

**MINISTARSTVO ODBRANE  
UNIVERZITET ODBRANE U BEOGRADU  
VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA  
MEDICINSKI FAKULTET**



**VALIDNOST ULTRAZVUČNO VOĐENE  
ASPIRACIJE TANKOM IGLOM U  
DIJAGNOSTICI MIKROMETASTAZA U  
LIMFNIM ČVOROVIMA STRAŽARIMA U  
OBOLELIH OD MELANOMA KOŽE**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

*Dr Goran Šijan*

Beograd 2015

**Skraćenice korišćene u tekstu:**

**UZ** - ultrazvuk

**LČ** - limfni čvor

**LČS** - limfni čvor stražar

**BLČS** - biopsija limfnog čvora stražara

**ATI** - aspiracija tankom iglom

**LVI** - limfovaskularna invazija

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
1.1. Definicija melanoma	1
1.2. Etiologija melanoma	1
1.3. Kliničke forme melanoma	2
1.4. Klinička dijagnostika primarnog melanoma	4
1.5. Klinička dijagnostika metastatski izmenjenih limfnih čvorova	8
1.6. Patohistološka dijagnostika primarnog melanoma	9
1.6.1. Debljina melanoma po Breslow-u	9
1.6.2. Ulceracija	9
1.6.3. Broj mitozu	10
1.6.4. Mikrosatelitske i " intransit "metastaze	10
1.6.5. Nivo invazije po Clarc-u	10
1.6.6. Limfovaskularna invazija	11
1.6.7. Limfocitna infiltracija	11
1.6.8. Prisustvo i obim regresije	12
1.7. Patohistološka dijagnostika limfnih čvorova	12
1.8. Stadijum bolesti i TNM- klasifikacija	13
1.9. Hirurško lečenje melanoma	15
1.9.1. Hirurško lečenje primarnog melanoma	15
1.9.2. Hirurško lečenje metastatski izmenjenih limfnih čvorova	16
1.9.3. Hirurško lečenje metastaza u udaljenim organima	21
<b>2. DOSADAŠNJA SAZNANJA</b>	<b>22</b>
2.1. Način širenja melanoma	22
2.2. Histologija limfnog čvora	22
2.3. Biopsija limfnog čvora stražara	24
2.3.1. Varijacija metode	26
2.3.2. Komplikacije BLČS	27
2.4. Biopsija limfnog čvora tankom iglom	28

<b>3. PREDMET, ZNAČAJ, HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b>	<b>29</b>
3.1. Predmet i značaj istraživanja	29
3.1.1. Nedostatci metode	29
3.2. Hipoteza	29
3.3. Ciljevi istraživanja	30
<b>4. ISPITANICI I METODE</b>	<b>31</b>
4.1. Statistička obrada podataka	35
<b>5. REZULTATI</b>	<b>37</b>
<b>6. DISKUSIJA</b>	<b>63</b>
<b>7. ZAKLJUČCI</b>	<b>68</b>
<b>8. Reference</b>	<b>69</b>

# 1. UVOD

## 1.1. Definicija melanoma

Melanom je, najčešće pigmentovani, maligni tumor melanocita smešten na koži, retini, sluzokožama, moždanoj ovojnici i predstavlja jedan od najagresivnijih solidnih malignih tumora.

Od svih malignih tumora kože samo 4% su melanomi. Oni su uzročnici više od 77% smrtnih ishoda kod svih tumora kože. (1)

Incidenca melanoma je u stalnom porastu. Melanom kože je najučestaliji u Australiji gde jedan od 14 muškaraca i jedna od 23 žene razvije melanom tokom života, uz porast dekadne incidencije za 16% kod osoba muškog pola i za 24% kod osoba ženskog pola. Incidencija melanoma u SAD iznosi jednu trećinu, a u Velikoj Britaniji jednu četvrtinu incidencije u Australiji, dok je u Evropi najveća incidencija zabeležena u skandinavskim zemljama, a najniža u južnoj Evropi. U Srbiji se godišnje dijagnostikuje oko 500 novih slučajeva melanoma. Porast incidencije je približno oko 15% za pet godina. Prema najnovijim procenama incidencija u Srbiji kod žena iznosi 7,4 i 11,2 /100 000 kod muškaraca. (2)

## 1.2. Etiologija melanoma

Etiologija melanoma je nepoznata. Faktori rizika koji mogu dovesti do pojave melanoma mogu biti endogeni i egzogeni.

Endogeni su:

- fototip kože
- nevus koji se menja
- povećan broj nevusa (50 i više, i/ili 20 i više nevusa na gornjim ekstremitetima)
- prisustvo atipičnih nevusa
- ranije prisustvo kožnih tumora
- nasledje (melanom kod bliskih srodnika)

Egzogeni faktori su:

- izlaganje prirodnim i veštačkim UV-zračenjima
- imunosupresivna terapija i dr.

U oko 75% slučajeva melanom se javlja “de novo” bez prekursorne lezije.

### 1.3. Kliničke forme melanoma

***Lentigo maligna*** – najčešće se javlja kod žena, evolucija bolesti može trajati od 20 – 30 godina, često se javlja na licu i to kod starijih osoba. Tokom duge evolucije bolesti prisutan je horizontalan rast melanoma koji nakon dugog vremena prelazi u vertikalni rast. Ovaj oblik melanoma javlja se u 4-15% slučajeva od ukupnog broja melanoma (Slika1).



**Slika 1.** Lentigo melanom

***Melanom površnog širenja*** – kod muškaraca najčešće se javlja na trupu i to na leđima, a kod žena na nogama. Evolucija bolesti traje od 1-5 godina i u toj fazi je najduže zastupljen horizontalni rast promene. Ovaj oblik se javlja u 70% slučajeva od ukupnog broja melanoma (Slika2).



**Slika 2.** Površno šireći melanom

**Nodularni melanom** - prisutan je najčešće u predelu trupa, vrata i glave. Karakteriše ga vertikalni rast od početka nastanka bolesti. Javlja se u 15-30% slučajeva od ukupnog broja melanoma. Izuzetno je agresivan sa lošom prognozom (Slika3).



**Slika 3.** Nodularni melanom

**Akralni lentiginozni melanom** - javlja se na dlanovima, tabanima, ispod noktiju i na mukokutanim spojevima. Češće kod starijih starosnih grupa (6/7 decenija života). Horizontalni i vertikalni rast je podjednako prisutan kod ovog melanoma. Agresivan je u kliničkom toku i ima lošu prognozu. Prisutan je u 2-8% slučajeva od ukupnog broja melanoma. Od ukupnog broja svih akralnih melanoma 60-72% se javlja kod crne rase, a 29-46% kod žute rase (Slika4).



**Slika 4.** Akralni lentiginozni melanom

**Retki i neklasifikovani tipovi melanoma su:**

- amelanotični melanom
- melanom u džinovskom dlakavom nevusu
- maligni plavi nevus
- melanom mukoznih membrana
- melanom sa nepoznatom primarnom pigmentnom lezijom
- dezmoplastični melanom
- nevoidni melanom .

#### **1.4. Klinička dijagnostika primarnog melanoma**

Klinička dijagnoza melanoma postavlja se pregledom i na osnovu kliničkih karakteristika ili pomoćnim dijagnostičkim sredstvima: dermoskopija, fotografija, ultrasonografija, epiluminescentna mikroskopija i analizom pomoću kompjuterskih softvera. Dobar klinički pregled može nam garantovati dobru dijagnostiku u oko 80-85% slučajeva. Znaci koji se analiziraju kliničkim pregledom su:

**A** – *asymmetry* (asimetričnost pigmentne lezije) (Slika5),



**Slika 5.** Asimetrija promene



**B - border** (nepravilnost, nareckanost ivica pigmentne promene) (Slika6),



**Slika 6.** Nepravilnost ivica promene

**C - colour** (promena boje, šarolikost pigmentne lezije) (Slika7),



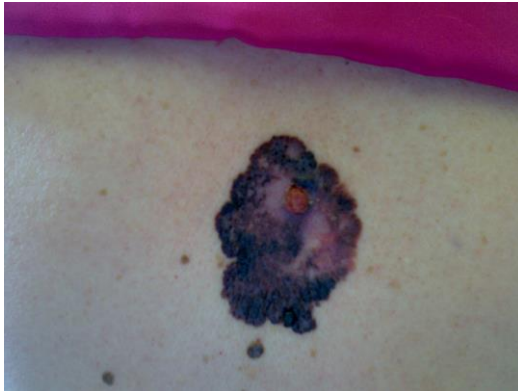
**Slika 7.** Promena boje promene

**D - diameter** (veličina pigmentne promene veća od 6mm. Ovaj klinički znak je danas izgubio na važnosti jer se uz pomoć dermoskopije dijagnostikuju melanomi manji od 6mm) (Slika8),



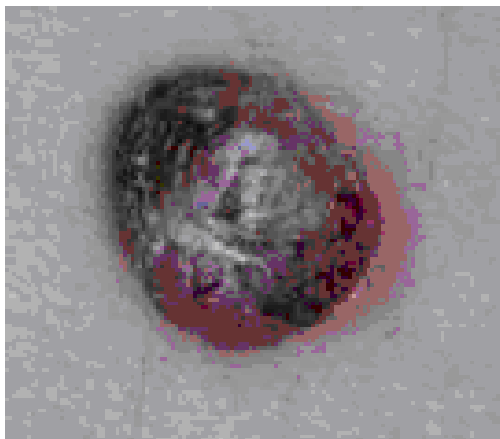
**Slika 8.** Veličina promene

**E - enlarge** (povećanje pigmentne ili druge promene na koži koja se ogleda u promeni boje, oblika i veličine i izdiže se iznad ravni kože tokom vremena) (Slika9),



**Slika 9.** Uvećanje promene.

**F - firm to touch** ( bilo koji mladež ili druga promena na koži koja je tvrda na palpaciju) (Slika10) i



**Slika 10.** Promena tvrda na palpaciju

**G - growing** (bilo koji mladež ili druga promena na koži bez obzira na boju koja kontinuirano raste) (Slika11).



**Slika 11.** Rast promene

Osim navedenih znakova za kliničku dijagnostiku su bitni i sledeći znaci: ulceracija promene, krvavljenje iz pigmentne promene i simptomi kao što su svrab, pečenje i bol u predelu iste.

U slučaju klinički i dermoskopski sumnjivih pigmentnih promena potrebno je načiniti jednu od biopsija :

**Ekscizionna biopsija** - spada u dijagnostičke procedure i podrazumeva potpuno isecanje promene eliptičnim rezom, kojim se zahvata puna debljina kože i masno tkivo delom ili potpuno (Slika12). Margine ekscizionne biopsije su od 1 do 3mm od ivice promene. Ovu biopsiju planiramo tako da prati linije minimalne tenzije i limfne drenaže regije. (3-7) Nastali defekt nakon ove biopsije se suturira, a ako je defekt veći rekonstruiše se autotransplantatom kože. Lokalne kožne reznjeve za rekonstrukciju defekata potrebno je izbegavati zbog kompromitovanja limfne drenaže koja mora biti neizmenjena zbog BLČS. Ona se izvodi u uslovima lokalne infiltrativne anestezije, koja se ubrizgava po prethodno isplaniranom elipsastom rezu, subkutano ili intradermalno. (3-7,8,9) Preparat se obeleži i pošalje na histopatološku analizu.



*Slika 12.* Plan za ekscizionu biopsiju

**Parcijalna biopsija** - podrazumeva isecanje dela tumora suspektog na melanom. Uzima se puna debljina kože sa delom tumora koji je najviše izmenjen. Može se uzeti sa više suspektnih mesta. Indikovana je kod: velikih pigmentnih promena, ukoliko ekscizionna biopsija može dovesti do kozmetičkih ili funkcionalnih nedostataka i ukoliko zbog opšteg stanja pacijenta ekscizionna biopsija nije izvodljiva (Slika13). Indikaciju za parcijalnu biopsiju je neophodno da donese nadležni multidisciplinarni konzilijum za melanom.

Ostale metode parcijalne biopsije (shave biopsija, deep shave biopsija, kiretaža, punch biopsija) i ako se mogu raditi u Centrima za melanome ne preporučuju se jer ne daju odgovarajući uzorak i nose rizik za dijagnostičku grešku. (3-7,10)



**Slika 13.** Parcijalna ekscizija

### **1.5. Klinička dijagnostika metastatski izmenjenih limfnih čvorova**

Metastaze u regionalnim limfnim čvorovima se mogu dijagnostikovati palpacijom, ultrazvučnim pregledom, biopsijom i kompjuterizovanom tomografijom.

**Palpacijom** izmenjenih regionalnih limfnih čvorova možemo dobiti sledeće podatke: veličinu, oblik, fiksiranost za podlogu i kožu, stanje kože iznad limfnog čvora i eventualna prisutnost bola pri palpaciji. Ograničenost ove metode je u tome što su palpaciji dostupni veći limfni čvorovi, subjektivna je i zavisi od iskustva i taktilnih sposobnosti ispitivača.

**Ultrazvučni pregled** nam omogućava pregled LČ veličine 2 mm i veće. Korišćenjem kvalitetnijih UZ sondi i primenom kolor Doppler sonografije možemo analizirati sledeće karakteristike LČ: odnos dužine i širine LČ, gubitak ili ekscentričnost hiperehogenog centra LČ, tip vaskularizacije, arborizaciju (grananje krvnih sudova unutar LČ) i indeks otpora. Analizom svih ovih karakteristika LČ postizemo tačnost od 90%. (11)

**Biopsija** LČ u regionalnim limfnim basenima može se vršiti kod palpabilnih LČ pomoću specijalnih igala zakrivljenih pri vrhu. Kod nepalpabilnih a ultrazvučno

sumnjivih LČ radi se aspiracija čvora tankom iglom (24-27G ) pod kontrolom ultrazvuka, a dobijeni material se šalje na citološki pregled radi dokazivanja prisustva mikrometastaza u LČ.

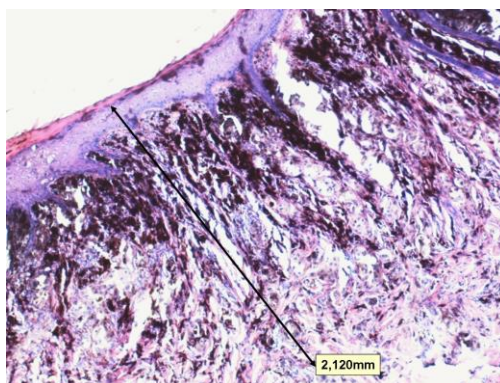
**Kompjuterizovana tomografija**, kao dijagnostička metoda rezervisana je za regionalne LČ do kojih je ultrazvukom teže dopreti (medijastinum).

### **1.6. Patohistološka dijagnostika primarnog melanoma**

Patohistološkim pregledom bioptiranog uzorka primarne lezije se dobija definitivna dijagnoza melanoma a takodje se dobijaju i parametri bitni za određivanje prognoze bolesti i histopatološkog stadijuma primarne lezije (T). Kombinacijom podataka o prisustvu pozitivnog regionalnog LČ (N) i metastatskih promena u parenhimatoznim organima (M) dobija se stadijum bolesti.

#### **1.6.1. Debljina melanoma po Breslow-u**

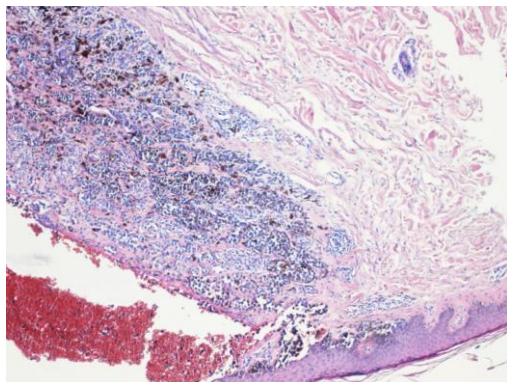
Ovo je najvažniji prognostički parameter i dobija se merenjem tumora od vrha granuloznog sloja epiderma do najdubljeg mesta invazije i izražava se u milimetrima sa jednom decimalom. Ovo merenje se vrši okularnim mikrometrom ili eventualno na slici dobijenoj digitalnom kamerom i uz primenu neophodnog softvera. (Slika 14)



**Slika 14.** Breslow 2,1 mm

#### **1.6.2. Ulceracija**

Ona podrazumeva odsustvo svih slojeva epiderma, uključujući i rožnati, uz tkivnu reakciju - fibrin i polimorfonuklearne leukocite. (Slika 15) Nezavistan je prognostički parameter i njeno postojanje ukazuje na lošiju prognozu bolesti.



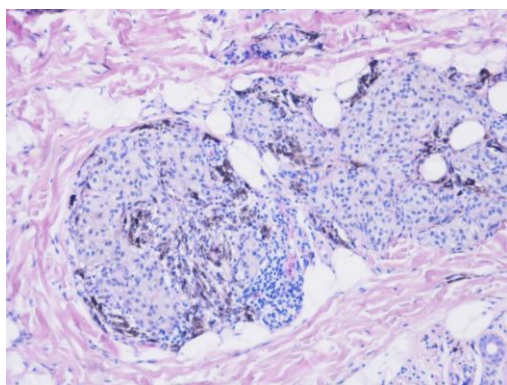
**Slika 15.** Ulceracija

### **1.6.3. Broj mitozna**

Ovaj broj je bitan kao nezavistan prognostički parameter za melanom debljine do 1mm. Izražava se brojem mitozna po jednom mm<sup>2</sup>.

### **1.6.4. Mikrosatelitske i “ in tranzit “metastaze**

Obe predstavljaju metastatska gnezda u dermu i/ili potkožnom masnom tkivu. Unutar 2cm od primarnog melanoma su satelitske metastaze, dok su metastaze “in tranzit” prisutne na udaljenosti većoj od 2cm od primarnog tumora, sve do regionalnih limfnih LČ. (Slika16)

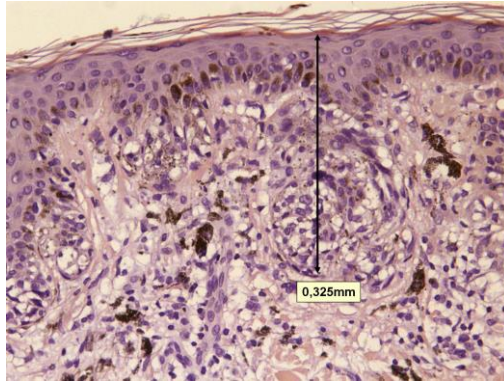


**Slika 16.** Mikrosatelitske metastaze

### **1.6.5. Nivo invazije po Clark-u**

Definisani su kao:

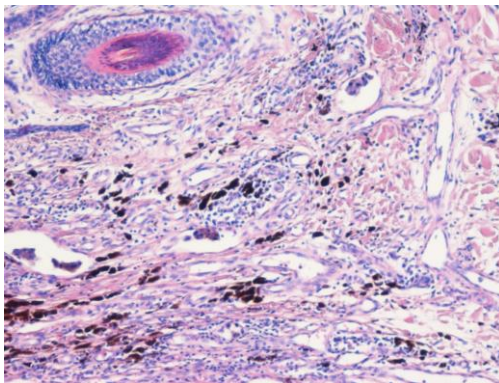
- I intradermalni (in situ) melanom,
- II invazija papilarnog derma bez njegovog ispunjavanja i širenja, (Slika 17)
- III ispunjavanje i proširenje papilarnog derma,
- IV invazija retikularnog derma,
- V prodor u potkožno masno tkivo (i dublje slojeve).



**Slika 17.** Clark II

### **1.6.6. Limfovaskularna invazija**

Tumorske ćelije nalaze se unutar prostora obloženog endotelom limfnih i/ili krvnih sudova. (12) (Slika18)



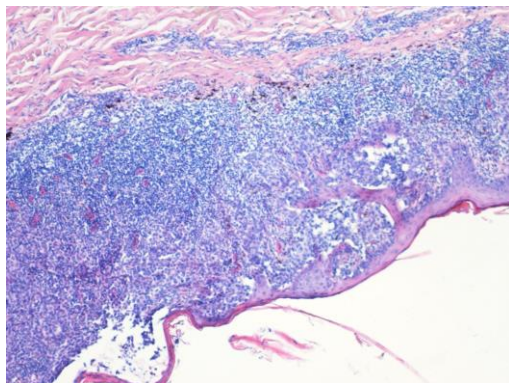
**Slika 18.** Limfovasularna invazija

### **1.6.7. Limfocitna infiltracija**

Ova karakteristika se odnosi samo na intratumorske limfocite u invazivnoj komponenti tumora i opisuju se kao:

- Odsutna (u koliko je nema ili je van tumora)
- Non-brisk (fokalno duž periferije tumora ili unutar tumora)
- Brisk (difuzno duž periferije tumora ili unutar tumora)

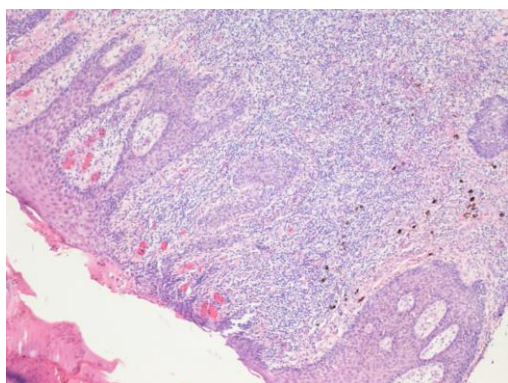
Prisustvo limfocitne infiltracije ukazuje na moguću bolju prognozu bolesti, ali nalazi nisu uvek pouzdani (12,13). (Slika 19)



**Slika 19.** Limfocitna infiltracija

### **1.6.8. Prisustvo i obim regresije**

Regresija u melanomu definiše se odsustvom tumorskih ćelija u invazivnoj komponenti uz pojavu limfocitnog infiltrata, fibroze i melanofaga. Iako se generalno smatra lošim prognostičkim znakom (osobito ako zahvata više od 75% invazivne komponente), postoje studije u kojima je regresija pokazala povezanost s boljom prognozom. (Slika 20)



**Slika 20.** Regresija

### **1.7. Patohistološka dijagnostika limfnih čvorova**

Patohistološka dijagnostika limfnog čvora stražara podrazumeva njegovu detaljnu analizu. Vršiti se njegovo presecanje po dužoj osi, i pregled obe polovine čvora na preparatima bojenim hematoksilin-eozin (HE) i imunohistohemijskim markerima (s-100, HMB-45). Za još preciznije dijagnostikovanje metastatskih ćelija u LČ stražaru koristi se reakcija lančane polimeraze (PCR) kojoj prethodi reverzna transkripcija, koja može da identifikuje jednu metastatsku ćeliju na 10 000 000 zdravih ćelija. (14)



Ostali, manji LČ u tom limfnom basenu se presecaju po uzdužnoj osi, a veći se presecaju na 4-5 mm poprečno u odnosu na uzdužnu osu LČ. Preparati se boje istim metodama kao i kod dijagnostioke LČ stražara.

### 1.8. Stadijum bolesti i TNM- klasifikacija

Klasifikacija melanoma se vrši prema TNM-klasifikaciji komiteta američkog udruženja za rak. (15) Stadijum bolesti se određuje na osnovu histopatološkog nalaza i to: debljine tumora (po Breslovu), postojanju ulceracija, broja mitozu kao i stadijuma limfnih čvorova.

**Tabela 1.** T- klasifikacija primarnog tumora.

T klasifikacija	Debljina tumora	Dodatni prognostički parametri
Tis	-	<i>Melanoma in situ</i> , nema tumorske invazije
Tx	nepoznato	Stadijum se ne može odrediti*
T1	≤1,0 mm	a: bez ulceracije, mitoze <1/mm <sup>2</sup> ** b: sa ulceracijom ili s brojem mitozu ≥1/mm <sup>2</sup> ili Clark (Clark) nivo invazije IV/V ukoliko se mitoze ne mogu adekvatno analizirati
T2	1,01 - 2,0 mm	a: bez ulceracije b: sa ulceracijom
T3	2,01 - 4,0 mm	a: bez ulceracije b: sa ulceracijom
T4	>4,0 mm	a: bez ulceracije b: sa ulceracijom

- nedostatak podataka o debljini tumora i/ili ulceracije ili nepoznat primarni tumor;
- \*\* broj mitozu se određuje na preparatu bojenom hematoksilin-eozinom (HE)

**Tabela 2.** N- klasifikacija regionalnih limfnih nodusa kod melanoma

N klasifikacija	Broj limfnih nodusa sa metastazama	
Nx	nepoznat	
N0	histopatološki dokazano odsustvo metastaza	
N1	1 limfni čvor	a. mikrometastaza* b. makrometastaza
N2	2-3 limfna čvora	a. mikrometastaze* b. makrometastaze c. satelitska ili in transit metastaza/e bez metastaza u regionalnim limfnim čvorovima
N3	≥4 limfna čvora; limfni čvorovi sa zbrisanom strukturom; satelitske ili in transit metastaze s bar jednim zahvaćenim regionalnim limfnim čvorom	

\* Za detekciju mikrometastaza neophodno je da bar jedna ćelija reaguje pozitivno imunohemijski

**Tabela 3.** M- klasifikacija udaljenih metastaza kod melanoma

<b>M klasifikacija</b>	<b>Tip udaljene metastaze</b>	<b>LDH</b>
<b>M1a</b>	Udaljene metastaze u koži, potkožnom tkivu ili limfnim čvorovima (van regionalnih)*	normalan
<b>M1b</b>	Plućne metastaze	normalan
<b>M1c</b>	Udaljene metastaze druge lokalizacije ili udaljene metastaze bilo koje lokalizacije s povišenim LDH	normalan povišen

\* Ilijačne limfne žlezde takođe su klasifikovane kao M1a

**Tabela 4.** Klinička klasifikacija melanoma po stadijumu

<b>Klinički stadijum</b>	<b>Primarni tumor (pT)</b>	<b>Metastaze u regionalnim limfnim čvorovima (N)</b>	<b>Udaljene metastaze (M)</b>
<b>0</b>	<i>In situ</i> tumori <b>Tis</b>	nema <b>N0</b>	nema <b>M0</b>
<b>IA</b>	≤1 mm bez ulceracije <b>T1a</b>	nema <b>N0</b>	nema <b>M0</b>
<b>IB</b>	≤1mm sa ulceracijom ili brojem mitozā ≥1 mm <sup>2</sup> <b>T1b</b>	nema <b>N0</b>	nema <b>M0</b>
	1,01 - 2,0 mm bez ulceracije <b>T2a</b>	nema <b>N0</b>	nema <b>M0</b>
<b>IIA</b>	1,01 - 2,0 sa ulceracijom <b>T2b</b>	nema <b>N0</b>	nema <b>M0</b>
	2,01 - 4,0 mm bez ulceracije <b>T3a</b>	nema <b>N0</b>	nema <b>M0</b>
<b>IIB</b>	2,01 - 4,0 mm sa ulceracijom <b>T3b</b>	nema <b>N0</b>	nema <b>M0</b>
	>4,0 mm bez ulceracije <b>T4a</b>	nema <b>N0</b>	nema <b>M0</b>
<b>IIC</b>	>4,0 mm sa ulceracijom <b>T4b</b>	nema <b>N0</b>	nema <b>M0</b>
<b>IIIA</b>	Bilo koja debljina tumora bez ulceracije <b>T(1-4)a</b>	Mikrometastaze u ≤3 limfna čvora <b>N1a, N2a</b>	nema <b>M0</b>
<b>IIIB</b>	Bilo koja debljina tumora sa ulceracijom <b>T(1-4)b</b>	Mikrometastaze u ≤3 limfna čvora <b>N1a, N2a</b>	nema <b>M0</b>
	Bilo koja debljina tumora bez ulceracije <b>T(1-4)a</b>	≤3 nodalne makrometastaze <b>N1b, N2b</b>	nema <b>M0</b>
	Bilo koja debljina tumora bez ulceracije <b>T(1-4)a</b>	satelitske i/ili <i>in transit</i> metastaze bez regionalnih meta-staza u limfnim čvorovima <b>N2c</b>	nema <b>M0</b>
<b>IIIC</b>	Bilo koja debljina tumora sa ulceracijom <b>T(1-4)b</b>	≤3 nodalne makrometastaze ili satelitske ili <i>in transit</i> metastaze bez metastaza u regionalnim limfnim čvorovima <b>N1b, N2b, N2c</b>	nema <b>M0</b>
	Bilo koja debljina tumora sa ulceracijom <b>T(1-4)b</b> ili bez <b>T(1-4)b</b>	4 ili više nodalnih makrometastaza ili limfni čvorovi zbrisane strukture ili satelitske ili <i>in transit</i> metastaze sa metastazom u bar jednom limfnom čvoru <b>N3</b>	nema <b>M0</b>
<b>IV</b>	Bilo koji T	Bilo koji N	Udaljene metastaze <b>M1</b>

## 1.9. Hirurško lečenje melanoma

### 1.9.1. Hirurško lečenje primarnog melanoma

Hirurško lečenje primarnog melanoma podrazumeva reeksciziju šireg dela kože oko reza biopsije. Širina reekscidiranog dela kože zavisi od debljine melanoma po Breslowu i lokalizacije melanoma (funkcionalne i akralne regije).

Cilj hirurške terapije primarnog melanoma kože (reekscizije) je da reekscizione ivice tkiva nemaju tumorske ćelije kako bi se sprečio recidiv bolesti.

Za melanome in situ, širina je 0,5cm, za melanome debljine do 2mm širina reekscizije je 1cm a za melanome debljine preko 2mm je 2cm. (3-7,16) (Slika 21-23)

Ova širina se računa, u svim pravcima, od sredine ožiljka, nastalog od ekscizione biopsije. U slučaju parcijalne biopsije širina se određuje od ivice melanoma.

Dubina reekscizije je do mišićne fascije, a na poglavini do tabule eksterne (do kosti). Za funkcionalne regije poglavine i lica (kapci, nos, usne) može biti dozvoljena i manja širina reekscizije. (17)

Za akralni lentiginozni melanom na prstima i subungvalni melanom indikovana je "funkcionalna" ili radikalna amputacija do prvog zgloba, proksimalno od melanoma na šakama, a do prvog metatarzofalangealnog zgloba na stopalima. (18) Reekscizija sektora kože kog primarnog melanoma može se učiniti u lokalnoj infiltrativnoj anesteziji, regionalnoj ili opštoj, što zavisi od opšteg stanja pacijenta.



**Slika 21.** Plan reekscizije



**Slika 22.** Reekscidirani sektor kože



**Slika 23.** Sutura kože nakon reekscizije

Defekti kože nastali nakon reekscizije rekonstruišu se: direktnom suturom, AT-kože ili lokalnim kožnim reznjem.

Ranije se davala prednost rekonstrukciji defekta sa AT-kože jer su lakše praćene pojave recidiva. Danas je dokazano da ova metoda rekonstrukcije nema značajnih prednosti i indikovana je jedino u koliko je defekt kože veliki. (19-21)

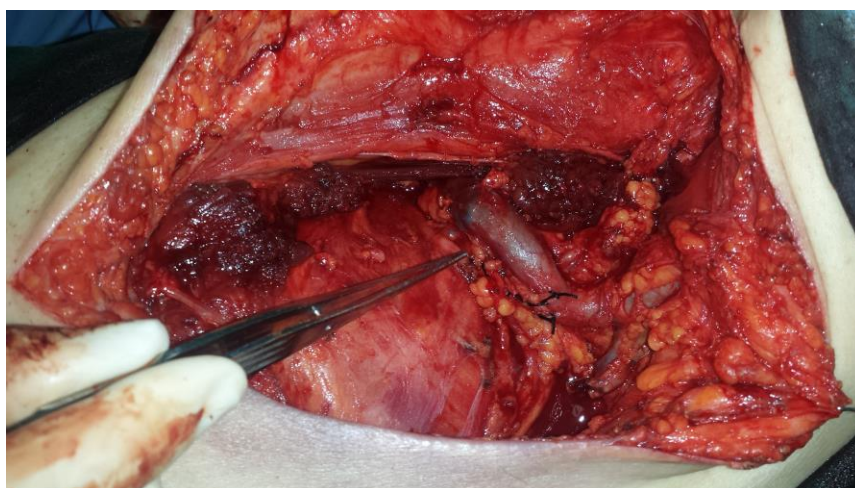
Reeksciziju melanoma najoptimalnije je načiniti do šeste nedelje od biopsije. Reeksciziju nakon ovog termina treba da odobri konzilijum za melanome.

### **1.9.2. Hirurško lećenje metastatski izmenjenih limfnih ćvorova**

Metastaze u regionalnim limfnim ćvorovima mogu se detektovati kliniċki (palpacijom, ultrazvukom, CT) ili pomoću BLĀS-a. Potrebno je takve ćvorove hirurškim putem odstraniti iz zahvaćenih limfnih basena, tj treba načiniti terapijsku disekciju. Terapijska disekcija je operacija koja podrazumeva radikalnu evakuaciju svih LĀ u sastavu limfnog basena, sem na vratu, gde se preporuċuje funkcionalna disekcija. Ova disekcija povećava petogodišnje preživljavanje kod bolesnika u III stadijumu bolesti. IstraŹivanja pokazuju da petogodišnje preživljavanje iznosi 13% bez i 44% sa terapijskom disekcijom, a desetogodišnje 6% bez, odnosno 50% sa ovom vrstom disekcije. (22)

Za svaku terapijsku disekciju regionalnih limfnih podruċja postoje standardne hirurške tehnike kojih se treba pridržavati shodno savremenim saznanjima onkološke doktrine. (3-7)

#### **- pazušna jama**



**Slika 24.** Aksila

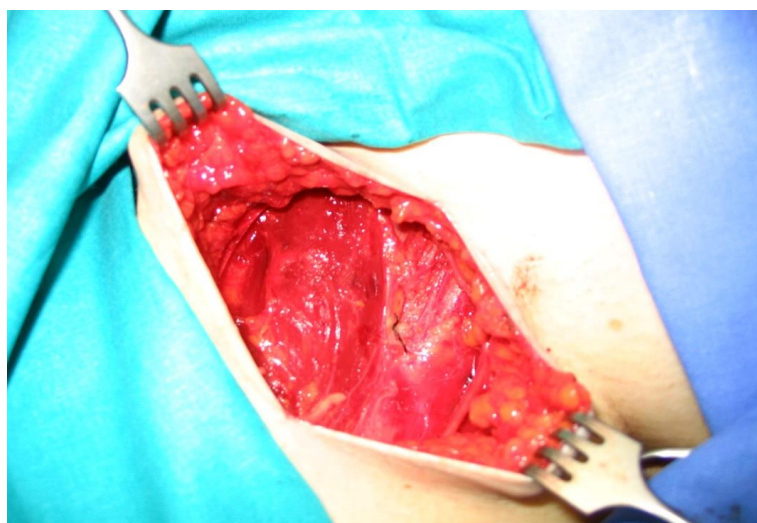
U pazušnoj jami osim neurovaskularnih elemenata nalaze se i limfni ćvorovi koje moŹemo svrstati u pet grupa i tri nivoa (Slika24). Spoljašna ili nadlakatna grupa

limfnih čvorova se nalazi oko donjeg dela pazušne vene i sastoji se od 4-6 čvorova koji primaju skoro sve limfne sudove gornjeg uda.

Grudna grupa ima veći broj limfnih čvorova koji su poređani na bočnom zidu grudnoga koša, iznad i ispod pobočne grudne arterije i primaju limfne sudove dojke, prednje i bočne strane grudnog koša i nadpupčanog dela trbuha. Podlopatična grupa se nalazi u visini donje ivice podlopatičnog mišića i broji 6-7 limfnih čvorova koji primaju limfne sudove donjeg dela zadnje strane vrata, gornjeg dela leđa i zadnje strane ramena. Središnja ili centralna grupa se nalazi oko sredine pazušnih krvnih sudova, između tri prethodne grupe. Sastoji se od 5-6 limfnih čvorova. Podključna grupa broji 6-12 limfnih čvorova, koji su poređani uz unutrašnju stranu gornjeg dela pazušne vene, kod samog vrha pazušne jame neposredno ispod ključnjače. One se dole dodiruju sa čvorovima centralne grupe, a gore se nastavljaju natključnom grupom limfnih čvorova vrata. Centralna i potključna grupa primaju odvodne limfne sudove, koji polaze iz triju prethodnih grupa. Potključna grupa prima još i izvesne odvodne limfne sudove dojke koji ne prolaze, kao što je uobičajeno, kroz grudnu grupu nego se približavaju potključnoj grupi neposredno, prateći grudnu granu grudno-nadplećne arterije.

U pazušnoj jami disekcija podrazumeva evakuaciju sva tri nivoa sa uklanjanjem svih LČ. Smatra se da je terapijska disekcija zadovoljavajuća ako je izvadjeno 15 i više limfnih čvorova iz ove regije.

#### **- preponska regija**



**Slika 25.** Preponska regija

Ingvinalni limfni čvorovi nalaze se u femoralnom trouglu. Baze trougla čine Pupartov preponski ligament, spoljašnji zid – terzijski mišić, unutrašnji zid – dugi privodilac buta (Slika25).

Na mestu gde se ova dva mišića sastaju, oko 10-12cm ispod prepone, nalazi se vrh trougla. Dno trougla čine: spolja, slabinskobedreni mišić, a iznutra češljasti mišić. U Skarpovom trouglu nalaze se neurovaskularni elementi (butna vena, arterija i nerv) i limfni čvorovi koje možemo podeliti na površne i duboke. Površni limfni čvorovi se nalaze između kože i fascije oko završnog luka velike potkožne vene noge.

Jednom uspravnom i jednom vodoravnom konvencionalnom linijom koje se seku na ušću velike potkožne vene noge, mogu se podeliti u četiri grupe: gornje-spoljašnju, gornje-unutrašnju, donje-spoljašnju i donje-unutrašnju. Dve donje grupe primaju skoro sve površne limfne sudove donjeg uda, dok gornjo-unutrašnja grupa prima površne sudove međice, anusa i spoljašnjih polnih organa. Gornje-spoljašnja grupa prima površne limfne sudove iz sedalnog predela. Obe gornje grupe primaju još i površne limfne sudove ispod pupka. Površnih limfnih čvorova najčešće ima od 8-12, a ponekad i preko 20.

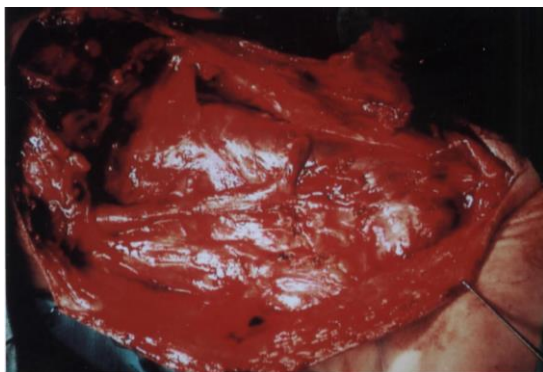
Duboki preponski limfni čvorovi nalaze se ispod fascije, koja ih odvaja od površnih čvorova, a poređani su duž unutrašnje ivice butne vene. Obično ih ima 2-3, a jedan od njih nalazi se u blizini butnog prstena. To je Cloquet-ov ili Rosenmuller-ov limfni čvor.

Terapijska disekcija u ovoj regiji podrazumeva uklanjanje svih površinskih i dubinskih limfnih čvorova u regiji femoralnog trougla. Zadovoljavajuća disekcija podrazumeva evakuaciju 10 i više limfnih čvorova.

### **- ilijačna regija**

Disekcija u ovoj regiji podrazumeva uklanjanje limfnih čvorova koji prate ilijačne krvne sudove do račve aorte. U nekim centrima ilijačna disekcija se izvodi i kada su verifikovana 3 pozitivna limfna čvora nakon disekcije ingvinuma ili ukoliko je pozitivan Kloketov limfni čvor, ali ova procedura nije standard terapije.

## - glava i vrat



**Slika 26.** Disekcija vrata



**Slika 27.** Učinjena disekcija vrata

Svi površni i dubinski limfni čvorovi glave i vrata mogu se grupisati u šest nivoa prema *Sloan-Cattering Memorial Group* (Slika 26-27):

- **nivo I** – submentalna grupa (LČ se nalaze u trouglu između prednjih mišićnih tela digastičnih mišića i hioidne kosti), submandibularna grupa (koju ograničavaju prednja i zadnja tela digastičnih mišića i telo mandibule).
- **nivo II** – gornja jugularna grupa, pruža se od baze lobanje do karotidne bifurkacije, prednja granica je lateralna ivica sternohioidnog mišića a zadnja granica, zadnja ivica SCM.
- **nivo III** – srednja jugularna grupa, pruža se od karotidne bifurkacije distalno do omohioidnog mišića, prednja i zadnja granica je ista kao u drugom nivou.
- **nivo IV** – donja jugularna grupa, pruža se od omohioidnog mišića distalno do ključnjače, prednja i zadnja granica su iste kao u II i III nivou.
- **nivo V** – LČ zadnjeg trougla, zadnja granica je prednja ivica m. trapezijusa, prednja granica je zadnja ivica SCM, a donja granica lateralna polovina ključnjače.

- **nivo VI** – LČ prednjeg odeljka, pruža se od hioidne kosti na vrhu do jugularne incizure na dnu, sa svake strane spoljašnja granica je unutrašnja ivica karotidne ovojnice.

U pogledu ekstenzivnosti hirurgije postoji izvesna terminološka konfuzija. Termini kao što su »funkcionalna«, »konzervativna«, »konzervirajuća«, sve više se izbegavaju kao i termini gornja, donja, prednja i prednje-lateralna disekcija. Terminologija koju je predložio Subkomitet za disekciju vrata Komiteta za hirurgiju i onkologiju glave i vrata Srbije 1991. godine deli disekcije vrata na:

- 1. radikalna disekcija vrata** – ova disekcija podrazumeva ekstirpaciju LČ prvih pet nivoa vrata uz presecanje unutrašnje jugularne vene, SCM i spinalnog akcesornog nerva.
- 2. modifikovana radikalna disekcija vrata** – podrazumeva ekstirpaciju LČ prvih pet nivoa vrata uz očuvanje jedne ili više neurovaskularne strukture (unutrašnje jugularne vene, SCM i spinalnog akcesornog nerva).
- 3. selektivna disekcija vrata** – podrazumeva očuvanje jedne ili više grupa (nivoa) LČ.
  - supraomohoidna disekcija vrata – disekcija LČ I,II,III nivo.
  - zadnjepoljna disekcija vrata–podrazumeva disekciju subokcipitalnih i zadnjeušnih LČ kao i disekciju LČ II,III,IV i V nivoa.
  - spoljne vratna disekcija – podrazumeva disekciju II, III i IV nivoa LČ.
  - disekcija prednjeg odeljka vrata – disekcija LČ VI nivoa.
- 4. proširena radikalna disekcija vrata** – podrazumeva disekciju svih pet nivoa LČ kao i disekciju pridruženih grupa LČ (npr. parafaringealni gornji medijastinalni, paratrahealni LČ).

Osim resekcije neurovaskularnih struktura i SCM u radikalnoj disekciji u proširenoj radikalnoj disekciji vrata mogu se resecirati i druge, nelimfatične, srukture kao što su: karotidna arterija, hipoglosealni nerv, n. vagus i paraspinalni mišići.

Nomenklatura za ekstenzivnost disekcije je važna i u odnosu na parotidnu žlezdu.

- 1. površna** parotidektomia podrazumeva disekciju površinskih parotidnih LČ kao i odstranjenje površinskog dela parotidne žlezde.



2. **totalna** parotidektomija podrazumeva odstranjivanje površnih i dubokih LČ parotidne regije kao i ekstirpaciju celokupne žlezde.
3. **radikalna** parotidektomija je praktično ista hirurška procedura kao totalna parotidektomija ali se ovde radi i resekcija n. facijalisa.

Ako su dijagnostikovani metastatski limfni čvorovi u parotidnoj pljuvačnoj žlezdi indikovana je totalna parotidektomija i selektivna disekcija vrata (nivo I-IV). (23)

U zavisnosti u kom nivou vrata se dijagnostikuje metastatski limfni čvor učiniće se jedna od selektivnih disekcija. (24)

### **1.9.3. Hirurško lečenje metastaza u udaljenim organima**

Metastaze u pojedinačnim organima su indikacije za hirurško lečenje. O ovom obliku lečenja odlučuje konzilijum za melanom a odluka zavisi od opšteg stanja pacijenta i tehničke izvodljivosti operacije. Može se operisati i više metastaza u jednom organu. Ako su obostrano zahvaćeni parni organi (pluća) takvi pacijenti se ne operišu.

## **2. DOSADAŠNJA SAZNANJA**

### **2.1. Način širenja melanoma**

Melanom se širi lokalnim urastanjem, limfogeno i hematogeno. Lokalno širenje je po tipu radijalnog (horizontalnog) i vertikalnog rasta. Radijalni rast podrazumeva širenje melanoma kružno oko promene, kroz epiderm i površne slojeve derma. U ovoj fazi rasta melanom nema tendenciju da metastazira. Vertikalni rast podrazumeva prodiranje melanoma u dubinu – u dublje slojeve derma i u potkožno tkivo, uz istovremeno metastaziranje.

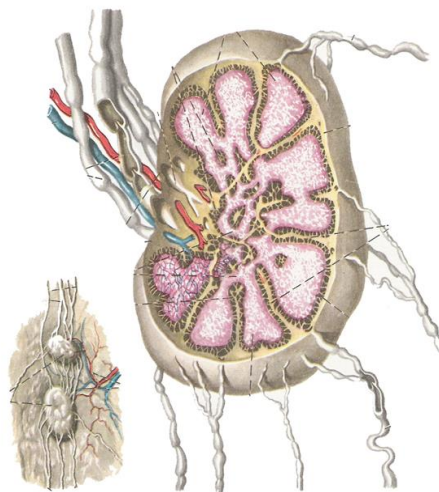
Limfogeno širenje odvija se prema odgovarajućoj limfnoj regiji. Pitanje limfogenog širenja na ekstremitetima je jednostavno i ono je u odgovarajuću pazušnu ili preponsku jamu. Nešto je složeniji način širenja melanoma poglavine, dok je najsloženije širenje u predelu trupa gde metastaze melanoma ove regije mogu ići u obe pazušne i u obe preponske jame, a kod melanoma u predelu pupka mogu preko horde umbilikalis ići neposredno u jetru.

Hematogene metastaze nastaju prodiranjem ćelija melanoma u krvne sudove, i njihovim prenošenjem na ceo organizam: pluća, jetru, kosti, mozak, kičmenu moždinu i druge organe. Važno je napomenuti da su kod melanoma moguće metasaze u visceralne organe uz odsustvo meta-promena u regionalnim LČ.

### **2.2. Histologija limfnog čvora**

Limfni čvorovi predstavljaju akumulaciju limfatičkog tkiva, organizovanu u vidu posebnih inkapsuliranih limfatičkih organa. Naziv limfna žlezda nije adekvatan, iako je uobičajen, jer se ne radi o produkciji i lučenju limfe nego o njenom filtriranju kroz ovaj limfatički organ. Limfni čvor je ovoidnog oblika sa blago ispupčenom površinom na mestu ulaska dolazećih limfnih sudova, dok je suprotna površina ugnuta, na mestu hilusa, tj. na mestu izlaska odlazećih limfnih sudova i vena i ulaska arterija. Sa spoljašnje strane limfni čvor je pokriven čaurom (kapsulom) od koje polaze pregrade (septa) koje se anastomoziraju u dubini organa, formirajući zajedno sa kapsulom grublji, vezivno-kolageni skelet limfnog čvora. Unutar ovog

pregradnog sistema utkana je fina retikularna mreža stroma, koja predstavlja osnovnu podlogu celog organa. Retikularna mreža je povezana strukturno i funkcionalno sa kolagenim pregradnim sistemom.



**Slika 28.** Poprečni presek limfnog čvora

Na preseku limfnog čvora se mogu razlikovati dve osnovne zone: korteks u perifernom delu i medula u središnjem delu organa. Korteks se sastoji iz gustog limfatičnog tkiva (Slika28). Medula je središnji deo limfnog čvora sastavljena od medularnih gredica (celularnih putanja) i medularnih sinusa. Dolazeći limfni sudovi snabdeveni su zaliscima, okrenutim ka unutrašnjosti limfnog čvora, dok odlazeći sudovi imaju zaliske okrenute ka spolja, tako da je tok limfe moguć samo u jednom pravcu.

Arterije ulaze kroz hilus limfnog čvora i prate grananje pregrada. Kapilarni ogranci arterijskih sudova se jednim delom zadržavaju u sastavu vezivnog pregradnog sistema, dok drugi deo prodire unutar medularnih gredica, iz kojih kapilare dalje stižu u korteks gde formiraju guste kapilarne mreže. Od ovog kapilarnog pleksusa, nastaje u obrnutom pravcu, venozni sistem preko bogatih radijalno raspoređenih postkapilarnih venula, koji izlazi kroz hilus LČ. Karakteristična je regionalna lokalizacija limfnih čvorova u određenim oblastima tela na bazi ekstremiteta, vrata, u retroperitonealnoj oblasti i medijastinumu.

### 2.3. Biopsija limfnog čvora stražara

Biopsija limfnog čvora stražara je dijagnostička procedura za detekciju mikrometastaza i određivanje stadijuma bolesti (IIIa). Metod intraoperativnog limfatičnog obeležavanja i biopsije stražarskih (*sentinel*) limfonodusa (BLČ), koji su razvili Morton i saradnici 1991. godine, predstavlja znatno racionalniji i efikasniji pristup dijagnostici pacijenata sa klinički negativnim regionalnim LČ. (25,26) Ovim postupkom se sa visokom pouzdanošću može doneti zaključak o metastatskoj zahvaćenosti regionalnih LČ, biopsijom jednog, ponekad dva ili tri stražarska LČ. (27-29) Metodologija je bazirana na teoriji da je prvi čvor u limfnom drenažnom bazenu sektora kože sa melanomom ujedno i mesto prve metastaze. Smatra se da on odražava metastatski status celog basena, te da se njegovom biopsijom, sa najmanje morbiditeta, može doneti zaključak o zahvaćenosti metastazama i drugih regionalnih čvorova. Ako je BLČS negativna, može se očekivati sa pouzdanošću od 99% da su i ostali regionalni čvorovi bez metastaza. Mogućnost za postojanje preskačućih metastaza (kada se preskoči najbliži limfonodalni basen a metastaza se pojavi u narednom basenu) je oko 2%. Ako je biopsija LČS pozitivna pacijent se svrstava u IIIa stadijum bolesti po novoj klasifikaciji Američkog udruženja za karcinom. (15) Pacijentima sa pozitivnim LČS indikuje se kompletna limfonododisekcija zbog velike mogućnosti da je bolest zahvatila limfni basen. (30)

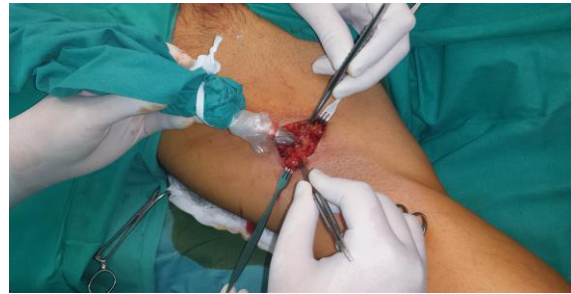
Limfni čvor stražar obeležava se na dva načina:

- a) **Radiofarmakom** (Tehnecijum- 99m obeležene koloidne čestice određene veličine) BLČS.
- b) **1% metilen plavim.**

a) Radiofarmak se ubrizgava na četiri mesta intradermalno oko ožiljka od ekscizije biopsije ili na četiri mesta oko melanoma na kome je radjena parcijalna eksciziona biopsija (Slika29).



**Slika 29.** Ubrizgan radiofarmak



**Slika 30.** Indetifikovan LČ  
strazar gama sondom

Ovaj radiofarmak mora da ima sledeće karakteristike:

- da se lako resorbuje i da se dobro transportuje do ciljanih limfnih čvorova,
- da se ne resorbuje ili da se minimalno resorbuje u krvotoku (vene i kapilari),
- polужivot radionuklida mora biti dovoljno dug u limfnom čvoru stražaru za kliničku i intraoperativnu dijagnostiku.

Radiofarmak se ubrizgava 24 časa pre operacije. Nakon ubrizgavanja radiofarmaka  $\gamma$ -kamerom se određuje regionalni limfni basen. Potom se načini identifikacija limfnog čvora stražara koji je upravno orjentisan na površinu kože. (Slika 30) Mesto se obeleži a potom i skarifikuje. Pacijent u ovoj proceduri pozicionira se na način na koji će biti pozicioniran i u toku same operacije:

- pazuh – ruke iznad glave,
- prepona- potkolenica savijena , natkolenica u abdukciji,
- zaušna pljuvačna žlezda i vrat – glava okrenuta na suprotnu stranu od mesta obeleženog limfnog čvora stražara.

**b)** 1%rastvor metilen plavog ubrizgava se takodje na četiri mesta kao i radiofarmak, ali 1-2 časa pre operacije, 1-2ml rastvora(Slika31).

U toku operacije ručnom  $\gamma$ -sondom još jednom se proverava obeleženo mesto ispod kog bi upravno trebao da bude lokalizovan limfni čvor stražar. Nakon načinjene incizije kože, u uslovima opšte anestezije, vizuelno se identifikuje plavo obojeni limfni čvor stražar, (Slika 32) a potom se ručnom  $\gamma$ -sondom još jednom potvrdi njegovo prisustvo po količini radioaktivnosti (u LČ stražaru treba da bude najviše), te se nakon toga načini ekstirpacija limfnog čvora.



**Slika 31.** Ubrizgan 1% rastvor metilenplavog



**Slika 32.** Prebojen LČ stražar 1% metilen plavim

Ovakvim dvostrukim obeležavanjem limfnog čvora stražara povećava se tačnost metode i ona se kreće od 93-99,7% u zavisnosti od centra u kome se sprovodi. (31)

### **2.3.1 Varijacija metode**

U slučaju da je primarni melanoma bio blizu limfnog čvora stražara (do 10cm) postoji otežana identifikacija. Rastvor metilen plavog, zbog blizine, se razlije. Gama sonda prikuplja veliki broj impulsa čiji je izvor mesto aplikacije radiofarmaka koje je u blizini LČS- što može dovesti do "zagušenja" sonde. Neki autori smatraju da je potrebno učiniti prvo reeksciziju sektora kože, pa potom raditi identifikaciju limfnog čvora stražara. ( 32)

Iz našeg iskustva ovakav izmenjeni redosled u proceduri biopsije limfnog čvora stražara ne pomaže naročito, pogotovo u predelu pazuha kada je ožiljak od ekscizije biopsije bliži od 10cm.

### 2.3.2 Komplikacije BLČS

Moguće komplikacije nakon biopsije limfnog čvora stražara su:

- otok,
  - hematom,
  - infekcija,
  - dehiscencija rane,
  - nastajanje limfocele,
  - stvaranje ožiljka koji može ometati disekciju regionalnog limfonodalnog basena u slučaju kada je limfni čvor stražar pozitivan,
  - moguće su i sve komplikacije prouzrokovane opštom anestezijom.
- (33)

Limfni čvorovi stražari mogu biti smešteni u dva regionalna limfna basena, naročito kod lokalizacije melanoma u aksijalnim regijama, regijama glave, vrata i ramena, kao i ako se nalaze na trupu na 2cm levo i desno od sagitalne ravni koja deli trup na dva simetrična dela (levi i desni) kao i 2cm gore i dole od transferzalne ravni koja prolazi u visini pupka.

Indikacije za biopsiju limfnog čvora stražara su:

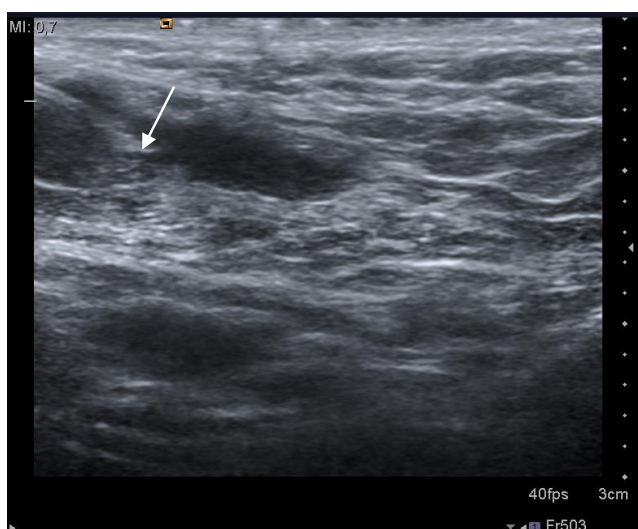
- -melanom deblji od 1mm po Breslow-u,
- -melanom tanji od 1mm po Breslow-u, a koji ima dodatne faktore rizika: ulceracija, jednu ili više mitozu po mm<sup>2</sup> i IV stepen invazije po Clarku

Značaj ove metode je dijagnostički i prognostički. Ona statistički značajno produžava period bez bolesti. (3-7,34-38) Postoje studije koje pokazuju veće petogodišnje i desetogodišnje preživljavanje nakon ove procedure, ali se odnose samo na melanome srednje debljine (1,2-3,5mm po Breslow-u). (36) Uspešnost sprovođenja ove metode zavisi od dobre saradnje specijaliste za nuklearnu medicinu, hirurga i patologa.

## 2.4. Biopsija limfnog čvora tankom iglom

Biopsija, odnosno aspiracija tankom iglom, kao metoda za dobivanje materijala iz limfnog čvora i drugih tumorskih masa, uvodi se u kliničku praksu dvadesetih godina prošloga veka, da bi tek krajem šezdesetih godina prošloga veka zaživela u praksi. Provodi se iglama veličine 25-27 G. Aspiraciju palpabilnih tumorskih masa mogu vršiti za to obučeni kliničari, ali se najbolji rezultati dobijaju kada to rade citolozi koji i gledaju preparate. Materijal se razmaže na predmetno staklo, a preparati se rutinski boje po May-Grunwald Giemsi ili po Papanukolau, i pregledaju od strane obučenog citologa. Aspiraciju nepalpabilnih limfnih čvorova vrše za to obučeni radiolozi pod kontrolom ultrazvuka (Slika 33), koji omogućava praćenje igle i njenu preciznu inserciju u limfni čvor. (39)

Zbog minimalne invazivnosti i činjenice da ne postoji opasnost od rasejavanja bolesti, ova metoda se može koristiti i u dijagnostici mikrometastaza u limfnim čvorovima stražarima. Pojedina istraživanja su pokazala da se mikrometastaze u LČ stražarima mogu otkriti u 65% slučajeva. (40-43) Međutim, pojedini autori smatraju ovu metodu nepouzdanom kod LČ stražara manjih od 4,5 mm, zbog otežane UZ vizualizacije i malog rastojanja između korteksa LČ stražara i medule, što otežava aspiraciju tankom iglom vođenu ultrazvukom. (44)



**Slika 33.** Vrh igle u LČ stražaru



### **3. PREDMET, ZNAČAJ, HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

#### **3.1. Predmet i značaj istraživanja**

Ako se metodom ultrazvučno vođene aspiracije tankom iglom LČ stražara, kod obolelih od melanoma kože, dokaže prisustvo mikrometastaza, neće biti potrebe za njegovom biopsijom, te se već pripremljenom pacijentu može učiniti evakuacija LČ iz regionalnih limfnih basena. Ovim se smanjuje broj operacija i skraćuje se vreme dijagnostike. Metoda ultrazvučno vođene aspiracije tankom iglom LČ stražara je manje agresivna i ekonomski isplativija metoda od biopsije LČ stražara.

##### **3.1.1. Nedostatci metode**

Istraživači koji osporavaju metodu ultrazvučno vođene aspiracije tankom iglom LČ stražara zbog njene *nepreciznosti* (zbog veličine LČ stražara, zbog *debljine između korteksa i medule* LČ stražara i subkortikalnih mikrometastaza LČ stražara), smatraju da senzitivnost ove metode neće biti visoka. U našem istraživanju LČ stražare smo obeležili: Tehnecijumom-99m obeleženim nano koloidom i 1% Metilen – plavim. Upravna projekcija LČ stražara na koži bila je obeležena skarifikacijom. Rastojanje LČ stražara do površine kože izmereno je ultrazvukom. Ubod i hematoma u ekstirpiranom limfnom čvoru stražaru nam je potvrda da smo dobro uradili ultrazvučno vodjenu biopsiju limfnog čvora stražara. Svi ovi postupci povećavaju preciznost metode ultrazvučno vodjene biopsije LČ stražara. Dobijeni rezultati će razrešiti dilemu oko uvođenja ove metode u našu kliničku praksu, naročito kod melanoma debljih od 4mm po Breslowu, gde očekujemo najčešće prisustvo mikrometastaza.

#### **3.2. Hipoteza**

Metoda ultrazvučno vođene aspiracije tankom iglom kod bolesnika sa melanomom kože detektuje mikrometastaze sa približnom specifičnošću, senzitivnošću i tačnošću kao i biopsija limfnog čvora stražara.

### 3.3. Ciljevi istraživanja

- ❖ Odrediti **senzitivnost** metode ultrazvučno vođene aspiracije tankom iglom LČ stražara kod bolesnika sa tankim melanomom kože (tanji od 1 mm, sa prisutnim mitozama i/ili ulceracijom i/ili Clark IV i/ili regresijom većom od 25%) intermedijarnim melanomom kože (od 1,1 mm do 4 mm) i debelim melanomom kože (iznad 4 mm).
- ❖ Odrediti **specifičnost** metode ultrazvučno vođene aspiracije tankom iglom LČ stražara kod bolesnika sa tankim melanomom kože (tanji od 1 mm sa prisutnim mitozama i/ili ulceracijom i/ili Clark IV i/ili regresijom većom od 25% intermedijarnim melanomom kože (od 1,1 mm do 4 mm) i debelim melanomom kože (iznad 4 mm).
- ❖ Odrediti **tačnost** metode ultrazvučno vođene aspiracije tankom iglom LČ stražara kod bolesnika sa tankim melanomom kože (tanji od 1 mm sa prisutnim mitozama i/ili ulceracijom i/ili Clark IV i/ili regresijom većom od 25%), intermedijarnim melanomom kože (od 1,1 mm do 4 mm) i debelim melanomom kože (iznad 4 mm).
- ❖ Utvrditi statističku značajnost metode ultrazvučno vođene aspiracije tankom iglom između ispitivanih grupa.
- ❖ Odrediti statističku značajnost između prisustva ulceracije, limfocitne infiltracije, limfovaskularne invazije i regresije u PH nalazu kod primarnog melanoma i metastaza u LČ stražaru, dobijenih UZ vođenom ATI i BLČS, kod svih pacijenata .
- ❖ Odrediti statističku značajnost između veličine LČ stražara i tačnosti metode ultrazvučno vođene aspiracije LČ stražara.

#### 4. ISPITANICI I METODE

Po odobrenju idejnog projekta od strane etičkog komiteta, započeli smo istraživanje Validnost ultrazvučno vodjene aspiracije tankom iglom u dijagnostici mikrometastaza u limfnim čvorovima stražarima u obolelih od melanoma kože.

Istraživanje je obavljeno u Klinici za PLH i opekotine, Institutu za radiologiju, Institutu za nuklearnu medicinu, Institutu za patologiju i Odseku za citologiju, po modelu prospektivne studije.

Analizirano je šezdeset pacijenata, koji su prethodno operisani od primarnog melanoma u Ib i II kliničkom stadijumu bolesti, u periodu od 2012-2014g. Ispitanici su podeljeni u tri grupe.

U prvoj grupi bilo je dvadeset pacijenata obolelih od tankog melanoma Breslow do 1mm, sa prisutnim mitozama i/ili ulceracijom i/ili Clark IV .

U drugoj grupi bilo je dvadeset pacijenata obolelih od intermedijarnog melanoma - Breslow od 1,1mm do 4mm.

U trećoj grupi bilo je dvadeset pacijenata obolelih od debelog melanoma - Breslow veći od 4mm.

Klinički stadijum bolesti smo utvrđivali: *palpacijom, ultrazvučnim pregledom* regionalnih limfnih basena (vrata, pazuha, prepona) abdomena i male karlice, *RTG snimkom* srca i pluća i *laboratorijskim* analizama. Ovim standardnim dijagnostičkim postupcima mogu se detektovati svi nklinički stadijumi sem III-a. Preoperativna limfoscintigrafija je izvodjena korišćenjem dvoglave gama kamere Adac- Vertex (Slika34) a nakon intradermalne aplikacije radiofarmaka Tehnecijumom -99m obeleženog nanokoloida (Nanocis ®) aktivnosti 15 MBq i volumena 01.ml, na tri do četiri mesta zavisno od lokalizacije primarnog tumora. Dinamska studija je radjena prikupljanjem 7-10 jednominutnih fremova glavom kamere postavljenom iznad mesta aplikacije. Rani i odloženi statički scintigrami su radjeni prikupljanjem petominutnih fremova nad regionalnim basenima drenaže bilateralno, sve do vizuelizacije sentinelnog (ili više njih) limfnog čvora. Površinska lokacija sentinelnog limfnog čvora je markirana na koži, nakon provere iz ortogonalnih položaja u regionalnim limfnim basenima u predelu prepona, pazuha i vrata. Ovo smo učinili 24

časa pre aspiracije LČ stražara u Institutu za nuklearnu medicinu VMA. U svim grupama analizirani su samo pacijenti koji su imali jedan detektovan LČ stražar i to samo u jednom limfnom basenu.



**Slika 34.** Dvoglava gama kamera Adac- Vertex

U klinici za PLH i opekotine dva časa pre operacije oko ožiljka od ekscizije biopsije intradermalno smo ubrizgavali 1% Metilen – plavo.

Po ubrizgavanju 1% Metilen-plavog identifikovali smo LČ stražar ultrazvučnim pregledom pacijenata sve tri grupe u Institutu za radiologiju VMA, ultrazvučnim aparatom tipa TOSHIBA APLIO X6SA-790A sa multifrekventnom sondom, frekventnog opsega od 6-12MHz. Svi LČ su bili pregledani u B-modu *real time*, pulsni kolor Doppler-om, *power modom*-om (Slika35).



**Slika 35.** Pulsni kolor Doppler

Potom je pacijentima sve tri grupe učinjena ultrazvučno vođena aspiracija tankom iglom LČ stražara sa iglama promera 27 Gejdža (0,4x20mm) i 25 Gejdža (0,5x25mm) što je zavisilo od udaljenosti LČ stražara od površine kože. Koristi smo isti tip ultrazvučnog aparata. Kao dokaz da smo dobro učinili aspiraciju bilo je prisustvo hematoma i uboda u ekstirpiranom limfnom čvoru stražaru (Slika36).



**Slika36.** Ekstirpirani LČ stražar

Materijal dobijen aspiracijom LČ stražara razmazan je na predmetno staklo, osušen na vazduhu i prosleđen u Odeljenje za patologiju i citologiju Instituta za patologiju i sudsku medicinu VMA, gde je bojen po May-Grumwald Giemsi i pregledan od strane citologa. Citodijagnoza je kategorizirana kao pozitivna, suspektna ili negativna na melanom. Pozitivni na metastatski melanom smatrani su oni slučajevi gde su u razmazima materijala nađene dobro očuvane maligne ćelije sa pigmentom ili nekim od tipičnih citoloških karakteristika za melanom.

Svim pacijentima je učinjena biopsija LČ stražara takođe u klinici za PLH i opekotine. Intraoperativna detekcija sentinelnog limfnog nodusa je izvodjena prenosivom gama sondom Europrobe (Slika37). Sentinelnim je smatran limfni čvor iznad koga sonda registruje najveću brzinu brojanja impulsa, a za biopiju su uzimani i ostali čvorovi nad kojima se detektuje više od 10% ostvarenog maksimalnog broja impulsa (Slika38).



**Slika 37.** Gama sonda Europrobe



**Slika 38.** Identifikovani LČ stražar

Histopatološke analize LČS svih ispitanih pacijenata obavljene su u Institutu za patologiju i sudsku medicinu VMA. Primenjivali smo sledeće metode: bojenje hematoksilin-eozinom (H&E) i imunohistohemijske metode (primena antitela na tumor specifične proteine kao što su S-100 i HMB 45).

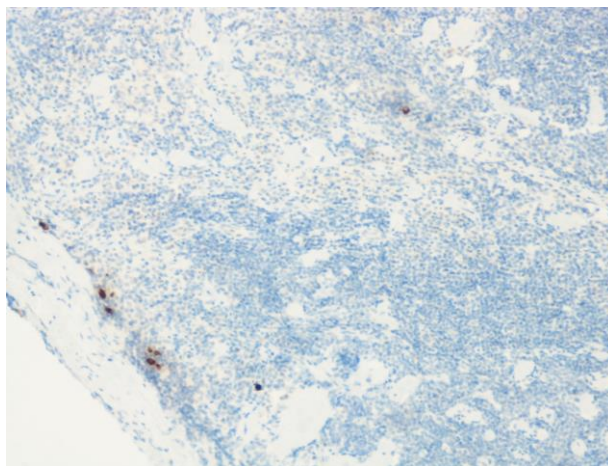
*Senzitivnost* metode aspiracije tankom iglom LČ stražara predstavlja karakteristiku metode koja meri onaj procenat bolesnih koje i sam metod označava kao bolesne i izračunava se kao količnik između stvarno pozitivnih (SP) nalaza aspiracije tankom iglom LČ stražara i zbira stvarno pozitivnih nalaza aspiracije

tankom iglom LČ stražara i lažno negativnih (LN) nalaza aspiracije tankom iglom LČ stražara.

*Specifičnost* metode aspiracije tankom iglom LČ stražara predstavlja karakteristiku metode koja meri onaj procenat zdravih koje i sam metod označava kao zdrave i izračunava se kao količnik između stvarno negativnih (SN) nalaza aspiracije tankom iglom LČ stražara i zbira stvarno negativnih nalaza aspiracije tankom iglom LČ stražara i lažno pozitivnih (LP) nalaza aspiracije tankom iglom LČ stražara.

*Tačnost* ili predviđanje pozitivnog ishoda metode aspiracije tankom iglom LČ stražara predstavlja odnos pacijenata sa pozitivnim histopatološkim nalazom koji su tačno dijagnostikovani i izračunava se kao količnik između zbira stvarno pozitivnih (SP) nalaza aspiracije tankom iglom LČ stražara i stvarno negativnih (SN) nalaza aspiracije tankom iglom LČ stražara i ukupnog broja pacijenata.

Zlatni standard za izračunavanje specifičnosti, senzitivnosti i tačnosti metode aspiracije tankom iglom LČ stražara, bio je histopatološki nalaz LČ stražara dobijen njegovom biopsijom (Slika39).



**Slika 39.** LČ stražar

#### **4.1 Statistička obrada podataka**

Pored uobičajenih parametara deskriptivne statistike (srednja vrednost, standardna devijacija, raspon, medijana i frekvencije pojave nekih obeležja), korišćeni su i drugi testovi iz domena analitičke statistike.

U zavisnosti od normalnosti raspodele praćenih parametara i broja grupa između kojih je tražena statistička značajnost, od parametarskih testova je korišćena analiza varijanse u 1. pravcu koja je završavana Tukeyevim testom ili neparametarski Kruskal-Wallis test za nezavisna obeležja koji je u *post hoc* analizi završavan primenom Mann-Whitney U testom.

Postojanje statistički značajne razlike između distribucija frekvencija pojedinih grupa proveravano je primenom hi-kvadrat testa.

Senzitivnost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrednost i tačnost ispitivanih patohistoloških tehnika utvrđena je na dobro poznati standardni način (tabele kontigencije 2 x 2).

Minimalna statistička značajnost utvrđena je na nivou  $p < 0,05$ .

Za statističku analizu korišćen je komercijalni statistički softver SPSS, verzija 18 (SAD).



## 5. REZULTATI

U tabeli 5 i 6 prikazani su demografski podatci svih ispitanika.

**Tabela 5.**

Stadijum melanoma (Breslow)	Godine starosti		
	X	SD	Med.
Grupa 1	50,05	14,96	52,00
Grupa 2	55,45	15,85	57,00
Grupa 3	52,15	15,64	51,00
Poređenje grupa ANOVA	F = 0,61; p = 0,54		

**Tabela 6.**

Pol		Grupe ispitanika			Ukupno
		Grupa 1	Grupa 2	Grupa 3	
Muški	n	11	15	10	36
	%	30,6	41,7	27,8	100,0
Ženski	n	9	5	10	24
	%	37,5	20,8	41,7	100,0
Ukupno	n	20	20	20	60
	%	33,3	33,3	33,3	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 2,91; p = 0,23$			

U sve tri grupe ispitanika prosečna starost je približno ista, u prvoj grupi 50,25g. u drugoj 55,45g. i u trećoj 52,15g. Ukupno je bilo više ispitanika muškog pola-u prvoj grupi 11, u drugoj 15 i u trećoj isti broj po 10.

U tabeli 7 prikazana je distribucija ispitanika po **polu** u odnosu na grupe ispitanika.

**Tabela 7.**

Grupe ispitanika		Pol		Ukupno
		Muški	Ženski	
Grupa 1	n	11	9	20
	%	55,0	45,0	100,0
Grupa 2	n	15	5	20
	%	75,0	25,0	100,0
Grupa 3	n	10	10	20
	%	50,0	50,0	100,0
Ukupno	n	36	24	60
	%	60,0	40,0	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 2,91; p = 0,23$		

Primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna razlika distribucija ispitanika po polu u odnosu na grupe ispitanika.

U tabeli 8 prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih *citoloških* nalaza dobijenih UZ vodjenom ATI u odnosu na *pol* bolesnika.

**Tabela 8.**

Citološki nalaz		Pol		Ukupno
		Muški	Ženski	
Negativan	n	31	22	53
	%	58,5	41,5	100,0
Pozitivan	n	5	2	7
	%	71,4	28,6	100,0
Ukupno	n	36	24	60
	%	60,0	40,0	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 0,06; p = 0,80$		

Primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna razlika distribucija između polova. Pozitivan citološki nalaz je nešto češće registrovan kod bolesnika muškog pola.

U tabeli 9 prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih *PH nalaza* dobijenih BLČS u odnosu na *pol* bolesnika.

**Tabela 9.**

PH nalaz		Pol		Ukupno
		Muški	Ženski	
Negativan	n	27	19	46
	%	58,7	41,3	100,0
Pozitivan	n	9	5	14
	%	64,3	35,7	100,0
Ukupno	n	36	24	60
	%	60,0	40,0	100,0
Poređernje distribucija	$\chi^2 = 0,00; p = 0,95$			

Primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna razlika u distribuciji pozitivnih i negativnih PH nalaza između polova.

U tabeli 10 prikazana je distribucija *kliničkih oblika* melanoma u odnosu na *pol* bolesnika.

**Tabela 10.**

Klinički oblik primarnog melanoma		Pol		Ukupno
		Muški	Ženski	
Akralni	n	2	0	2
	%	100,0	0,0	100,0
Nodularni	n	6	4	10
	%	60,0	40,0	100,0
Površni	n	28	20	48
	%	58,3	41,7	100,0
Ukupno	n	36	24	60
	%	60,0	40,0	100,0
Poredjenje distribucija	$\chi^2 = 1,38; p = 0,49$			

Primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna povezanost pola i kliničkog oblika melanoma.

U tabeli 11 prikazane su *lokalizacije* primarnih melanoma

**Tabela 11.**

<b>Lokalizacija</b>	n	%
Glava	6	10,0
Trup	34	56,7
Gornji ekstremiteti	6	10,0
Donji ekstremiteti	14	23,3
<b>Ukupno</b>	<b>60</b>	<b>100,0</b>

Dominantna lokalizacija je trup (skoro u 60% bolesnika).

U tabeli 12. prikazana je učestalost *kliničkog oblika primarnog* melanoma u odnosu na grupe ispitanika.

**Tabela 12.**

<b>Klinički oblik prim. melanoma</b>		Grupe ispitanika			Ukupno
		Grupa 1	Grupa 2	Grupa 3	
Akralni	n	0	1	1	2
	%	0,0	50,0	50,0	100,0
Nodularni	n	0	0	10	10
	%	0,0	0,0	100,0	100,0
Površni	n	20	19	9	48
	%	41,7	39,6	18,8	100,0
Ukupno	n	20	20	20	60
	%	33,3	33,3	33,3	100,0
Poredjenje distribucija	$\chi^2 = 25,62; p < 0,001$				

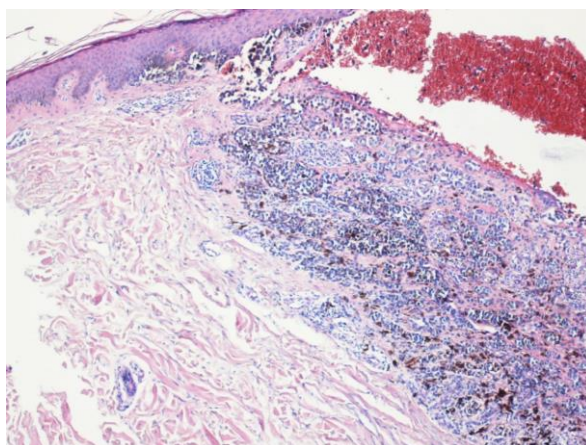
Utvrđena je visoka statistički značajna povezanost između površnog oblika primarnog melanoma sa prvom grupom ispitanika, odnosno registrovana je pojava da bolesnici sa površnim oblikom melanoma dominantno pripadaju grupi 1.  $p < 0,001$ .

U tabeli 13 prikazana je distribucija *ulceracije primarnog melanoma* po grupama.

**Tabela 13.**

Grupe ispitanika		Ulceracije		Ukupno
		Prisutne	Odsutne	
Grupa 1	n	3	17	20
	%	15,0	85,0	100,0
Grupa 2	n	8	12	20
	%	40,0	60,0	100,0
Grupa 3	n	12	8	20
	%	60,0	40,0	100,0
Ukupno	n	23	37	60
	%	38,3	61,78	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 8,60; p = 0,014$		

Primenom  $\chi^2$  testa registrovana je statistički značajna povezanost ulceracije primarnog melanoma sa ispitanicima u trećoj grupi. U trećoj grupi bolesnika registrovan je značajno veći procenat bolesnika sa ulcerisanim promenama (60,0%;  $p < 0,05$ ) u odnosu na prve dve grupe (Slika40).



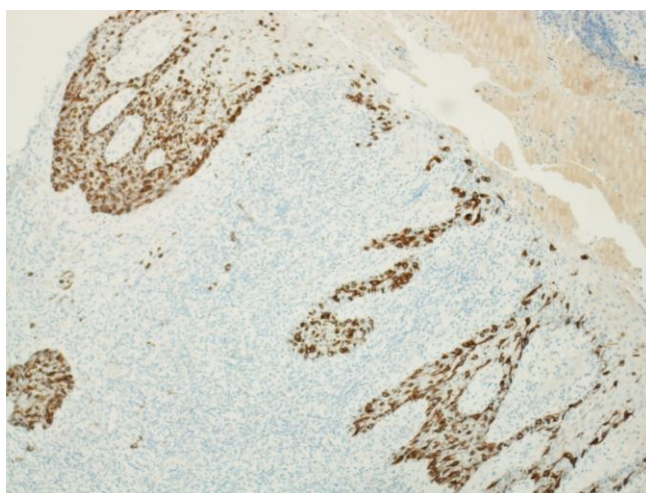
**Slika 40.** Ulceracija

U tabeli 14 prikazana je distribucija *regresije primarnog* melanoma po grupama.

**Tabela 14.**

Grupe ispitanika		Regresija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Grupa 1	n	2	18	20
	%	10,0	90,0	100,0
Grupa 2	n	4	16	20
	%	20,0	80,0	100,0
Grupa 3	n	1	19	20
	%	5,0	95,0	100,0
Ukupno	n	7	53	60
	%	11,7	88,3	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 2,26; p = 0,322$		

Primenom  $\chi^2$  testa nije utvrđena statistički značajna razlika između distribucija regresija među grupama ispitanika, odnosno regresija primarnog melanoma je približno jednako prisutna u svim grupama ispitanika (Slika41).



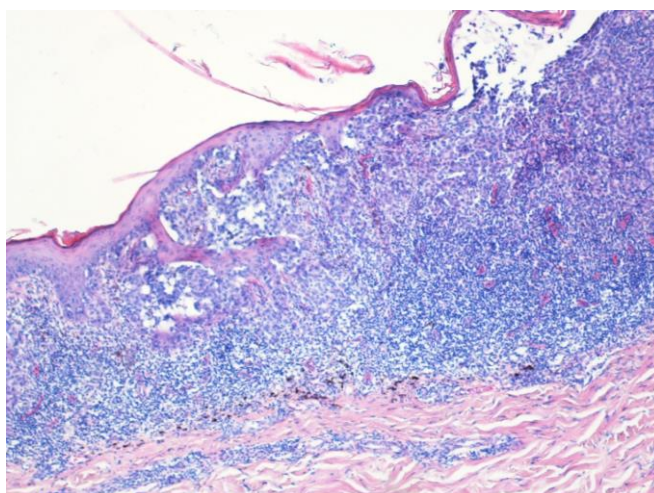
**Slika 41.** Regresija

U tabeli 15 prikazana je distribucija *limfocitne infiltracije* kod primarnog melanoma po grupama.

**Tabela 15.**

Grupe ispitanika		Limfocitna infiltracija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Grupa 1	n	11	9	20
	%	55,0	45,0	100,0
Grupa 2	n	11	9	20
	%	55,0	45,0	100,0
Grupa 3	n	9	11	20
	%	45,0	55,0	100,0
Ukupno	n	31	29	60
	%	51,7	48,3	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 0,534; p = 0,766$		

Prikazani podaci ukazuju da je limfocitna infiltracija kod primarnog melanoma prisutna u oko 50% bolesnika bez obzira na grupu ispitanika. Primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna razlika između grupa (Slika42).



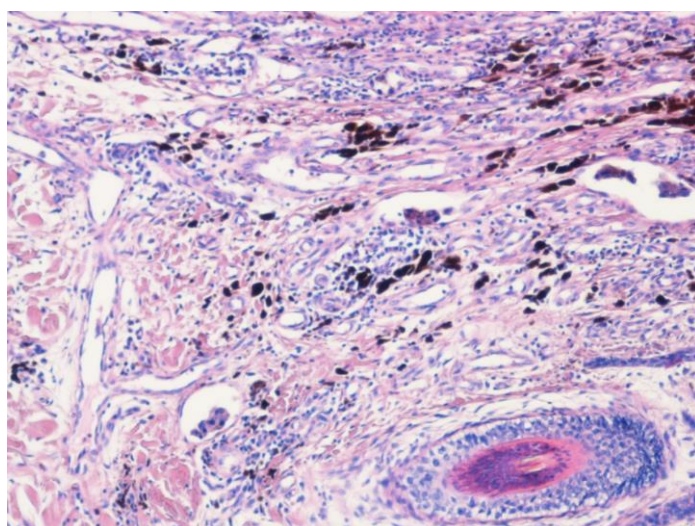
**Slika 42.** Limfocitna infiltracija

U tabeli 16 prikazana je distribucija *limfovaskularne invazije* kod primarnog melanoma po grupama.

**Tabela 16.**

Grupe ispitanika		Limfovaskularna invazija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Grupa 1	n	1	19	20
	%	5,0	95,0	100,0
Grupa 2	n	2	18	20
	%	10,0	90,0	100,0
Grupa 3	n	2	18	20
	%	10,0	90,0	100,0
Ukupno	n	5	55	60
	%	8,3	91,7	100,0
Poredjenje distribucija	$\chi^2 = 0,436; p = 0,804$			

Limfovaskularna invazija kod primarnog melanoma bila je registrovana u malom procentu bolesnika (5-10%) nezavisno od grupe ispitanika. Primenom  $\chi^2$  testa nije utvrđena statistički značajna razlika distribucija između grupa bolesnika (Slika43).



**Slika 43.** Limfovaskularna invazija



U tabeli 17. prikazana je *distribucija debljine primarnog melanoma po Breslowu u odnosu na nivo invazije po Clarku.*

**Tabela 17.**

Nivo invazije-Clark	Breslow (mm)		
	X	SD	Med.
II	1,09	1,29	0,66
III	1,52	1,27	1,15
IV	3,51	2,26	3,25
V	6,75	3,76	5,10
Poredjenje grupa Kruskal-Wallis	$\chi^2 = 23,64; p < 0,001$ II:III - n.s.; II:IV - $p < 0,01$ ; II:V - $p < 0,01$ ; III:IV - $p < 0,001$ ; III:V - $p < 0,001$ ; IV:V - $p < 0,05$		

U tabeli 17 nađena je visoko statistički značajna razlika vrednosti debljine melanoma po Breslowu u odnosu na nivo invazije po Clarku. Izmedju II i IV i II i V nivoa invazije postoji statistička značajnost u debljini melanoma po Breslowu na nivou  $p < 0,01$ . Izmedju III i IV i III i V nivoa invazije postoji statistička značajnost u debljini melanoma po Breslowu na nivou  $p < 0,001$ . I izmedju IV i V nivoa invazije postoji statistička značajnost u debljini melanoma po Breslowu na nivou  $p < 0,05$ .

U tabeli 18 prikazane su *lokalizacije limfnog čvora stražara.*

**Tabela 18.**

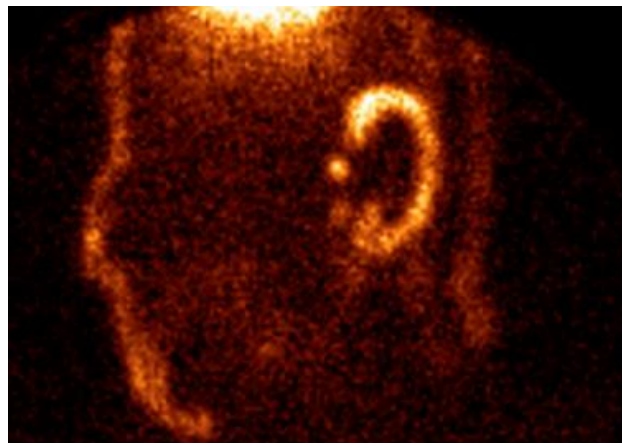
Lokalizacija	n	%
Aksila (desno)	11	18,3
Aksila (levo)	22	36,7
Ingvinalno (desno)	7	11,7
Ingvinalno (levo)	10	16,7
Parotidna žlj. (desno)	1	1,7
Vrat (desno)	6	10,0
Vrat (levo)	3	5,0
Ukupno	60	100,0

U preko 50% bolesnika, zahvaćeni limfni čvorovi stražari su smešteni u aksilarnim jamama.

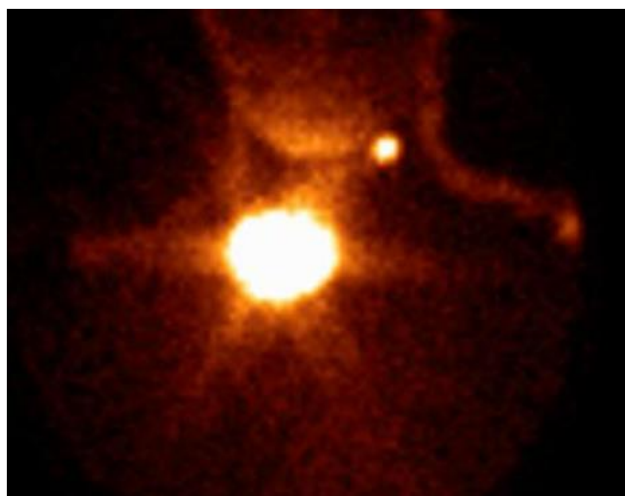
Na slikama 44,45 i 46 vide se identifikovani i obeleženi LČ stražari. Vide se i mesta ubrizgavanja radiofarmaka.



**Slika 44.** LČ stražar u levom ingvinumu



**Slika 45.** LČ stražar u levoj parotidnoj regiji



**Slika 46.** LČ stražar u levoj strani vrata

U tabeli 19. prikazana je distribucija površine LČ stražara po grupama ispitanika.

**Tabela19.**

Stadijum melanoma (Breslow)	Površina limfnih čvorova (mm <sup>2</sup> )		
	Sred. vrednost	SD	Medijana
Grupa 1	73,85	75,75	53,00
Grupa 2	194,39	224,64	106,95
Grupa 3	109,71	77,92	93,00
Poređenje grupa Kruskal-Wallis test	$\chi^2 = 8,07; p = 0,018$ 1:2 - $p < 0,01$ ; 1:3 - n.s.; 2:3 - n.s.		

Iz tabele se može uočiti da je najveća površina zahvaćenih limfnih čvorova stražara registrovana kod ispitanika u grupi 2. Statistička analiza je utvrdila postojanje značajne razlike između grupa (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ), a međusobnim poređenjem grupa utvrđena je umerena statistička razlika između grupe ispitanika 1 i 2,  $p < 0,01$ .

U tabeli 20 prikazana je komparativna analiza površina limfnih čvorova stražara u bolesnika sa pozitivnim odnosno negativnim citološkim nalazom.

**Tabela 20.**

Citološki nalaz	Površina limfnog čvora stražara (mm <sup>2</sup> )		
	Sred. vrednost	SD	Medijana
Pozitivan nalaz	254,17	333,97	179,34
Negativan nalaz	109,06	101,62	78,00
Mann-Whitney test	$z = 1,69; p = 0,091$		

Nema statističke značajnosti između srednje vrednosti površina zahvaćenih limfnih čvorova, registrovana kod bolesnika sa pozitivnim citološkim nalazima u odnosu na grupu bolesnika sa negativnim citološkim nalazom,  $p = 0,091$ .

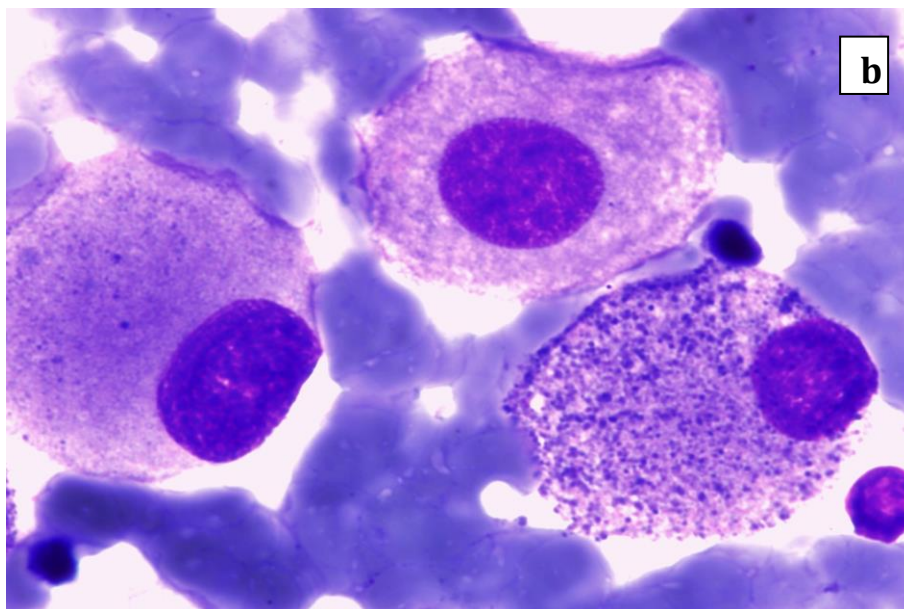
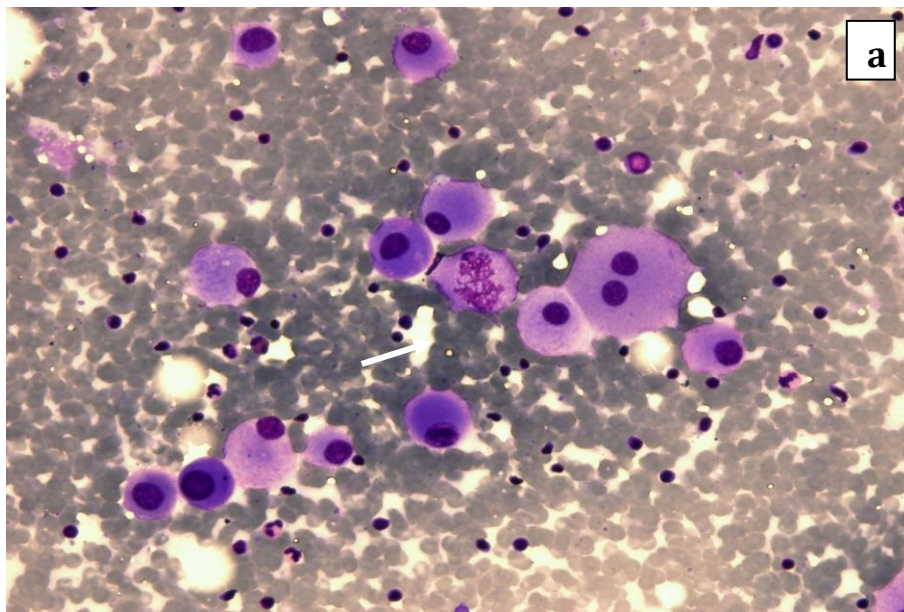
U tabeli 21 prikazana je učestalost negativnih i pozitivnih *citoloških nalaza* dobijenih UZ vodjenom ATI LČ stražara *u odnosu na grupe ispitanika*.

**Tabela 21.**

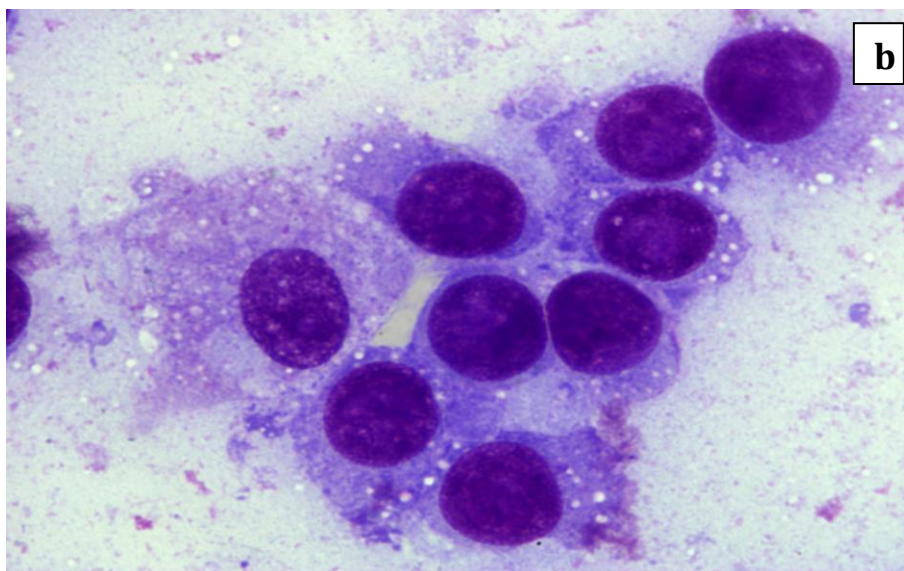
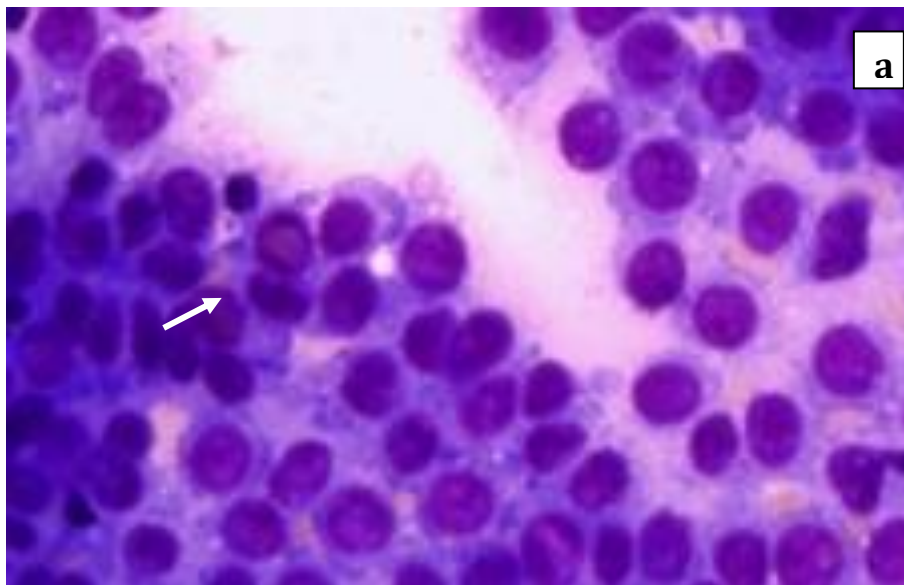
Citološki nalaz		Grupe ispitanika			Ukupno
		Grupa 1	Grupa 2	Grupa 3	
Negativan	n	20	19	14	53
	%	37,7	35,8	26,4	100,0
Pozitivan	n	0	1	6	7
	%	0,0	14,3	85,7	100,0
Ukupno	n	20	20	20	60
	%	33,3	33,3	33,3	100,0
Poredjenje distribucija	$\chi^2 = 10,02; p = 0,007$				

Od svih pacijenata sa pozitivnim citološkim nalazom LČ stražara u trećoj grupi je bilo 85,7%. Primenom  $\chi^2$  testa registrovana je umereno statistički značajno veća prisutnost pozitivnih citoloških nalaza u bolesnika grupe 3,  $p = 0,007$ .

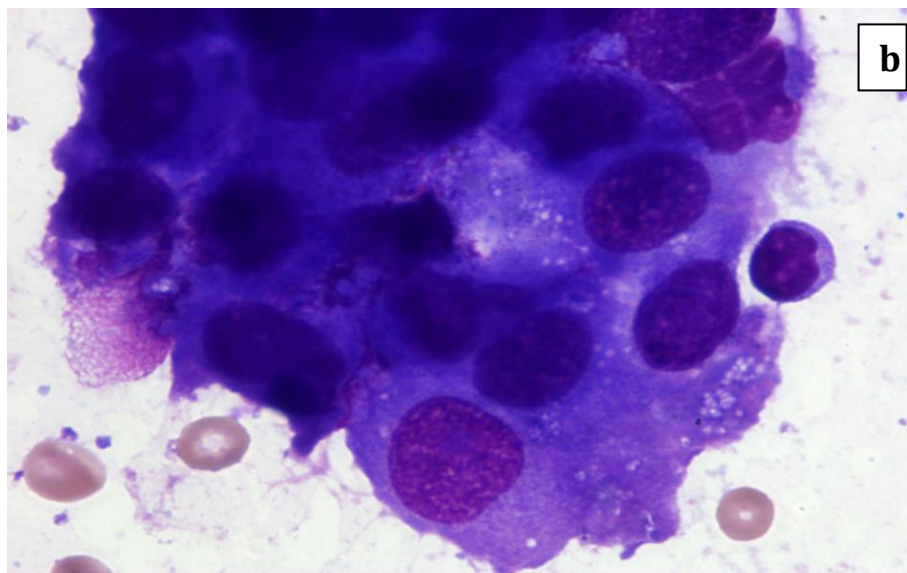
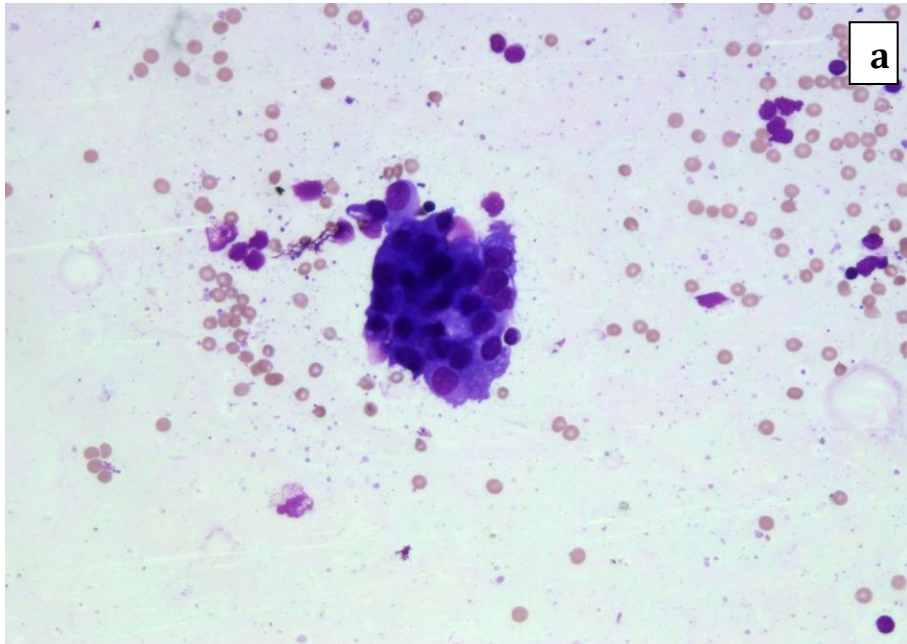
Slike 47-51 prikazuju razmaze materijala dobijenog ATI LČ stražara u kojima je nađena metastaza melanoma. Citološki, uglavnom se radilo o *epiteloidnom ćelijskom tipu* melanoma (u 5 slučajeva, Slika 47-50), u jednom slučaju se radilo o *mešanom tipu, epiteloidno-vretenastom* (Slika 52), i u jednom slučaju razmaz je sadržavao *bizarne tumorske ćelije* (Slika 51). Od 7 pozitivnih citoloških nalaza samo u jednom razmazu u ćelijama metastatskog melanoma *nije nađen melaninski pigment*.



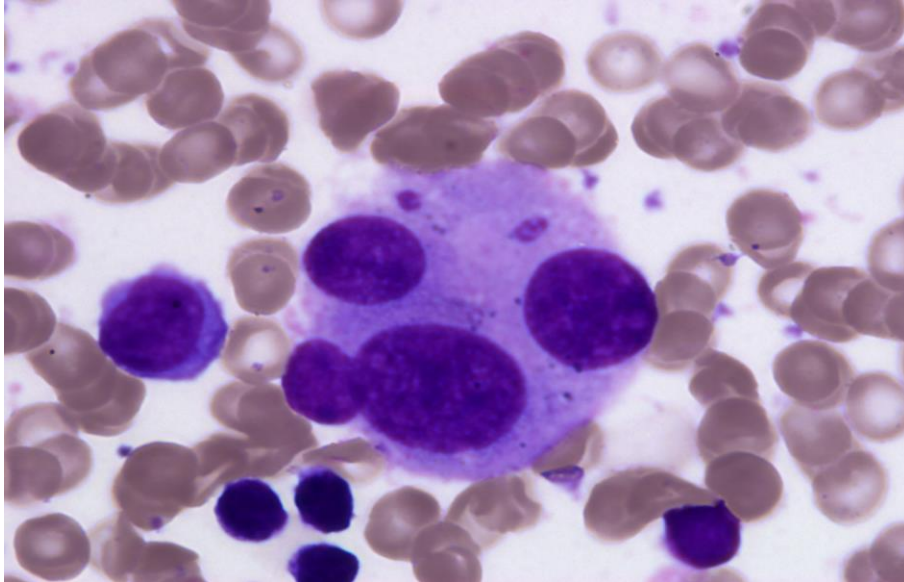
**Slika 47.** Metastaza melanoma, epitelioidni tip ćelija (ATI LČ stražara, MGG). **a.** Pojedinačne ćelije, patološka mitozna (strelica, x200). **b.** U citoplazmi pojedinih ćelija jasno vidljiv meleninski pigment (x1000).



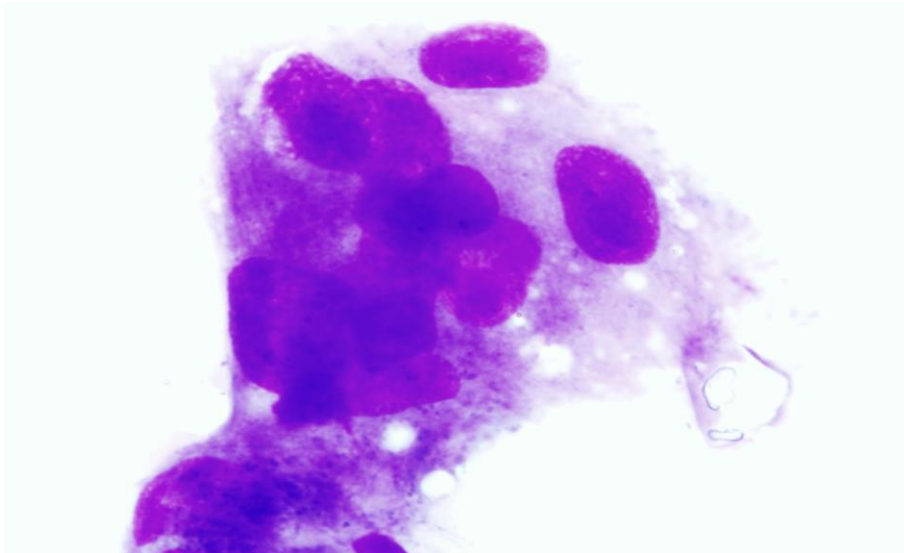
**Slika 48.** Metastaza melanoma, epiteloidni tip ćelija (ATI LČ stražara, MGG). **a.** Jednoslojna nakupina monomorfnih ćelija. U pojedinim nukleusima prisutne pseudoinkluzije (strelica, x200). **b.** Plazmocitoidni oblik ćelija (x1000).



**Slika 49.** Metastaza melanoma, epiteloidni tip ćelija (ATI LČ stražara, MGG). **a.** Grupa malignih ćelija koje se mestimično preklapaju (x100). **b.** (x1000).

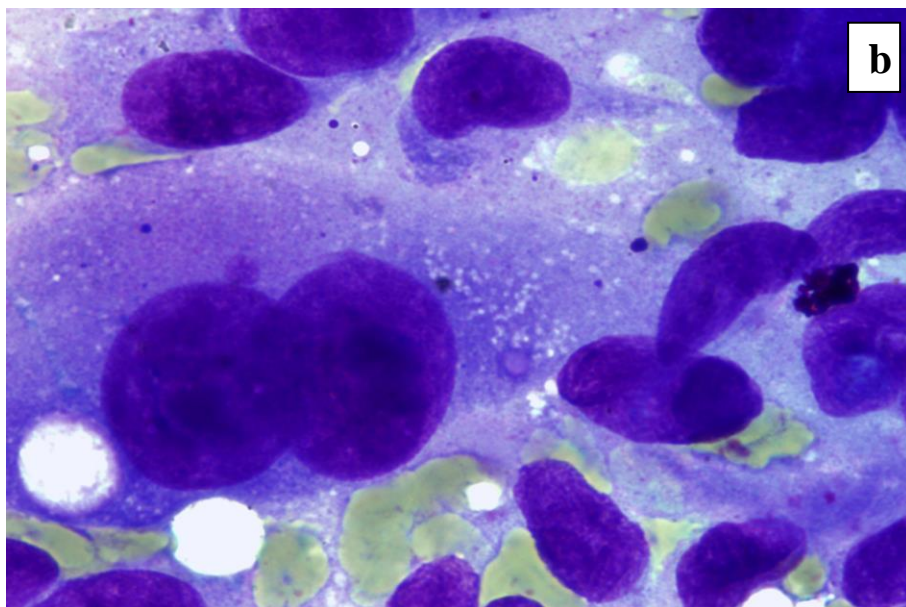
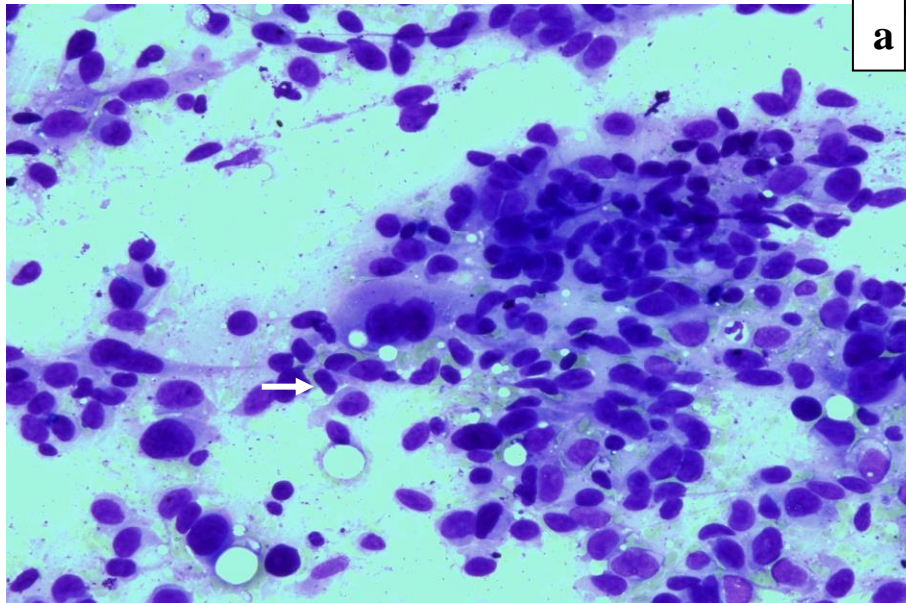


**Slika 50.** Metastaza melanoma, epiteloidni tip ćelija (ATI LČ stražara, MGG). Multinuklearna maligna ćelija, u citoplazmi vidljiv oskudan melaninski pigment.



**Slika 51.** Metastaza melanoma, grupa bizarnih tumorskih ćelija koje se međusobno preklapaju (ATI LČ stražara, MGG, x 1000).





**Slika 52.** Metastaza melanoma, epiteloidno-vretenasti tip ćelija. (ATI LČ stražara, MGG). a. Vretenaste i epiteloidne ćelije aranžirane u grupe smanjene kohezije, pojedine ćelije su binuklearne (strelica, x200). b. Binuklearna ćelija (x 1000).

U tabeli 22. prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih *citoloških nalaza* dobijenih UZ vodjenom ATI LČ stražara u odnosu na prisustvo *ulceracija u primarnom melanomu*.

**Tabela 22.**

Citološki nalaz		Ulceracija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Negativan	n	17	36	53
	%	32,1	67,9	100,0
Pozitivan	n	6	1	7
	%	85,7	14,3	100,0
Ukupno	n	23	37	60
	%	38,3	61,7	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 5,42; p = 0,02$		

Primenom  $\chi^2$  testa registrovana je statistički značajna povezanost pozitivnih citoloških nalaza u LČ stražaru i prisustva ulceracija u primarnom melanomu  $p=0,02$ .

U tabeli 23 prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih *citoloških nalaza* dobijenih UZ vodjenom ATI LČ stražara u odnosu na prisustvo *regresije u primarnom melanomu*.

**Tabela 23.**

Citološki nalaz		Regresija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Negativan	n	5	48	53
	%	9,4	90,6	100,0
Pozitivan	n	2	5	7
	%	28,6	71,4	100,0
Ukupno	n	7	53	60
	%	11,7	88,3	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 0,73; p = 0,39$		

Primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna povezanost citoloških nalaza LČ stražaru u odnosu na prisustvo regresije u primarnom melanomu.

U tabeli 24. prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih *citoloških nalaza* dobijenih UZ vodjenom ATI LČ stražara u odnosu na prisustvo *limfovaskularne invazije kod primarnog melanoma*.

**Tabela 24.**

Citološki nalaz		Limfovaskularna invazija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Negativan	n	2	51	53
	%	3,8	96,2	100,0
Pozitivan	n	3	4	7
	%	42,9	57,1	100,0
Ukupno	n	5	55	60
	%	8,3	91,7	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 7,77; p = 0,005$		

Primenom  $\chi^2$  testa registrovana je umereno statistički značajna povezanost pozitivnih citoloških nalaza u LČ stražaru i prisustva limfovaskularne invazije kod primarnog melanoma.

U tabeli 25. prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih *citoloških nalaza* dobijenih UZ vodjenom ATI LČ stražara u odnosu na prisustvo *limfocitne infiltracije kod primarnog melanoma*.

**Tabela 25.**

Citološki nalaz		Limfocitna infiltracija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Negativan	n	28	25	53
	%	52,8	47,2	100,0
Pozitivan	n	3	4	7
	%	42,9	57,1	100,0
Ukupno	n	31	29	60
	%	51,7	48,3	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 0,01; p = 0,92$		

Primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna povezanost citoloških nalaza u LČ stražaru i prisustva limfocitne infiltracije kod primarnog melanoma.

U tabeli 26 prikazana je *senzitivnost, specifičnost i tačnost* ultrazvučno vodjene aspiracije tankom iglom (ATI) kod svih ispitanika.

**Tabela 26.**

Citologija	PH		Ukupno
	Prisutna	Odsutna	
Pozitivna	(SP) 7	(LP) 0	7
Negativna	(LN) 7	(SN) 46	53
Ukupno	14	46	60

(SP) STVARNO POZITIVNA, (LP) LAŽNO POZITIVNA, (LN) LAŽNO NEGATIVNA, (SN) STVARNO NEGATIVNA

Senzitivnost =  $SP/(SP+LN) = 7/14 = 0,50$  (50,0%).

Specifičnost =  $SN/(SN+LP) = 46/46 = 1,00$  (100,0%).

Tačnost =  $(SP + SN)/\text{Ukupan broj} = (7 + 46)/60 = 0,88$  (88,0%).

U tabeli 27. prikazana je *senzitivnost, specifičnost i tačnost* ultrazvučno vodjene aspiracije tankom iglom (ATI) kod ispitanika *prve grupe*.

**Tabela 27.**

Citologija	PH		Ukupno
	Prisutna	Odsutna	
Pozitivna	(SP) 0	(LP) 0	0
Negativna	(LN) 2	(SN) 18	20
Ukupno	2	18	20

(SP) STVARNO POZITIVNA, (LP) LAŽNO POZITIVNA, (LN) LAŽNO NEGATIVNA, (SN) STVARNO NEGATIVNA

Senzitivnost =  $SP/(SP+LN) = 0/2 =$  ne može

Specifičnost =  $SN/(SN+LP) = 18/18 = 1,00$  (100,0%)

Tačnost =  $(SP + SN)/\text{Ukupan broj} = (0 + 18)/20 = 0,90$  (90,0%)

U tabeli 28 prikazana je *senzitivnost, specifičnost i tačnost* ultrazvučno vodjene aspiracije tankom iglom (ATI) kod ispitanika *druge grupe*.

**Tabela 28.**

Citologija	PH		Ukupno
	Prisutna	Odsutna	
Pozitivna	(SP) 1	(LP) 0	1
Negativna	(LN) 2	(SN) 17	19
Ukupno	3	17	20

(SP) STVARNO POZITIVNA, (LP) LAŽNO POZITIVNA, (LN) LAŽNO NEGATIVNA, (SN) STVARNO NEGATIVNA

Senzitivnost =  $SP/(SP+LN) = 1/3 = 0,33$  (33,0%)

Specifičnost =  $SN/(SN+LP) = 17/17 = 1,00$  (100,0%)

Tačnost =  $(SP + SN)/\text{Ukupan broj} = (1 + 17)/20 = 0,90$  (90,0%)

U tabeli 29 prikazana je *senzitivnost, specifičnost i tačnost* ultrazvučno vodjene aspiracije tankom iglom (ATI) kod ispitanika *treće grupe*.

**Tabela 29.**

Citologija	PH		Ukupno
	Prisutna	Odsutna	
Pozitivna	(SP) 6	(LP) 0	6
Negativna	(LN) 3	(SN) 11	14
Ukupno	9	11	20

(SP) STVARNO POZITIVNA, (LP) LAŽNO POZITIVNA, (LN) LAŽNO NEGATIVNA, (SN) STVARNO NEGATIVNA

$$\text{Senzitivnost} = \text{SP}/(\text{SP}+\text{LN}) = 6/9 = 0,66 \text{ (66,0\%)}$$

$$\text{Specifičnost} = \text{SN}/(\text{SN}+\text{LP}) = 11/11 = 1,00 \text{ (100,0\%)}$$

$$\text{Tačnost} = (\text{SP} + \text{SN})/\text{Ukupan broj} = (6 + 11)/20 = 0,85 \text{ (85,0\%)}$$

U tabeli 30. prikazana je učestalost negativnih i pozitivnih *PH nalaza* dobijenih *BLČS* stražara u odnosu na grupe ispitanika.

**Tabela 30.**

PH nalaz		Grupe ispitanika			Ukupno
		Grupa 1	Grupa 2	Grupa 3	
Negativan	n	18	17	11	46
	%	39,1	37,0	23,9	100,0
Pozitivan	n	2	3	9	14
	%	14,3	21,4	64,3	100,0
Ukupno	n	20	20	20	60
	%	33,3	33,3	33,3	100,0
Poređernje distribucija		$\chi^2 = 8,01; p = 0,018$			

Od svih pacijenata sa pozitivnim PH nalazom LČ stražara u trećoj grupi je bilo 64,3%. Primenom  $\chi^2$  testa registrovana je statistički značajno veća prisutnost pozitivnih PH nalaza u bolesnika grupe 3,  $p = 0,018$ .

U tabeli 31 prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih *PH nalaza* dobijenih *BLČS* u odnosu na prisustvo *limfocitne infiltracije kod primarnog melanoma*.

**Tabela 31.**

PH nalaz		Limfocitna infiltracija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Negativan	n	24	22	46
	%	52,2	47,8	100,0
Pozitivan	n	7	7	14
	%	50,0	50,0	100,0
Ukupno	n	31	29	60
	%	51,7	48,3	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 0,00; p = 1,00$		

Primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna povezanost PH nalaza u LČ stražaru u odnosu na prisustvo limfocitne infiltracije kod primarnog melanoma.

U tabeli 32 prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih *PH nalaza* dobijenih *BLČS* u odnosu na **prisustvo ulceracija** u primarnom melanomu.

**Tabela 32.**

PH nalaz		Ulceracija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Negativan	n	15	31	46
	%	32,6	67,4	100,0
Pozitivan	n	8	6	14
	%	57,1	42,9	100,0
Ukupno	n	23	37	60
	%	38,3	61,7	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 1,79; p = 0,18$		

Uprkos većeg procenta bolesnika sa ulceracijama kod kojih je registrovan pozitivan PH nalaz u LČ stražaru, primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna razlika između grupa pozitivnih i negativnih PH nalaza.

U tabeli 33 prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih *PH nalaza* dobijenih *BLČS* u odnosu na prisustvo *regresije* u primarnom melanomu.

**Tabela 33.**

PH nalaz		Regresija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Negativan	n	3	43	46
	%	6,5	93,5	100,0
Pozitivan	n	4	10	14
	%	28,6	71,4	100,0
Ukupno	n	7	53	60
	%	11,7	88,3	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 3,15; p = 0,076$		

Primenom  $\chi^2$  testa nije registrovana statistički značajna povezanost PH nalaza u LČ stražaru i pojave regresije u primarnom melanomu (otkrivena je samo „granična” značajnost;  $p = 0,076$ ).

U tabeli 34 prikazana je distribucija negativnih i pozitivnih PH nalaza dobijenih BLČS u odnosu na prisustvo limfovaskularne invazije kod primarnog melanoma.

**Tabela 34.**

PH nalaz		Limfovaskularna invazija		Ukupno
		Prisutna	Odsutna	
Negativan	n	1	45	46
	%	2,2	97,8	100,0
Pozitivan	n	4	10	14
	%	28,6	71,4	100,0
Ukupno	n	5	55	60
	%	8,3	91,7	100,0
Poredjenje distribucija		$\chi^2 = 6,64; p = 0,01$		

Primenom  $\chi^2$  testa. potvrđena je umereno statistički značajna povezanost pozitivnih PH nalaza u LČ stražaru i prisustva limfovaskularne invazije kod primarnog melanoma

U tabeli 35 prikazan je odnos između metoda BLČS i UZ vodjene ATI.

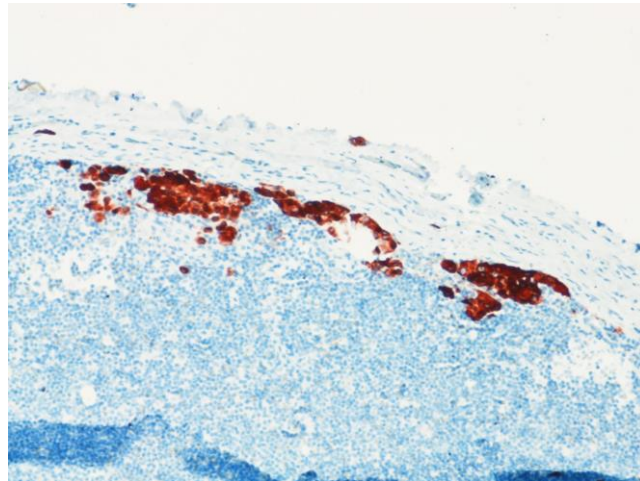
**Tabela 35.**

Parametri	Procedura	Ispitanici			
		Svi (n=60)	Grupa 1 (n=20)	Grupa 2 (n=20)	Grupa 3 (n=20)
<b>Senzitivnost</b>	BLČS	1,0	1,0	1,0	1,0
	UZvodjena ATI	0,50	-	0,33	0,66
Poredjenje (t-test proporcija)		$z = 6,11$ $p < 0,001$	-	$z = 4,15$ $p < 0,001$	$z = 2,44$ $p = 0,015$
<b>Specifičnost</b>	BLČS	1,0	1,0	1,0	1,0
	UZ vodjena ATI	1,0	1,0	1,0	1,0
Poredjenje (t-test proporcija)		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<b>Tačnost</b>	BLČS	1,0	1,0	1,0	1,0
	UZ vodjena ATI	0,88	0,90	0,90	0,85
Poredjenje (t-test proporcija)		$z = 2,38$ $p = 0,017$	$z = 0,72$ n.s.	$z = 0,72$ n.s.	$z = 1,20$ n.s.

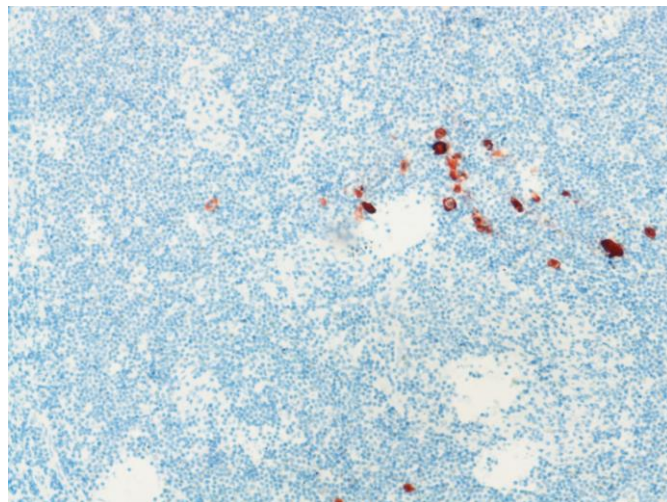


U tabeli 35 prikazano je da postoji statistički značajna razlika u senzitivnosti između BLČS i UZ vodjene ATI kod svih ispitanika i ispitanika po grupama. Nema statističke značajnosti u specifičnosti između ove dve metode. Postoji statistička značajnost  $p = 0,017$  u tačnosti kod svih ispitanika, dok kod ispitanika po grupama nema statističke značajnosti u tačnosti između metoda BLČS i UZ vodjene ATI.

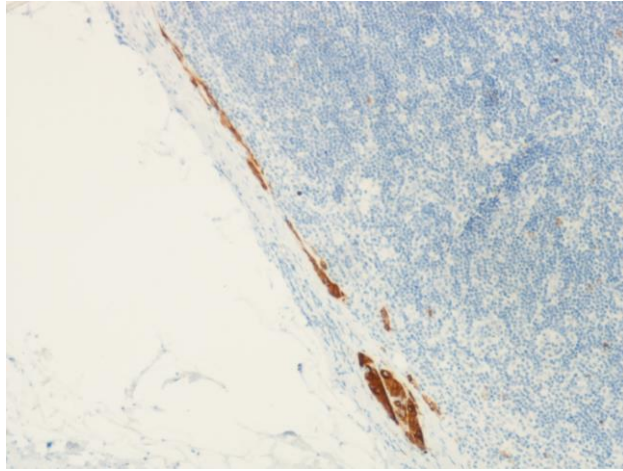
Slike 53-55 prikazuju najčešće PH nalaze mikrometastaza u LČ stražarima.



**Slika 53.** Kapsularna, subkapsularna mikrometastaza u LČ stražaru



**Slika 54.** Medularne metastaze u LČ stražaru



**Slika 55.** Subkapsularne metastaze u LČ stražaru

## 6. DISKUSIJA

U bolesnika sa melanomom, jedan od važnih prognostičkih faktora, pored debljine tumora po Breslow-u i ulceracije primarnog tumora, je i rano otkrivanje metastatske bolesti. Standardna dijagnostička procedura određivanja nodalnog statusa u bolesnika sa melanomom je biopsija limfnog čvorova stražara i patohistološka dijagnostika.

Sa hirurškog aspekta uvek treba dati prednost metodi koja je bezbednija za pacijenta, sa manje komplikacije kod njenog izvodjenja, koja je jednostavnija za izvodjenje i ekonomski isplativija. Ove karakteristike ima ATI, kao minimalno invazivna tehnika za dobijanje materijala, koja je u rutinskoj kliničkoj upotrebi u proceni lezija u različitim tkivima i organima, osobito u dojci, štitastoj žlezdi, plućima i limfnim čvorovima. Zbog toga je jedan od ciljeva našeg ispitivanja upravo određivanje senzitivnosti, specifičnosti i tačnosti metode UZ vodjene aspiracije tankom iglom LČ stražara u bolesnika sa melanomom. Metodu UZ vodjene ATI igle ne analiziramo da bismo njome zamenili metodu BLČS. Prisustvo mikrometastaza u LČS dobijenih pomoću UZ vodjene ATI će smanjiti broj BLČS, koja je preciznija ali i komplikovanija metoda.

Senzitivnost metode ultrazvučno vodjene aspiracije tankom iglom u našoj studiji za sve ispitanike je 50% i kreće se po grupama: prva grupa 0%, druga grupa 33,3% i treća grupa 66,6%.

Specifičnost metode ultrazvučno vodjene aspiracije tankom iglom za sve ispitanike i ispitanike po grupama je 100%.

Tačnost ili predviđanje pozitivnog ishoda metode ultrazvučno vodjene aspiracije tankom iglom kod svih ispitanika je 88% i kreće se po grupama: prva grupa 90%, druga grupa 90% i treća grupa 85%.

Niska senzitivnost kod tankih i intermedijarnih melanoma je niska jer je i procenat mikrometastaza niži kod ove dve grupe. S tim u vezi mogućnost dobijanja mikrometastaza pomoću UZ vodjene ATI, koja je ipak delimično nasumična i manje precizna metoda od BLČS, je znatno manja u ove dve grupe melanoma.

Metoda je pokazala validnost samo kod kod tumora debljih od 4 mm, i u ovoj grupi pacijenata bi mogla da nađe svoju kliničku primenu. Očekivali smo da će senzitivnost ove metode biti približna senzitivnosti metode BLČS koja iznosi 93%-97,3% (15). Lens MB, et al su objavili prisustvo mikrometastaza u LČ stražaru 60%-70% kod melanoma debljih od 4 mm (45). Naše istraživanje na 60 ispitanika je pokazalo prisustvo mikrometastaza, kod melanoma debljih od 4 mm, u 45% ispitanika. Naš rezultat je potvrdio hipotezu vezanu za specifičnost i tačnost po ispitivanim grupama UZ vodjene ATI, ali nije potvrdio statistički značaj senzitivnosti metode (Tabela 35).

Najveća senzitivnost UZ vodjene ATI je dobijena u trećoj grupi ispitanika, što je bilo i očekivano, jer ovu grupu čine ispitanici sa debelim melanomom koji najčešće daje mikrometastaze u LČ stražaru. Od svih pacijenata sa pozitivnim citološkim nalazom LČ stražara, dobijenih UZ vodjenom ATI, u trećoj grupi je bilo 85,7%, i predstavlja umereno statistički značajnu razliku *između grupa* na nivou  $p < 0,01$ , (Tabela 21).

Od svih pacijenata sa pozitivnim PH nalazom LČ stražara, dobijenih BLČS, u trećoj grupi je bilo 64,3%, i takodje predstavlja umereno statistički značajnu razliku na nivou  $p < 0,01$  između grupa (Tabela 30).

Christiane Voit dermatolog iz Nemačke je najčešće citirani autor u vezi ultrazvučne dijagnostike i ultrazvučno vođene aspiracije tankom iglom LČ stražara. Formirala je četiri grupe LČ stražara prema berlinskim ultrazvučnim morfološkim kriterijumima i nazvala ih benigni, verovatno benigni, verovatno maligni i maligni, a potom učinila ATI i nalaze poredila sa standardnom biopsijom limfnog čvora stražara. Senzitivnost UZ vođene aspiracije tankom iglom, u njenom istraživanju, u prve dve grupe pacijenata bila je 56% , a u trećoj i četvrtoj 82% (46).

U našem istraživanju kod svakog pacijenta analiziran je samo jedan LČ stražar iz jednog regionalnog basena jer smo hteli da ispitamo uticaj: ulceracije, limfovaskularne invazije, limfocitne infiltracije i regresije kod primarnog melanoma na metodu UZ vođene ATI. Analizirali smo LČ regionalnih limfnih basena oštrijim kriterijumima od berlinskih ultrazvučnih morfoloških kriterijuma, koje je koristila Voitova ; gubitak centralnog ehoa LČ, oblik balona LČ, periferna vaskularizacija LČ. Na ove berlinske kriterijume smo dodali i indeks otpora LČ i arborizaciju LČ a analizirali smo samo ispitanike sa Ib i II stadijumom bolesti, koji odgovaraju

ispitanicima sa benignim, verovatno benignim LČ po Voitovoj. Nismo analizirali ispitanike sa verovatno malignim i malignim LČ (Voit). Naši rezultati mogu biti poređeni sa senzitivnošću metode Voit i sar. za I i II grupu pacijenata, koja je iznosila 56%, a u našoj studiji 50%.

U njenom radu objavljenom 2014 god. senzitivnost metode UZ vođene ATI kod melanoma debljih od 4 mm po Breslow-u je 76% (47,48). U našem istraživanju u trećoj grupi, kojoj su pripadali pacijenti sa melanom debljim od 4mm po Breslow-u, dobijena je senzitivnost od 66,6%.

Takodje smo u našem istraživanju pokazali da senzitivnost naše metode ne zavisi od pola ispitanika (Tabela 8,9) kao ni od površine LČ stražara. Zabeležena je najveća prosečna površina zahvaćenih limfnih čvorova stražara kod ispitanika u grupi intermedijarnih koja je iznosila 194,39 mm<sup>2</sup> i predstavlja statistički značajnu razliku na nivou  $p < 0,05$  u odnosu na druge grupe (Tabela 19). I pored toga broj pozitivnih citoloških nalaza i senzitivnost metode je bila najveća u grupi debelih melanoma (Tabela 20).

Kod pacijenata sa pozitivnim citološkim nalazima LČ stražara prosečna površina je bila 254,17mm<sup>2</sup> u odnosu na 109,6 mm<sup>2</sup> kod pacijenata čiji je citološki nalaz negativan što nije statistički značajna razlika. I ovo takođe ukazuje da površina LČ stražara ne utiče na senzitivnost metode (Tabela 20), međutim smatramo da se odnos između senzitivnosti UZ vođene ATI i površine LČ stražara mora proveriti na većem broju ispitanika.

Od svih ipitanika, 23 (38,3%) su imali ulceraciju primarnog melanoma. U 57,1% (od 23 ispitanika) LČ stražari su imali mikrometastaze (Tabela 32). Nije nadjena statistički značajna razlika između ulceracije primarnog melanoma i prisutnosti mikrometastaza u LČ stražarima dobijenih metodom BLČS u našem istraživanju. Ovo je najverovatnije posledica malog broja ispitanika (60) u našem istraživanju u odnosu na druge autore koji su istraživali na znatno većem uzorku ispitanika.

Na značaj prisustva ulceracije u primarnom melanomu, na postojanje mikrometastaza u LČ stražarima, ukazuju istraživanja drugih autora. U istraživanju Charles M. Balch, i saradnika iz 2001g koje je učinjeno retrospektivnom analizom 17 600 pacijenata dobijeno je da je ulceracija značajan faktor u predviđanju prisutnosti

mikrometastaza u LČ (49). Grande Sarpa i autori su 2006g sprovedli kohortnu studiju na 235 pacijenata i takodje dokazali značajnost ulceracije primarnog melanoma u metastaziranju u LČ. (50,51)

U našem istraživanju registrovana je statistički značajna povezanost pozitivnih citoloških nalaza u LČ stražaru, dobijenih UZ vodjenom ATI, i prisustva ulceracija u primarnom melanomu  $p= 0,02$ .(Tabela 22). Ovakav značajan uticaj ulceracije primarnog melanoma na analiziranu metodu UZ vodjene ATI možemo objasniti prisustvom velikog broja ispitanika sa pozitivnim citološkim nalazom u trećoj grupi, gde se nalazi i statistički značajno najveći broj pacijenata sa ulceracijom primarnog melanoma.(Tabela 13)

Christiane Voit je u radu iz 2014 god. prikazala da je senzitivnost UZ vodjene ATI 63% kod pacijenata sa ulceracijom primarnog melanoma (47), dok je u našoj studiji bila 85%. Ovakva razlika u senzitivnostima je verovatno posledica u distribuciji ispitanika koji su imali ulceraciju primarnog melanom i mikrometastaze u LČS, koji su dobijeni UZ vodjenom ATI. U studiji C. Voit. koja je radila na mnogo većem uzorku distribucija ovih ispitanika bila je različita u odnosu na našu studiju.

Limfovaskularna invazija (LVI) primarnog melanoma bila je prisutna kod samo pet ispitanika čija se distribucija po grupama kretala od 5%-10% te nije postojala statistička značajnost izmedju grupa (Tabela 16). Od ukupno pet ispitanika (8,3%) koji su imali prisutnu LVI primarnog melanoma u 28,6% slučajeva je bio pozitivan PH nalaz dobijen BLČS (Tabela 34). Ovaj rezultat ima statističku značajnost na nivou  $p<0,01$  i ukazuje na to da postoji povezanost izmedju LVI i prisutnosti mikrometastaza u LČ stražarima.

Slične rezultate dobili su i Michaele Egge i saradnici u svom radu iz 2011god, gde su 171 (7,8%) pacijenata od 2183 analiziranih imali LVI. Statistička značajnost je bila na nivou  $p< 0.05$  i takodje je pokazivala uticaj LVI na prisutnost mikrometastaza u LČ stražaru. (52, 53, 54) U 42,9% ispitanika u našoj studiji je bio pozitivan ph citološki nalaz LČ stražara dobijenih metodom UZ vodjenom ATI a imali su prisutnu LVI primarnog melanoma (Tabela 24). Ovaj rezultat ima statističku značajnost na nivou  $p<0,005$  te ukazuje da analizirani metod UZ vodjene ATI ima preciznije rezultate kod pacijenata koji imaju LVI primarnog melanoma u odnosu na one kod kojih nema LVI u primarnom melanomu. Nalaz LVI u primarnom melanomu se

može smatrati značajnim u predviđanju prisustva mikrometastaza. U literaturi nismo uspeli pronaći slične podatke sa kojima bi mogli porediti ove naše rezultate.

Ukupno smo imali 7 (11,7%) pacijenata sa regresijom primarnog melanoma koji su približno jednako raspoređeni u svim analiziranim grupama (Tabela 14). Nismo imali statističku značajnost između pozitivnih LČ stražara, bilo da smo rezultate dobili BLČS ili UZ vodjenom ATI, i prisutne regresije kod primarnih melanoma. Slične rezultate imaju i Kaur,C<sub>2</sub> i autori u objavljenom radu iz 2008g gde su analizirali 1146 obolelih od melanoma, koji čak navode da je regresija povoljna pojava za obolele od melanoma.(55) Y. Socrieri i autori su objavili rad 2009g u kojem su analizirali 397 pacijenata obolelih od melanoma i dobili rezultate koji ukazuju da je regresija kod primarnog melanoma značajan pokazatelj za progresiju bolesti u LČ samo kod melanoma tanjih od 1mm. (56, 57)

Sa limfocitnom infiltracijom primarnog melanoma smo ukupno imali 31 (51,7%) ispitanika. Ukupno smo zbrojili pacijente sa brisk i non brisk limfocitnom infiltracijom. Nismo imali statističku značajnost između pozitivnih LČ stražara i prisutne limfocitne infiltracije kod primarnih melanoma, bilo da smo rezultate dobili BLČS ili UZ vodjenom ATI (Tabela 25,31). Smatra se da limfocitna infiltracija sprečava metastaziranje u LČ stražare. (12,13) U radu Alison L Burton i saradnika iz 2011g pokazano je, nakon analize 515 pacijenata, da limfocitna infiltracija predstavlja nezavisan prognostički faktor metastaziranja u LČ stražare. (58) Mnogobrojna istraživanja su pokazala da nije samo bitna prisutnost limfocitne infiltracije kod primarnog melanoma, već da je bitna i vrsta limfocita koja tu infiltraciju čine. Zbog ovoga postoje oprečna mišljenja u literaturi o korisnosti limfocitne infiltracije u sprečavanju nastanka mikrometastaza u LČ stražarima. (59)

## 7. ZAKLJUČCI

1. Naše istraživanje je pokazalo da senzitivnost metode UZ vodjene ATI iznosi 66,6% u grupi ispitanika sa debelim melanomom.
2. Postoji statistički značajna razlika, između metode UZ vodjene ATI u grupi ispitanika sa debelim melanomom i ostalih grupa.
3. Senzitivnost metode UZ vodjene ATI ne zavisi od veličine LČ stražara.
4. U našem istraživanju registrovana je statistički značajna povezanost pozitivnih citoloških nalaza u LČ stražaru, dobijenih UZ vodjenom ATI, i prisustva ulceracija u primarnom melanomu.
5. Prisutna limfovaskularna invazija (LVI) primarnog melanoma i pozitivan PH nalaz dobijen BLČS su statistički značajno povezani, ukazujući da, postoji velika verovatnoća prisustva mikrometastaza u LČ stražaru ukoliko je prisutna LVI u primarnom melanomu.
6. Pozitivan citološki nalaz LČ stražara dobijenih metodom UZ vodjenom ATI i LVI kod primarnog melanoma statistički značajno ukazuje da UZ vodjena ATI ima preciznije rezultate kod pacijenata koji imaju LVI primarnog melanoma.
7. Nalaz LVI u primarnom melanomu se može smatrati bitnim u predviđanju prisustva mikrometastaza.
8. Limfocitna infiltracija i regresija kod primarnog melanoma nemaju statističku značajnost na detekciju mikrometaza primenom metode UZ vodjene ATI.
9. Obzirom da je naše istraživanje delimično potvrdilo hipotezu mišljenja smo da se metoda UZ vodjene ATI treba uvesti u rutinsku kliničku praksu kod melanoma debljih od 4mm u pacijenata čiji su LČ stražari klinički i UZ benigni zbog: lakšeg izvodjenja, manjeg broja komplikacija i višestruko niže cene ove metode.




## 8. Reference

1. A.Jemal,R.Siegel, J.Xu, and E. Ward, "Cancer statistics,2010", CA Cancer Journal for Clinicians, 60, no.5 pp. 277-300,2010.
2. Novaković M. Babović N. i saradnici.Melanom kože;prevencija,dijagnostika I lečenje.Akademija medicinskih nauka Srpskog lekarskog društva.2014;p.5-6.
3. Dummer R, Hauschild A, Guggenheim M, Keilholz U, Pentheroudakis G. ESMO Guidelines Working Group. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2012; 23 (7):vii86-91.
4. Garbe C, Peris K, Hauschild A, Saiag P, Middleton M, Spatz A, Grob JJ, Malvey J, Newton-Bishop J, Stratigos A, Pehamberger H, Eggermont AM.European Dermatology Forum; European Association of Dermato-Oncology; European Organization of Research and Treatment of Cancer. Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline Update 2012. Eur J Cancer 2012; 48(15):2375-90.26.
5. Pflugfelder A, Kochs C, Blum A, Capellaro M, Czeschik C, Dettenborn T, Dill Det al. S3-guideline „diagnosis, therapy and follow-up of melanoma“ short version. J Dtsch Dermatol Ges. 2013; 11(6):563-602.
6. NCCN Clinical Practice guidelines in oncology v2.2014. Available at: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/melanoma.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/melanoma.pdf)
7. Clinical Practice Guidelines for the Management of Melanoma in Australia and New Zealand 2010. Availa at: [www. publications /\\_files\\_nhmrc//attachments/cp111.pdf](http://www.publications/_files_nhmrc/attachments/cp111.pdf)
8. Kelemen PR, Essner R, Foshag LJ, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy after wide local excision of primary melanoma. J Am Coll Surg. 1999 Sep;189(3):247-52.
9. Leung AM, Hari DM, Morton DL. Surgery for distant melanoma metastasis. Cancer J. 2012; 18(2):176-84
10. Schlagenhauff B, Ellwanger U, Breuninger H, Stroebel W, Rassner G, Garbe C. Prognostic impact of the type of anaesthesia used during the excision of primary cutaneous melanoma. Melanoma Res 20050; 10(2):165-9.
11. Goran Šijan\*, Jefta Kozarski\*, Dara Stefanović, Mikica Lalković, Saša Milićević Goran Stanković. Validnost ultrazvučnog nalaza u identifikaciji metastatski izmenjenih regionalnih limfnih čvorova kod bolesnika sa melanomom kože. Vojnosanitetski pregled. 2010, vol. 67, br. 1, str. 25-31.
12. Ccolyer C, Ellis D, Heenan P et al. Primary cutaneous melanoma structured reporting protocol (1st edition 2010). Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA)
13. Ivan D, Prieto VG. An update on reporting histopathologic prognostic factors in melanoma. Arch Pathol Lab Med. 2011; 135:825-9.
14. Voit CA, Schäfer-Hesterberg G, Kron M, van Akkooi AC, RademakeJ, Lukowsky A,Schoengen A, Schwürzer-Voit M, Sterry W, Krause M, Rówert-Huber J, Eggermont AM. Impact of molecular staging methods in primarymelanoma: reverse-

- transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) of ultrasound-guided aspirate of the sentinel node does not improve diagnostic accuracy, but RT-PCR of peripheral blood does predict survival. *J Clin Oncol*. 2008 Dec 10;26(35):5742-7. Epub 2008 Nov 3.
15. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al: Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 27:6199-6206, 2009
  16. Gillgren P, Drzewiecki KT, Niin M, Gullestad HP, Hellborg H, Månsson- Brahme E, Ingvar C, Ringborg U. 2-cm versus 4-cm surgical excision margins for primary cutaneous melanoma thicker than 2 mm: a randomised, multicentre trial. *Lancet*. 2011; 378(9803): 1635-42.
  17. Hilari H, Llorca D, Traves V, Villanueva A, Serra-Guillén C, Requena C, Llombart B, Sanmartín O, Guillén C, Nagore E. Conventional surgery compared with slow Mohs micrographic surgery in the treatment of lentigo maligna: a retrospective study of 62 cases. *Actas Dermosifiliogr*. 2012 Sep;103(7):614-23.
  18. Cohen T, Busam KJ, Patel A, Brady MS. Subungual melanoma: management considerations. *Am J Surg* 2008; 195 (2): 244–8.
  19. Parrett BM, Accortt NA, Li R, Dosanjh AS, Thummala S, Kullar R, Cleaver JE, Kashani-Sabet M, Leong SP. The effect of delay time between primary melanoma biopsy and sentinel lymph node dissection on sentinel node status, recurrence, and survival. *Melanoma Res*. 2012 Oct; 22(5):386-91.
  20. Lent WM, Ariyan S. Flap reconstruction following wide local excision for primary malignant melanoma of the head and neck region. *Ann Plast Surg*. 1994 Jul;33(1):23-7.
  21. Buck D 2nd, Rawlani V, Wayne J, Dumanian GA, Mustoe TA, Fine NA, Galiano R, Kim JY. Cosmetic outcomes following head and neck melanoma reconstruction: The patient's perspective. *Can J Plast Surg*. 2012 Spring;20(1):e10-5.
  22. Clary BM, Mann B, Brady MS, Lewis JJ, Coit DG. Early recurrence after lymphatic mapping and sentinel node biopsy in patients with primary extremity melanoma: a comparison with elective lymph node dissection. *Ann Surg Oncol* 2001; 8:328-37.
  23. Patuzzo R, Maurichi A, Camerini T, Gallino G, Ruggeri R, Baffa G, Mattavelli I, Tinti MC, Crippa F, Moglia D, Tolomio E, Maccauro M, Santinami M. Accuracy and prognostic value of sentinel lymph node biopsy in head and neck melanomas. *J Surg Res*. 2013 Oct 23.
  24. Kienstra MA, Padhy TA. Head and Neck Melanoma. *Cancer Control*. 2005; 12:242247.
  25. Tschammler A, Wirkner H, Ott G, Hahn D. Vascular patterns in reactive and malignant lymphadenopathy. *Eur Radiol* 1996; 6(4):473-80.
  26. Cafiero F, Peressini A, Gipponi M, Rainero MI, Villa G, Sertoli MR et al: Sentinel Node Biopsy in Patients with cutaneous melanoma. *Semin Surg Oncol* 1998; 15:284-286.
  27. Glass FL, Cottam JA, Reintgen DS, Fenske NA. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the management of high-risk melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:603-10.

28. Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield P, Lee JE, Colome MI, Tseng C et al. Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 612 stage I or II melanoma patients. *J Clin Oncol* 1999; 17:976-983.
29. Karakousis CP. Therapeutic node dissections in malignant melanoma. *Semin Surg Oncol* 1998; 14:291-301
30. William G. Stebbins G:\Application Data\Microsoft\FNA\SLNB AND MELANOMA 2010.htm - cor1#cor1, Lilit Garibyan, Arthur J. Sober. Sentinel lymph node biopsy and melanoma: 2010 update G:\Application Data\Microsoft\FNA\SLNB AND MELANOMA 2010.htm - foot1#foot1 G:\Application Data\Microsoft\FNA\SLNB AND MELANOMA 2010.htm - foot1#foot1 G:\Application Data\Microsoft\FNA\SLNB AND MELANOMA 2010.htm - foot1#foot1: Part I. *Journal of the American Academy of Dermatology* Volume 62, Issue 5, May 2010, Pages 723-734.
31. D.L. Morton, J.F. Thomson, R. Essner et al., "Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma : a multicenter trial", *Annals of Surgery* , vol. 230, no. 4, pp. 453-465, 1999.
32. Alexander Bogdanov-Berezovsky, Vasileios A. Pagkalos, Eldad Silberstein, Yaron Shoham, Arsinoi A. Xanthinaki, and Yuval Krieger Increasing the Efficacy of SLNB in Cases of Malignant Melanoma Located in Close Proximity to the Lymphatic Basin. *ISRN Dermatology*. Volume 2014 (2014), Article ID 920349, 4 pages.
33. N. Wasserberg, H. Tulchinsky, J. Schachter, M. Feinmesser Sentinel-lymph-node biopsy (SLNB) for melanoma is not complication-free. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)* Volume 30, Issue 8, October 2004, Pages 851–856
34. 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. *J Clin Oncol* 2012; 30 (23):2912-8.
35. Chakera AH, Hesse B, Burak Z, Ballinger JR, Britten A, Caracò C, et al. European Association of Nuclear Medicine-European Organisation for Research and. EANM-EORTC general recommendations for sentinel node diagnostics in melanoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 36(10): 1713-42.
36. Reintgen D, Pendas S, Jakub J, Swor G, Giuliano R, Bauer J, Cassall R, Duhaime L, Alsarrai M, Shivers S. National trials involving lymphatic mapping for melanoma: the Multicenter Selective lymphadenectomy Trial, the Sunbelt Melanoma Trial, and the Florida Melanoma Trial. *Semin Oncol*. 2004 Jun;31(3):363-73.
37. Rajovic M, Jaukovic Lj, Kandolf-Sekulovic L, Sijan G, Zolotarevski L, Novakovic M. Sentinel lymph node status –clinicopathological and prognostic associations – initial experience from the single center. 6th Meeting of Interdisciplinary Melanoma Skin Cancer Centers. Barcelona, 2012; P65.
38. Rajovic M, Jaukovic L, Kandolf-Sekulovic, Zolotarevski L, Sijan G, Novakovic M. Sentinel lymph node tumor burden and its correlation to clinicopathologic characteristics of primary melanoma and finding of non-sentinel lymph node in completelymph node dissection. *J Deutsch Dermatol Ges* 2013; 11 (Supp 7).

39. Testori A, Rastrelli M, De Fiori E, Soteldo J, Della Vigna P, Trifirò G, Mazzarol G, Travaini LL, Verrecchia F, Ratto EL, Bellomi M. Radio-guided ultrasound lymph node localization: feasibility of a new technique for localizing and excising nonpalpable lymph nodes ultrasound suspicious for melanoma metastases. *Melanoma Res.* 2010 Jun;20(3):197-202
40. Voit C, Van Akkooi AC, Schäfer-Hesterberg G, Schoengen A, Kowalczyk K, Roewert. Ultrasound morphology criteria predict metastatic disease of the sentinel nodes in patients with melanoma. *J Clin Oncol.* 2010 Feb 10;28(5):847-52. Epub 2010 Jan 11.
41. Rajmohan Murali, John F Thompson, Roger F Uren, Richard A Scolyer. Fine needle biopsy of metastatic melanoma: clinical use and new applications *The Lancet Oncology* Volume 11, Issue 4, April 2010, Pages 391-400.
42. Voit CA, van Akkooi AC, Schäfer-Hesterberg G, Schoengen A, Schmitz PI, Sterry W, Eggermont AM. Rotterdam Criteria for sentinel node (SN) tumor burden and the accuracy of ultrasound (US)-guided fine-needle aspiration cytology (FNAC): can US-guided FNAC replace SN staging in patients with melanoma. *J Clin Oncol.* 2009 Oct 20;27(30):4994-5000. Epub 2009 Sep 8.
43. Doubrovsky A, Scolyer A.R., Murali R. et al. Diagnostic Accuracy of Fine Needle Biopsy for Metastatic Melanoma and Its implications for Patient Management. *Annals of Surgical Oncology* 15, 323-332, November 8. 2007.
44. Sanki A, Uren RF, Moncrieff M, Tran KL, Scolyer RA, Lin HY, Thompson JF. Targeted high-resolution ultrasound is not an effective substitute for sentinel lymph node biopsy in patients with primary cutaneous melanoma. *J Clin Oncol.* 2009 Nov 20;27(33): 5614-9. Epub 2009 Sep 28.
45. Lens MB, Dawes M, Newton-Bishop JA, Goodacre T. Tumour thickness as a predictor of occult lymph node metastases in patients with stage I and II melanoma undergoing sentinel lymph node biopsy. *Br J Surg.* 2002 Oct;89(10):1223-7.
46. Christiane Voit, MD, Martina Kron, PhD, Gregor Schäfer, MD, Alfred Schoengen, MD Heike Audring, Ansgar Lukowsky Markus Schwurzer-Voit, MD, Wolfram Sterry, MD Helmut Winter, MD, and Jurgen Rademaker, MD Ultrasound-guided Fine Needle Aspiration Cytology prior to Sentinel Lymph Node Biopsy in Melanoma Patients *Ann. Surg. Oncol.* Vol. 13, No. 12, 2006
47. Christiane A. Voit,  Saskia L.M. Gooskens, Petra Siege, Gregor Schäfer, Alfred Schoengen, Joachim Röwert, Alexander C.J. van Akkooi, Alexander M.M. Eggermont. Ultrasound-guided fine needle aspiration cytology as an addendum to sentinel lymph node biopsy can perfect the staging strategy in melanoma patients. Received: March 27, 2014; Received in revised form: May 28, 2014; Accepted: May 28, 2014; Published Online: July 03, 2014 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2014.05.027>.
48. Lam TK, Uren RF, Scolyer RA, Quinn MJ, Shannon KF, Thompson JF. False-negative sentinel node biopsy because of obstruction of lymphatics by metastatic melanoma: the value of ultrasound in conjunction with preoperative lymphoscintigraphy. *Melanoma Res.* 2010 Aug;20(4):357-9.
49. Charles M. Balch, Seng-Jaw Soong, Jeffrey E. Gershenwald John F. Thompson, et al. Prognostic Factors Analysis of 17,600 Melanoma Patients: Validation of the

American Joint Committee on Cancer Melanoma Staging System. *Journal of Clinical Oncology*

50. Grande Sarpa, Hege MD\*; Reinke, Kara MD\*; Shaikh, Ladan MD et-all. Prognostic Significance of Extent of Ulceration in Primary Cutaneous Melanoma.. *The American Journal of Surgical Pathology*. November 2006 - Volume 30 - Issue 11 - pp 1396-1400.
51. Torsten Hinz,Hojjat Ahmadzadehfar, Anja Wierzbicki, Tobias Hoeller et.all. Sentinel lymph node status as most important prognostic factor in patients with high-risk cutaneous melanomas (tumour thickness >4.00 mm): outcome analysis from a single institution. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* .August 2012, Volume 39, Issue 8, pp 1316-1325 .
52. EGGER, MICHAEL E.1GILBERT, JULIANNA E.2BURTON, ALISON L.2 McMASTERS, KELLY M..et all. Lymphovascular Invasion as a Prognostic Factor in Melanoma. *American Surgeon*. Aug 2011, Vol. 77 Issue 8, p992-997. 6p.
53. Doeden K, Ma Z, Narasimhan B, Swetter AM, Detmar M, Dadras SS. Lymphatic invasion in cutaneous melanoma is associated with sentinel lymph node metastasis. *J Cutan Pathol* 2009; 36: 772–780.
54. Firouzeh Niakosari, MD; Harriette J. Kahn, MD; David McCready, MD; Danny Ghazarian, MD; Lorne E. Rotstein, MD; Alexander Marks, MD; Alexander Kiss, PhD; Lynn From, MD . Lymphatic Invasion Identified by Monoclonal Antibody D2-40, Younger Age, and Ulceration Predictors of Sentinel Lymph Node Involvement in Primary Cutaneous Melanoma FREE . *Arch Dermatol*. 2008;144(4):462-467.
55. Kaur, C.1Thomas, R. J.1Desai, N.2Green, M. A,et all The correlation of regression in primary melanoma with sentinel lymph node status.. *Journal of Clinical Pathology*. Mar2008, Vol. 61 Issue 3, p297-300. 4p.
56. Y. Socrier,\*V. Lauwers-Cances,\*L. Lamant,\*§ I. Garrido,et all. Histological regression in primary melanoma: not a predictor of sentinel lymph node metastasis in a cohort of 397 patients *Br J Dermatol*. 2010 Apr;162(4):830-4.
57. Ribero, S.1,2 Osella-Abate, S.1Sanlorenzo, M.1Savoia, P.,et all. Favourable prognostic role of regression of primary melanoma in AJCC stage I-II patients. *British Journal of Dermatology*. Dec2013, Vol. 169 Issue 6, p1240-1245. 6p.
58. BURTON, ALISON L.1ROACH, BRENT A.1MAYS, MICHAEL P.1CHEN, ANDREA F et all.. Prognostic Significance of Tumor Infiltrating Lymphocytes in Melanoma. *The American Surgeon*, Volume 77, Number 2, February 2011, pp. 188-192(5)
59. Gacevic M, Jovic M, Zolotarevska L, Stanojevic I, Novakovic M, Miller K, Suljagic V, Mijuskovic Z, Vojvodic D. Associatio of vascular endothelial growth factor expression with pathological parameters of cutaneous melaoma.Vojnosanit Pregl. In press 2014.