulator of melanocyte development and melanoma oncogene. *Trends Mol Med* 2006; 12: 406-414.
76. Lin D, Franc BL, Kashani-Sabet M, Singer MI. Lymphatic drainage patterns of head and neck cutaneous melanoma observed on lymphoscintigraphy and sentinel lymph node biopsy. *Head Neck* 2006; 28(3):249–55.
77. M Inić, R Džodić, B Gudurić. MELANOM, Beograd 2007.
78. MacKie RM, Bray CA, Hole DJ, Morris A, Nicolson M, Evans A, Doherty V, Vestey J, Scottish melanoma group. Incidence of and survival from malignant melanoma in Scotland: an epidemiological study. *Lancet* 2002; 360; 587-91
79. Mansson-Brahme Eva; Johansson Hemming; Larsson Olle; Rutqvist Lars E; Ringborg Ulrik. Trends in incidence of cutaneous malignant melanoma in a Swedish population 1976-1994. *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)* 2002; 41(2): 138-46.
80. Marks R. The changing incidence and mortality of melanoma in Australia. *Recent Results Cancer Res* 2002; 160: 113-21
81. Mayer T, Markel S, Gohl J, Hohenberger W. Lymph node dissection for clinically evident lymph node metastases of malignant melanoma. *Surg Oncol* 2002; 28(4): 424-30.
82. McKinnon JG, Yu XQ, McCarthy WH, Thompson JF. Prognosis for patients with thin cutaneous melanoma: long-term survival data from New South Wales Central Cancer Registry and the Sydney Melanoma Unit. *Cancer*. 2003 15;98(6):1223-31.
83. Melanom, S.Stanec, Z.Stanec, Medicinska Naklada-Zagreb, 2006.
84. Modeli za procenu rizika obolevanja od melanoma kože. Doktorska teza, Jelena Nikolić, Novi Sad, 2013. god.

85. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Elashoff R, Essner R, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Reintgen DS, Coventry BJ, Glass EC, Wang HJ; MSLT Group. Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Engl J Med*. 2006; 28;355(13):1307-17.
86. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Nieweg OE, Roses DF, Hoekstra HJ, Karakousis CP, Puleo CA, Coventry BJ, Kashani-Sabet M, Smithers BM, Paul E, Kraybill WG, McKinnon JG, Wang HJ, Elashoff R, Faries MB; MSLT Group.. Final Trial Report of Sentinel-Node Biopsy versus Nodal Observation in Melanoma. *N Engl J Med* 2014;370(7):599–609.
87. Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, Roses DF, Karakousis CP, Mozzillo N, Reintgen D, Wang HJ, Glass EC, Cochran AJ. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Ann Surg* 1999; 230: 453.
88. Morton DL, Wen D, Wong JH. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*, 1992; 127:392-399.
89. Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1991;127(4):392-9.
90. Morton DL, Wen DR, Wong JH. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127(4):392-399.
91. Morton, D.L., Wen, D.R., Wong, J.H I sur. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*,1992; 127(4): 392-9
92. Moser J, Moshhammer R, Koglbauer G, Kitzwögerer M, Bachner M, Trautinger F. Sentinel-node biopsy in melanoma: A single center experience with 216 consecutive patients. *Br J Dermatol*. 2016; 174(4):889-91.
93. Nagore E, Oliver V, Botella-Estrada R, Moreno-Picot S, Insa A, Fortea JM. Prognostic factors in localized invasive cutaneous melanoma: High value of mitotic rate, vascular invasion and microscopic satellitosis. *Melanoma Res* 2005;15:169-77.

94. Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Kameya T, Shimosato Y, Ishihara K. Immunohistochemical demonstration of S100 protein in malignant melanoma and pigmented nevus, and its diagnostic application. *Cancer*. 1982 ;50(5):912-8.
95. Nguyen CL, McClay EF, Cole DJ, O'Brien PH, Gillanders WE, Metcalf JS, Maize JC, Baron PL.. Melanoma thickness and histology predict sentinel lymph node status. *Am J Surg* 2001;181:8–11.
96. Nikolin B, Djan I, Trifunovic J, Dugandzija T, Novkovic D, Djan V. MIA, S100 and LDH as important predictors of overall survival of patients with stage IIb and IIc melanoma. *J BUON*. 2016;21:691–7
97. Norman J, Cruse CW, Espinosa C, Cox C, Berman C, Clark R, Saba H, Wells K, Reintgen D. Redefinition of cutaneous lymphatic drainage with the use of lymphoscintigraphy for malignant melanoma. *Am J Surg* 1991; 162: 432-7.
98. Novaković M, Babović B. *Melanom kože*. Beograd: Akademija medicinskih nauka Srpskog lekarskog društva, 2014. ISBN 978-86-6061-044-9
99. Padget J. *Lectures on Surgical Pathology, Vol 2*: Longman, Brown, Green and Longman, London 1858.
100. Poo-Hwu WJ1, Ariyan S, Lamb L, Papac R, Zeltermann D, Hu GL, Brown J, Fischer D, Bologna J, Buzaid AC. Follow-up recommendations for patients with American Joint Committee on Cancer Stages I-III malignant melanoma. *Cancer*. 1999 Dec 1;86(11):2252-8.
101. Porter GA, Ross MI, Berman RS, Sumner WE 3rd, Lee JE, Mansfield PF, *Gershenwald JE*. How many lymph nodes are enough during sentinel lymphadenectomy for primary melanoma? *Surgery* 2000; 128: 306-11.
102. Quinn MJ, Crotty KA, Thompson JF, Coates AS, O'Brien CJ, McCarthy WH. Desmoplastic and desmoplastic neurotropic melanoma: experience with 280 patients. *Cancer* 1998; 83: 1128-35.
103. Reintgen M, Murray L, Akman K, Giuliano R, Lozicki A, Shivers S, Reintgen D. Evidence for a better nodal staging system for melanoma: the clinical relevance of metastatic disease confined to the sentinel lymph nodes. *Ann Surg Oncol*. 2013;20(2):668-74.

104. Rex J, Paradelo C, Mangas C, et al. Single-institution experience in the management of patients with clinical stage I and II cutaneous melanoma: results of sentinel lymph node biopsy in 240 cases. *Dermatol Surg* 2005;31:1385–93.
105. Ross K, Cherpelis B, Lien M, Fenske N. Spotlighting the role of photodynamic therapy in cutaneous malignancy: an update and expansion. *Dermatol Surg*. 2013;39(12):1733-44.
106. Ross MI, Balch CM. Surgical treatment of primary melanoma. U: Balch CM, Houghton AN, Sober AJ. *Cutaneous melanoma*. Quality Medical Publishing, St. Louis 1998: 141-54
107. Rossi CR, Mocellin S, Campana LG, Borgognoni L, Sestini S, Giudice G, Caracò C, Cordova A, Solari N, Piazzalunga D, Carcoforo P, Quaglino P, Caliendo V, Ribero S. Prediction of Non-sentinel Node Status in Patients with Melanoma and Positive Sentinel Node Biopsy: An Italian Melanoma Intergroup (IMI) Study.; Italian Melanoma Intergroup (IMI). *Ann Surg Oncol*. 2018 ;25(1):271-279..
108. Salama II, Malone PS, Mihaimed F, Jones JL. A review of the S100 proteins in cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2008;34(4):357-64.
109. Sartore L, Papanikolaou GE, Biancari F, Mazzoleni F. Prognostic factors of cutaneous melanoma in relation to metastasis at the sentinel lymph node: a case-controlled study. *Int J Surg* 2008;6(3):205-9.
110. Schuchter L, Schultz DJ, Synnestvedt M, Trock BJ, Guerry D, Elder DE, Elenitsas R, Clark WH, Halpern AC. A prognostic model for predicting 10-year survival in patients with primary melanoma. The Pigmented Lesion Group. *Ann Intern Med*. 1996; 125(5): 369-75.
111. Scoggins CR, Ross MI, Reintgen DS, Noyes RD, Goydos JS, Beitsch PD, *Ann Surg*. 2006; 243 (5): 693-8.
112. Sekula-Gibbs SA, Shearer MA. Sentinel node biopsy should be offered in thin melanoma with mitotic rate greater than one. *Dermatol Surg*. 2011;37(8):1080-8.
113. Sharma A, Trivedi NR, Zimmerman MA, Tuveson DA, Smith CD, Robertson GP.. Mutant V5999EB-Raf regulates growth and vascular development of malignant melanoma tumors. *Cancer Res* 2005; 65: 2412-2421.

114. Shaw RJ, Cantley LC. Ras PI(3)K and mTOR signaling controls tumor cell growth. *Nature* 2006; 441: 424-430.
115. Sherman AI, Ter Poggossian MM. „Lymph – node concentration of radioactive colloidal gold following interstitial injection“. *Cancer* 1953 Nov; 6(6): 1238-40.
116. Sladden, M., Zagarella, S., Popescu, C., Bigry, M. No survival benefit for patients with melanoma undergoing sentinel lymph node biopsy: critical appraisal of the Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial-I final report. *British Journal of Dermatology* 2015, 172(3), 566-571.
117. Smith AP. Whole genome expression profiling of the melanoma progression pathways reveals marked molecular differences between nevi/melanoma in situ and advanced stage melanomas. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 1018-1029.
118. Sondak VK, Taylor JM, Sabel MS, Wang Y, Lowe L, Grover AC, Chang AE, Yahanda AM, Moon J, Johnson TM. Mitotic rate and younger age are predictors of sentinel lymph node positivity: lessons learned from the generation of a probabilistic model. *Ann Surg Oncol.* 2004;11(3):247-58.
119. Stahl JM, Sharma A, Cheung M, Zimmerman M, Cheng JQ, Bosenberg MW, Kester M, Sandirasegarane L, Robertson GPL. Deregulated Akt3 activity promotes development of malignant melanoma. *Cancer Res* 2004; 64: 7002-7010.
120. Taback B, Morton DI, O’Day SJ, Nguyen DH, Nakayama T, Hoon DS. The clinical utility of multimarker RT-PCR in the detection of occult metastases in the patients with melanoma., *Recent Results Cancer Res* 2001; 158: 78-92.
121. Tejera-Vaquerizo A, Martín-Cuevas P, Gallego E. Predictors of sentinel lymph node status in cutaneous melanoma: a classification and regression tree analysis. *Acta Dermosifiliogr* 2015;106(3):208-18.
122. Thompson JF, Ollila DW. Optimum excision margins for melanoma. *Lancet.* 2011 Nov 5;378(9803):1608-10.
123. TNM Classification of Malignant Melanoma. In: James D. Brierley, Mary K. Gospodarowicz, Christian Wittekind (Eds): *TNM Classification of Malignant Tumours* (8th Edn). Wiley-Blackwell, 2016, pp 142-147.

124. Torjesen I. Sentinel node biopsy for melanoma: unnecessary treatment? *BMJ*. 2013;8;346:e8645.
125. Torjesen I. Sentinel node biopsy for melanoma: unnecessary treatment? *BMJ*. 2013;8;346:e8645.
126. Tucker MA, Halpern A, Holly EA, Hartge P, Elder DE, Guerry D 4th, Clark WH Jr. Clinically recognized dysplastic nevi: a central risk factor for cutaneous melanoma. *JAMA* 1997; 277: 1439-44
127. Valsecchi ME, Silbermins D, de Rosa N, Wong SL, Lyman GH. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with melanoma: a meta-analysis. *Clin Oncol* 2011;29(11):1479-87.
128. Vermeeren L, Van der Ent F, Sastrowijoto P, Hulsewé K. Sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanoma: occurrence of nodal metastases and its prognostic value. *Eur J Dermatol*. 2010;20(1):30-4.
129. Veronesi U, Pagganelli G, Viale G Galimberti V, Luini A, Zurrada S, Robertson C, Sacchini V, Veronesi P, Orvieto E, De Cicco C, Intra M, Tosi G, Scarpa DI. Sentinel Lymph Node Biopsy and Axillary Dissection in Breast Cancer: Results in a Large Series. *J. Nat Canc Inst* 1999;91:368-373.
130. Veronesi U, Zurrada S. Optimal surgical treatment of breast cancer. *The Oncologist*, 1996;1:340-346.
131. Wang SQ, Setlow R, Berwick M, Polsky D, Marghoob AA, Kopf AW, Bart RS. Ultraviolet A and melanoma: a review. *Jam Acad Dermatol* 2001; 44: 837-46
132. Wellbrock C, Karasarides M and Marais R. The RAF proteins take centre stage. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2004; 4: 875-885.
133. Wong SL, Balch CM, Hurley P, et al. Sentinel lymph node biopsy for melanoma: American society of clinical oncology and society of surgical oncology joint clinical practice guideline. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30:2912–8.
134. Wong SL, Brady MS, Busam KJ, Coit DG. Results of sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanoma. *Ann Surg Oncol*. 2006;13(3):302-9.

135. Wu H, Goel V and Hliska FG. PTEN signaling pathways in melanoma. *Oncogene* 2003; 22: 3113-3122.
136. Xu T, Ma M, Chi Z, Si L, Sheng X, Cui C, Dai J, Yu S, Yan J, Yu H, Wu X, Tang H, Yu J, Kong Y, Guo J. High GTSE1 expression promotes acral melanoma progression and correlates with poor clinical prognosis. *Cancer Sci.* 2018; doi: 10.1111/cas.
137. Yamamoto M, Fisher KJ, Wong JY, Koscsó JM, Konstantinovic MA, Govsyeyev N, et al. Sentinel lymph node biopsy is indicated for patients with thick clinically lymph node-negative melanoma. *Cancer* 2015;121(10):1628-36
138. Zagarella, S., Sladden, M., Popescu, C., Bigby, M. (2015). Sentinel lymph node biopsy for melanoma: an important risk-stratification tool. *Medical Journal of Australia* 2015, 202(2), 78-79.
139. Zimmer DB, Cornwall EH, Landar A, Song W. The S100 protein family: history, function, and expression. *Brain Res Bull.* 1995;37(4):417-29.

SPISAK SKRAĆENICA

SLČ-stražarski limfni čvor

SLČB- stražarski limfni čvor biopsija

NSČ-nesentinel limfni čvorovi

TNM-tumor nodus metastaze klasifikacija

UICC-The Union for International Cancer Control

AJCC-The American Joint Committee on Cancer

ROC-Receirver Operating Characteristic

HP-histopatološki

FNA- Fine Needle Aspiration

LDH-laktat dehidrogenaza

ELISA-Enzyme-linked Immunosorbent Aassay

ASCO-American Society of Clinical Oncology

DFS-disease free survival

OS-overall survival

DTIC-dakarbazin

MAPK-mitogen activating protein kinase

IHH-imunohistohemija

MSLT- Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial

FNR-false negative rate

PSM-proportion successfully mapped

BIOGRAFIJA

- Dr Stevan Jokić je rođen 13.08.1968. godine u Benkovcu. Osnovnu i srednju školu je završio u Benkovcu
- Studije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Tuzli upisao je 1998. godine, a diplomirao je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu u maju 1996. godine
- Lekarski staž je završio i položio stručni ispit u junu 1997. godine
- Specijalizaciju iz Opšte hirurgije je upisao u oktobru 1997. godine, a specijalistički ispit položio novembra 2002. godine sa ocenom 5 (pet)
- Užu specijalizaciju iz oblasti Onkologija na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu je upisao šk. 2008/09. godine i subspecijalistički rad pod nazivom “Iskustvo u hirurškom lečenju melanoma kože na IORS-u u period od 2004. do 2008. godine (Mentor: Prof. dr Radan Džodić) odbranio je 2010. godine
- Magistarsku tezu pod nazivom “Anatomska pozicija sentinel limfnih nodusa u aksili kod melanoma u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora” odbranio je u julu 2014. godine (Mentor: Prof. dr Radan Džodić).
- Doktorsku disertaciju pod nazivom “Značaj kliničko-patoloških prediktora za prisustvo metastaza u stražarskim (sentinel) limfnim čvorovima kod obolelih od melanoma kože” (Mentor: Doc. dr Ivan Marković, Komentor: Prof. dr Danijela Dobrosavljević-Vukojević) prijavio je oktobra 2016. godine
- Koautor i autor je u više radova i izvoda objavljenih u stranim i domaćim časopisima
- Profesionalnu edukaciju obavio je u MD Anderson Klinici Hjuston, Teksas, SAD 2012. godine i u Univerzitetskoj klinici u Esenu, Nemačka 2017. godine
- Zaposlen je na Institutu za Onkologiju i radiologiju Srbije od septembra 2000. godine
- Posедуje znanje engleskog jezika

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Stevan Jokić

broj upisa _____

Izjavljujem

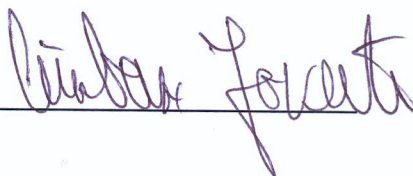
da je doktorska disertacija pod naslovom

**ZNAČAJ KLINIČKO-PATOLOŠKIH PREDIKTORA ZA PRISUSTVO METASTAZA U
STRAŽARSKIM (SENTINEL) LIMFNIM ČVOROVIMA KOD OBOLELIH OD
MELANOMA KOŽE**

- 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.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 09.07.2018.



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Stevan Jokić

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada **ZNAČAJ KLINIČKO-PATOLOŠKIH PREDIKTORA ZA PRISUSTVO
METASTAZA U STRAŽARSKIM (SENTINEL) LIMFNIM ČVOROVIMA KOD
OBOLELIH OD MELANOMA KOŽE**

Mentor: Doc. dr Ivan Marković

Komentor: Prof. dr Danijela Dobrosavljević

Potpisani: Stevan Jokić

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, 09. 07. 2016.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

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

ZNAČAJ KLINIČKO-PATOLOŠKIH PREDIKTORA ZA PRISUSTVO METASTAZA U STRAŽARSKIM (SENTINEL) LIMFNIM ČVOROVIMA KOD OBOLELIH OD MELANOMA KOŽE

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima 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 poleđini lista).

U Beogradu, 29. 07. 2018.

Potpis doktoranda

