

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Franjo Rudman

**Odnos debljine melanoma i debljine
kože kao prognostički pokazatelj
metastaza u sentinel limfnom čvoru**

DISERTACIJA

Zagreb, svibanj 2010.

Disertacija je izrađena na Klinici za plastičnu, rekonstrukcijsku i estetsku kirurgiju, te Odjelu za patologiju Kliničke bolnice "Dubrava" u Zagrebu

Voditelj rada: doc. dr. sc. Sanda Stanec

Zahvale

Doc. dr. sc. Sandi Stanec, mentorici, hvala na pomoći i strpljenju u svakom trenutku.

Prof. dr. sc. Šimunu Križancu, hvala na nesebičnoj i sveobuhvatnoj pomoći pri izradi disertacije kao i na ustupanju mikroskopskih fotografija.

Dr. Smiljki Lambaši zahvala na iznimnoj pomoći i strpljenju prilikom sakupljanja i obrade podataka.

Dr. sc. Mariu Kopljaru zahvala za pomoć pri statističkoj obradi podataka i savjetima.

Prof. dr. sc. Leonardu Patrju hvala na nesebičnoj pomoći pri realizaciji disertacije.

Osoblju Klinike za plastičnu, rekonstrukcijsku i estetsku kirurgiju i Odjelu za patologiju Kliničke bolnice "Dubrava" hvala na razumjevanju i suradnji pri izradi ovoga rada.

Posebna zahvala prof. dr. sc. Zdenku Stanecu, mome učitelju, na neprestanoj motivaciji, ukaznom povjerenju, svesrdnoj pomoći i neprocjenjivim savjetima koje mi je tijekom godina dao.

Mojoj obitelji na beskrajnom strpljenju, izuzetnoj podršci i razumjevanju prilikom izrade ove disertacije.

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Anatomija kože	1
1.2. Povijest istraživanja melanoma	6
1.3. Etiologija melanoma.....	9
1.4. Incidencija i epidemiologija melanoma.....	12
1.5. Prevencija melanoma.....	13
1.6. Dijagnostika i liječenje melanoma	14
1.6.1. Klinička dijagnostika melanoma.....	14
1.6.2. Ekscizijska biopsija.....	15
1.6.3. Patohistološka dijagnostika melanoma.....	16
1.6.4. Klasifikacija melanoma i prognostički pokazatelji	23
1.6.5. Kirurško liječenje melanoma.....	34
1.6.6. Radioterapija melanoma.....	41
1.6.7. Adjuvantna terapija melanoma	42
1.7. Svrha disertacije	44
2. Hipoteza i cilj	46
2.1. Hipoteza.....	46
2.2. Cilj disertacije	46
3. Bolesnici i metode	47
4. Rezultati.....	55
5. Rasprava	75
6. Zaključci.....	93
7. Sažetak.....	94

8. Summary	96
9. Literatura	98
10. Životopis	112

Popis kratica

ACOSOG- American College of Surgeons Oncology Group

AJCC- American Joint Committee on Cancer

ALM- akralni lentiginozni melanom

CDK4- gen odgovoran za sklonost prema melanomu

CDKN2A- gen odgovoran za sklonost prema melanomu

cm- centimetar

DNK- deoksiribonukleinska kiselina

DK-debljina kože

DM-debljina melanoma

DM/DK- omjer debljine melanoma i debljine kože

F- female, žena

Gy- Gray, jedinica apsorpcije energije jednog Joula na kilogram materije

HE- hemalaun-eozin

HMB-45- melanomski antigen

IFN 2b -interferon alfa 2b

IL-2- interelukin -2

IU- međunarodne jedinice

JPEG- Joint Photographic Experts Group

kg-kilogram

LDH- laktat dehidrogenaza

LM- lentigo maligna

M- muškarci

Mart 1- melanomski antigen

MC1R- gen odgovoran za sklonost prema melanomu

mCi- mili Curie, jedinica zračenja

Melan-A- melanomski antigen

mL- mililitar

mm- milimetar

mm²- milimetar kvadratni

mm³- milimetar kubični

MSLT-1- Multicenter Sentinel Lymphadenectomy Trial-1

MSLT-2- Multicenter Sentinel Lymphadenectomy Trial-2

NKIC3- antigen miksoidnog melanoma

NM- nodularni melanom

nm- nanometar

PCR- lančana polimerazna reakcija

ROC- Receiver Operating Characteristic krivulja omjera lažno pozitivnih i stvarno pozitivnih rezultata

S-100- melanomski antigen

SD- standardna devijacija

SE- standardna greška

SV- srednja vrijednost

SSM- engl. superficial spreading melanoma, superficijalno (površinsko) šireći melanom

Tc99- Tehnecij 99

TNF- tumor necrosis factor, čimbenik nekroze tumora

UV- ultraljubičasto zračenje

UVA- ultraljubičasto zračenje A spektra

UVB- ultraljubičasto zračenje B spektra

UVC- ultraljubičasto zračenje C spektra

WHO- svjetska zdravstvena organizacija

Ž- žene

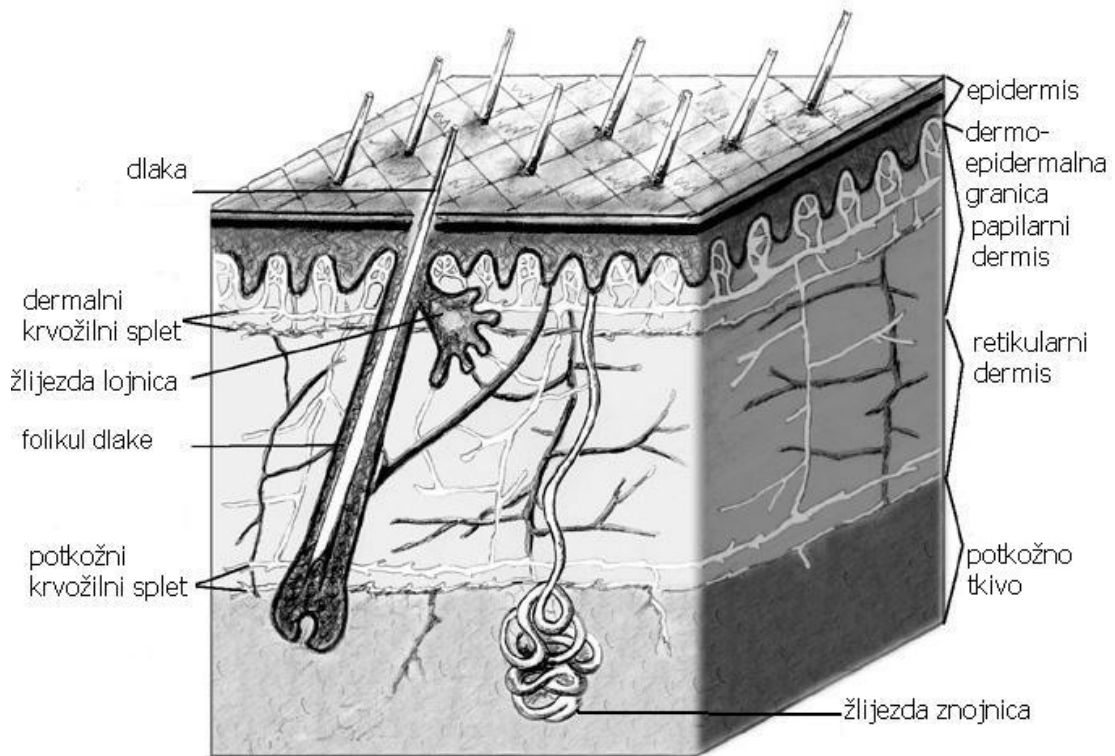
μg- mikrogram

1. Uvod

1.1. Anatomija kože

Koža je najveći čovjekov organ koji oblaže površinu cijelog tijela. Površine, kod odraslog je 1,2–2,3 kvadratna metra, težine oko 2 kilograma, a za debljinu se navode vrijednosti od 1,5 mm do 4 mm ovisno o lokalizaciji na tijelu i starosti [1, 2]. Uloge kože su višestruke. Oblažuci cijelo tijelo ima važnu protektivnu ulogu zaštite tkiva i organa od traume, ultraljubičastog zračenja (UV), promjena temperature, toksina i bakterija. Druge važne funkcije su sinteza vitamina D₃, percepcija osjeta, imunološka obrana, termoregulacija i kontrola gubitka tekućine [1-3].

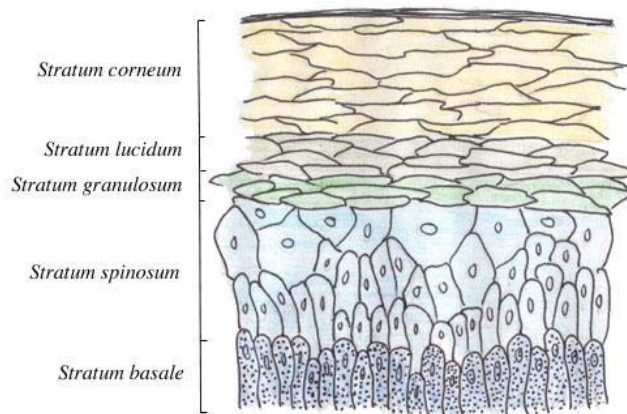
Dva sloja čine kožu, epidermis i dermis (slika 1, 2, 3) koji se nalaze na potkožnom masnom tkivu (tela subcutanea). Epidermis je nastao od površinskog ektoderma, melanocite podrijetla neuralnog grebena, Langerhansove stanice podrijetla koštane srži i Merkelove stanica, također, podrijetla neuralnog grebena. Dermis je podrijetla mezoderma, a sastoji se od kolagena, elastičnih vlakna, krvnih i limfnih žila, osjetnih završetaka i fibroblasta [3, 4].



Slika 1. Shematski prikaz građe kože

Epidermis ne sadrži krvne žile, potpuno je ovisan o dermisu za prehranu i opskrbu kisikom koja se odvija difuzijom kroz dermoepidermalnu granicu. Epidermis se sastoji od nekoliko slojeva, a to su: temeljni sloj (stratum basale), nazubljeni sloj (stratum spinosum), zrnati sloj (stratum granulosum), svijetli sloj (stratum lucidum) i površinski, rožnati sloj (stratum corneum). Keratinociti nastaju sazrijevanjem stanica iz temeljnog sloja te diferencijacijom izbijaju u površinske slojeve. Tako su keratinociti, u rožnatom sloju bez jezgara te se potom tijekom vremena odlušte. Stanice rožnatog sloja najbrojnije su u epidermisu, a ovisno o dijelu tijela, taj sloj može sadržavati 10–100 slojeva stanica. Melanociti su stanice koje proizvode pigment melanin koji je potreban kako bi se koža zaštitila od štetnog ultraljubičastog zračenja. Melanociti se

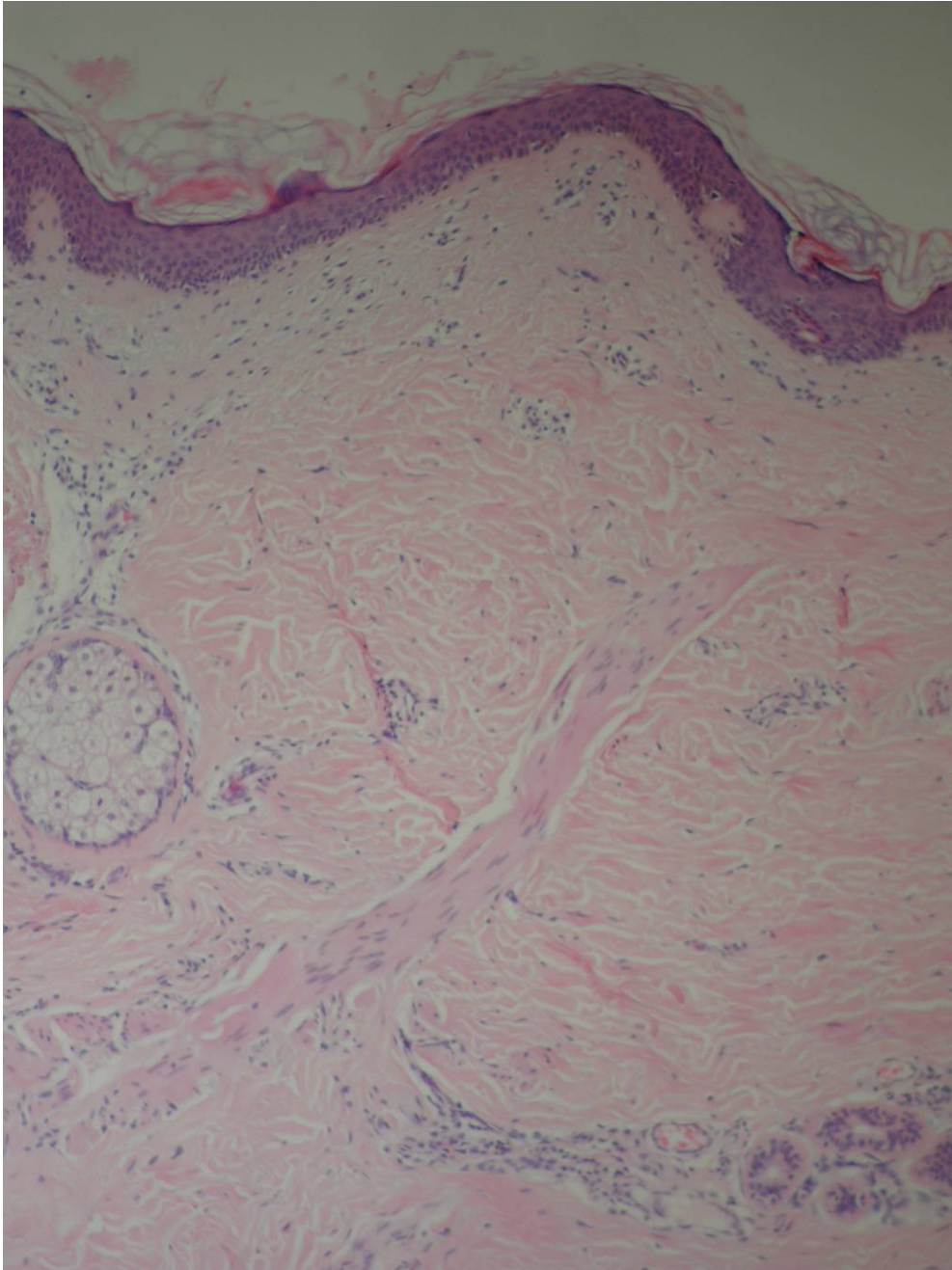
nalaze u bazalnim slojevima epidermisa kao i u folikulima dlaka, mrežnici i ovojnicama mozga. Gustoća melanocita ovisi o izloženosti UV zračenju, a može biti u odnosu na keratinocite 1:4 do 1:30. Razlika u pigmentaciji kože ovisi o veličini melanosoma, a ne o broju melanocita. Također, ovisi o izloženosti Suncu, djelovanju i koncentraciji melanocitno stimulirajućeg hormona, adenokortikotropnog hormona, a poznato je da estrogen i progesteron stimuliraju proizvodnju melanina. Starenjem se smanjuje broja melanocita koji nemaju mogućnosti obnavljanja [3].



Slika 2. Građa epidermisa

Langerhansove stanice su imunosne stanice. Nalaze se u bazalnom, nazubljenom i zrnatom sloju epidermisa, one predočuju antigene limfocitima radi aktivacije imunskog sustava [3].

Merkelove stanice nalaze se u koži volarne strane prstiju, u nokatnim pločama, genitalijama, a služe za percepciju nježnog dodira [3].



Slika 3. Histološka slika kože (hemaulaun i eozin, 100×)

Funkcija dermisa je potpora epidermisu. Dermis se sastoji od 2 sloja. Papilarni dermis je smješten ispod epidermisa, a ispod njega retikularni dermis. Papilarni dermis je tanji, a sastoji se od rahlog veziva u kojem se nalaze kapilare, elastična i retikularna vlakna te nešto kolagena. Retikularni dermis je i

građen od gustog vezivnog tkiva. U njemu se nalaze kapilare, isprepletana elastična vlakna te deblje nakupine kolagenih vlakana. U retikularnom sloju nalaze se fibroblasti, mastociti i derivati epidermisa [1-3].

Derivati epidermisa u dermisu važan su izvor epitelnih stanica koje mogu biti centar epitelizacije u slučajevima kada je epidermis uklonjen (opekline, uzimanje slobodnog kožnog transplantata). Derivati epidermisa su apokrine žlijezde, žlijezde znojnice, žlijezde lojnice i folikuli dlaka koji se nalaze u dubokom sloju dermisa, a na licu se mogu nalaziti i u potkožnom tkivu [3].

Bazalna membrana čini dermoepidermalnu granicu koja veže epidermis s dermisom. Dermoepidermalna granica je vrlo neravna te se tako povećava površina kroz koju difuzijom prolaze hranjive tvari i kisik potrebni za metabolizam epidermisa [3].

Rođenjem koža i njezini derivati u potpunosti su formirani, a započinje kontinuirani ciklus obnove kože koji traje cijeli život. Iako je koža na cijelom tijelu vrlo slične strukture, ipak se može podijeliti na dvije vrste kože, tanku kožu prekrivenu dlakama koja prekriva veću površinu tijela i deblju kožu bez dlaka koja prekriva taban stopala i dlan šake [3].

1.2. Povijest istraživanja melanoma

Prvi opis tumora nalik na melanom pripisuje se Hipokratu u petom stoljeću prije nove ere [5]. Prvi moderni zapis o melanomu pripisuje se Johnu Hunteru 1787. godine, a potom se javili i drugi opisi [6].

Jedan od najvažnijih povijesnih zapisa potječe od Williama Norrisa [7] koji je opisao da se melanoza pojavljuje u bolesnika koji imaju brojne pigmentirane promjene po koži. Isticao je nasljednu predispoziciju melanoze, a za liječenje preporučio je eksciziju tumora uz dosta okolnoga zdravoga tkiva. Opisao je epidemiološka obilježja, te neka klinička obilježja melanoma kao i tijek bolesti [8]. Iako je W. Norris cijeli svoj radni vijek posvetio istraživanju melanoma, termin melanom uveo je Robert Carswell 1834. godine [5].

Sir James Paget, 1853. godine u knjizi "*Lectures on Surgical Pathology*", opisao je 25 bolesnika s melanoidnim rakom. Zapazio je da bolesnici opisuju pigmentnu promjenu koja počinje rasti, a ponekad je pigmentna promjena prisutna od rođenja. Također, Sir. J. Paget zaslužan je za opis amelanotičnog melanoma [9].

Oliver Pemberton, 1858. godine u dijelu "*Observation on the History, Pathology and Treatment of Cancerous Diseases*" opisao je 60 bolesnika s melanomom. Primijetio je razlike u boji melanoma te da se melanom javlja u srednjoj i starijoj dobi i opisao melanom u bolesnika crne rase [10].

Jonathan Hutchinson, svestrani liječnik bio je ugledni dermatolog, oftalmolog, neurolog i kirurg, opisao je 1857. subungvalni melanom i preporučio amputaciju zahvaćenog prsta kao liječenje [11]. Prema zapažanjima ovoga

svestranog liječnika opisan je i karakteristični prekursor bolesti- Hutchinsonova melanotična pjega [12].

William Sampson Handley je u Lancetu 1907. godine objavio saznanja i poglede bazirane na temelju obdukcije bolesnika koji je umro od melanoma. Zagovarao je eksciziju širokih rubova zdrave okolne kože, širine 3–5 cm, te eksciziju fascije i mišića [13]. Takve preporuke zadržale su se sljedećih 50 godina, iako je W. Handley do 1935. godine liječio samo 8 do 10 bolesnika s melanomom od kojih su 3 bolesnika imali dugoročno preživljenje.

Patologinja Sophie Spitz i njezin suprug Arthur Allen opisali su 1948. godine poseban oblik madeža u djece koji se može zamijeniti s melanomom, u čast S. Spitz, danas se taj nevus naziva Spitzin nevus. Navedeni autori opisali su po prvi puta ulceraciju melanoma [14].

Važno ime u istraživanju melanoma 20. stoljeća je i Vincent McGovern, patolog iz Australije, koji je stekao svjetski ugled proučavanjem kožnog melanoma. McGovern je o melanomu objavio tri knjige i više od 100 članaka. Njegov veliki doprinos je i organizacija brojnih međunarodnih skupova i kongresa kojima je bio cilj donošenje konsenzusa i protokola u liječenju melanoma kao i razvitak prvih klasifikacija melanoma. Upozorio je u svojim radovima i na važnost debljine, ulceracije, mitotskog indeksa i regresije u prognozi melanoma [15, 16].

Wallace H. Clark, Jr. osnovao je godine 1966. prvu multidisciplinarnu Kliniku za dijagnostiku i liječenje pigmentiranih lezija u Općoj bolnici Massachusetts. Predložio je jednu od prvih klasifikacija melanoma- tzv. Clarkove stupnjeve invazije melanoma prema dubini invazije epidermisa i dermisa [17]. Clark je prvi prikazao multifaktorijalni prognostički model

predviđanja preživljenja u bolesnika s melanomom. Model je obuhvatio: spol, lokalizaciju melanoma, dubinu invazije melanoma, mitotski indeks, prisutnost ili odsutnost regresije tumora te stupanj imunološkog odgovora organizma [18].

Alexander Breslow, profesor patologije iz Washingtona, ostvario je izniman doprinos u istraživanju kožnog melanoma, uvođenjem određivanja debljine melanoma kao primarnog prognostičkog pokazatelja lokaliziranog melanoma [19]. Po prvi puta javlja se kvantitativan pokazatelj, a ujedno je i jednostavan za mjerenje te je za razliku od Clarkove klasifikacije reproducibilan. Multinacionalna studija koja je obuhvatila 284 bolesnika s melanomom iz Registra bolesnika s melanomom Svjetske zdravstvene organizacije pokazala je godine 1978. da je debljina melanoma bolji pokazatelj metastaziranja i petogodišnjeg preživljenja od bilo kojega drugog patohistološkog pokazatelja [20].

Uvođenjem biopsije sentinel limfnog čvora (limfnog čvora čuvara), Morton 1992. godine [21, 22], započinje novo razdoblje dijagnostike i liječenja mogućih metastaza. Sentinel limfni čvor je prvi limfni čvor u koji se drenira područje melanoma. Biopsija sentinel limfnog čvora ubrzo je zauzela važno mjesto u stupnjevanju melanoma kože.

1.3. Etiologija melanoma

Etiologija melanoma je multifaktorijalna, a postoje brojni dokazi da melanom nastaje kao posljedica djelovanja utjecaja okoliša i genskih faktora.

Melanom je maligni tumor koji nastaje malignom transformacijom melanocita. Kao takav, može nastati u svim tkivima koja sadrže melanocite. To su: koža, oko, sluznica gornjeg dijela probavnog sustava, sinusi, vagina i rektum.

Od uzroka koji su povezani s okolinom najvažnije je spomenuti sunčevo svjetlo, tj. ultraljubičasto (UV) zračenje. Ultraljubičasto zračenje koje najviše utječe na nastanak zloćudnih kožnih tumora nalazi se u spektru između 200 i 400 nm, a dijeli se na UVA (320–400 nm), UVB (280–320 nm) i UVC (200–280 nm). Zahvaljujući ozonskom omotaču valne duljine kraće od 300 nm ne dopiru do površine zemlje. Na karcinogenezu najviše utječe UVB zračenje [23] iako postoji sve više dokaza da i UVA zračenje može uzrokovati tumore [24]. Djelovanjem UV zračenja dolazi do pojačane sinteze melanina koji apsorbira UV fotone i slobodne radikale [25].

U stanicama postoje mehanizmi popravka DNK koji su vrlo uspješni osim u rijetkim situacijama kada može nastati odumiranje stanica ili onkogeneza. U slučaju nastanka onkogeneze mora se transformirati jedan od onkogeni. Popravak ciklobutanskih dimera i 6–4 fotoprodukata odvija se u vrlo složenom procesu nukleotidne ekscizijske reparacije. Nedostatak nukleotidne ekscizijske reparacije je prisutan u jednom od sedam oblika xeroderme pigmentosum, a takvi bolesnici imaju tisuću puta veći rizik od nastajanja zloćudnih kožnih tumora

[26]. Kao jedan od najvažnijih genskih poremećaja u melanoma u objavljenoj meta analizi upravo se navodi poremećaj popravaka DNA [27].

Najčešće istraživani geni povezani s nastankom melanoma su mutacije u CDKN2A, CDK4 i MC1R koje su izražene kod obiteljskog melanoma. Ovi geni zaduženi su za regulaciju staničnog ciklusa, a uzrokuju i njegovo zaustavljanje. Gotovo uvijek su mutacije CDKN2A, CDK4 i MC1R gena prisutne za vrijeme melanomske progresije i nastanka metastaza [28, 29].

Ultraljubičasto zračenje je zasigurno najvažniji etiološki faktor u razvoju melanoma. Postoje brojni dokazi da izloženost UV zračenju dovodi do povećane incidencije malignih kožnih tumora u čovjeka, a da je djelovanje UV zračenja kumulativno. U etiologiji melanoma važno je intermitentno, povremeno, ali intenzivno izlaganje sunčevom svjetlu, što objašnjava pojavu melanoma na regijama koje su rjeđe izložene Suncu (prsni koš u muškaraca i donji udovi u žena) [30]. Nadalje, sunčeve opekline nastale u bilo kojem životnom razdoblju povezane su s dvostruko većom učestalosti razvoja melanoma [31]. Pojedine studije ukazale su na veću incidenciju melanoma kada su sunčeve opekline nastale u dječjoj dobi, odnosno, adolescenciji [32]. Posljednjih godina zbog uništavanja ozonskog omotača dolazi više UVB zračenja do površine zemlje. Utvrđeno je da povećanje UVB zračenja za 10% povećava rizik nastajanja melanoma u muškaraca za 19% a žena za 16%, a 10% više vremena provedenog na otvorenome prostoru povećava rizik od melanoma za 2,8% u osoba s normalnom pigmentacijom, a čak 5,8% u osoba svijetle puti [33].

Obiteljski melanom se definira kao pojava 2 ili više melanoma unutar jedne obitelji, histološka slika kao i prognoza se ne razlikuju od sporadičnih melanoma. Pojavljivanje obiteljskog melanoma veže se uz raniju životnu dob, a

postoji i mogućnost pojave multiplih melanoma [34]. Dokazano je da srodnici prve generacije osoba s novonastalim melanomom imaju dva puta veći rizik da obole od melanoma [35].

Poznato je da displastični nevusi povećavaju rizik nastanka melanoma [36]. Važno je razlikovanje i "običnih" nevusa od displastičnih nevusa jer nije dokazana povećana učestalost nastanka melanoma kod običnih nevusa, već samo kod displastičnih nevusa. Displastični nevus klinički i histološki se razlikuje od "običnog" nevusa [37, 38].

Ljudi sa sunčevim pjegama, crvenom kosom i preosjetljivosti na Sunce imaju povećavni rizik nastajanja melanoma koji je povezan s genetskim varijacijama melanokortin-1 receptora [39].

Razvijeni su modeli predviđanja rizika kako bi ocijenili individualni rizik u nastajanju melanoma. Veliki broj nevusa, anamneza težih sunčevih opeklin (više od 3 prije 20 godine života), sunčeve pjege gornjeg dijela leđa, svijetla kosa izdvojeni su kao rizični faktori. Prisutnost više od dva nabrojena rizična faktora uvećava rizik za 4 puta, a više od 3 faktora uvećavaju rizik za 20 puta [40].

1.4. Incidencija i epidemiologija melanoma

Incidencija melanoma kože tijekom posljednjih desetljeća raste [41, 42], pa se u SAD-u očekuje da će svaka 75. osoba rođena 2000. godine oboljeti od melanoma kože [43]. U Hrvatskoj je zapažen porast incidencije i mortaliteta melanoma kože (1968. godine stopa 2,1 na 100000, mortalitet 1,0 na 100000, dok 2000. godine stopa od 10,4 na 100000 i mortalitet 3,5 na 100000) [44, 45]. Najveća incidencija melanoma u svijetu je u Queenslandu u Australiji, a iznosi 55,8/100000 za muškarce i 41,1/100000 za žene [46]. Neki autori navode da će sljedeće desetljeće i dalje rasti incidencija melanoma [47–49].

Dokazano je da prethodna trudnoća [50], uzimanje oralnih kontraceptiva [51], uzimanje hormonske nadomjesne terapije [52] nema utjecaja na incidenciju melanoma. Primijećeno je da osobe višeg socioekonomskog statusa imaju veću incidenciju melanoma što je povezano s duljim izlaganjem Suncu [53]. Utvrđena je i veća incidencija melanoma u pilota [54], ljudi u doticaju s pesticidima [55], dok uzimanje nesteroidnih antireumatskih lijekova smanjuje incidenciju melanoma [56], a uzimanje statina ne utječe na incidenciju melanoma [57]. Za incidenciju melanoma u bolesnika s transplantiranim bubrezima postoje proturječni podaci, dok jedni naglašavaju da incidencija melanoma u bolesnika s transplantiranim bubrezima nije povišena [58], drugi naglašavaju da je izrazito povećana za čak 3,6–8 puta [59].

1.5. Prevencija melanoma

Prevencija melanoma je ključna u smanjenju rizika od obolijevanja od melanoma. Dobro je poznata primarna, sekundarna i tercijarna prevencija melanoma.

U primarnoj prevenciji melanoma najvažnije je izbjegavanje prekomjerne izloženosti Suncu te zaštita od UV zračenja [60–62].

Sekundarna prevencija označava što raniju dijagnostiku i liječenje melanoma kada je prognoza bolesti dobra [63]. Prevenciju treba provoditi na osobama visokog rizika (xeroderma pigmentosum, divovski kongenitalni nevusi, kod imunosupresivne terapije, obiteljski melanom, brojni (>50) madeži) [64].

Tercijarna prevencija obuhvaća ograničavanje morbiditeta i produženje preživljenja bolesnika s uznapredovalim melanomom.

1.6. Dijagnostika i liječenje melanoma

1.6.1. Klinička dijagnostika melanoma

U liječenju melanoma imperativ je rano otkrivanje i dijagnostika melanoma jer je i prognoza takvih bolesnika bolja. Točnost kliničkog pregleda je oko 65% [65] što se može poboljšati za 10–20% epiluminiscentom mikroskopijom ili sekvencijalnim fotografiranjem cijelog tijela ili dermatoskopijom [66]. Klinička obilježja madeža koja mogu ukazati na melanom su neravna, nepravilna granica, asimetrija u pigmentaciji ili obliku, ulceracija, razvoj nodula unutar pigmentne promjene, gubitak pigmenta te neke druge.

U kliničkoj dijagnostici melanoma koristi se ABCDE pravilo [64], te Glasgowskih 7 karakterističnih znakova (tablica 1) [67]. Uobičajena je praksa da se sve sumnjive pigmentirane tvorbe ekscidiraju kako bi se u što ranijoj fazi bolesti otkrio melanom i aktivno liječio s najboljim mogućim rezultatima.

Tablica 1. ABCDE i Glasgow pravilo 7 točaka u ranoj dijagnostici melanoma

<i>ABCDE pravilo</i>	<i>Glasgowskih 7 karakterističnih znakova</i>	
A-asimetrija	<i>3 važna znaka</i>	<i>4 manje važna znaka</i>
B- nepravilnost ruba (border irregularity)	Promjena u veličini	Promjer ≥ 6 mm
C- varijacije boje (colour variation)	Promjena u obliku	Kruste ili krvarenje
D- promjer (diameter) ≥ 6 mm	Promjena u boji	Upala
E- elevacija ili povećanje ili eksudacija		Svrbež

1.6.2. Ekscizijska biopsija

Sigurna dijagnoza melanoma moguća je jedino patohistološkim pregledom sumnjive promjene. Preporuča se ekscizija sumnjive pigmentne lezije s 2–3 mm ruba zdrave kože, a debljina ekscizata mora sadržavati epidermis i dermis te potkožno tkivo kako bi se moglo egzaktno patohistološki odrediti dijagnoza i drugi prognostički pokazatelji. Važno je odgoditi kirurško liječenje melanoma do pravovaljane patohistološke dijagnoze. U vidljivim regijama, a posebno na licu važno je izbjegavati široke ekscizijske biopsije kako ne bi bile mutilirajuće, već dostatne za dijagnostiku [68]. Ekscizijska je biopsija zlatni standard dijagnostike melanoma, a druge oblike ("*punch*", tj ubodne biopsije, tangencijalne ekscizije) treba izbjegavati.

1.6.3. Patohistološka dijagnostika melanoma

Svrha patohistološkog pregleda je razlikovati benigne promjene (melanocitni madeži, proliferacijski čvorić u kongenitalnim nevusima, duboko penetrirajući madeži, Spitzin nevus, pleksiformni nevus vretenastih stanica, klonalni nevusi, genitalni madež, akralni nevus, celularno modri madež) od melanoma te je vrlo važno razlikovati melanom od atipičnih i/ili displastičnih nevusa.

U slučaju melanoma treba pronaći mjesto najdubljeg prodora i na tom mjestu izmjeriti debljinu melanoma jer je ona važan prognostički pokazatelj. Ostali parametri koji za melanom imaju prognostičko značenje su: prisutnost ulceracije, faza rasta (radijalna ili vertikalna), osnovni histološki tip melanoma (površinsko šireći melanom, nodularni melanom, lentigo maligna melanom, akralni lentiginozni melanom) odnosno rijetki oblici melanoma, (dezmoplastični, mikroidni ili neki još rjeđi tip melanoma), postojanje limfocitne infiltracije, regresija tumora, opis histoloških rubova preparata, prisutnost vaskularne invazije te postojanje neurotropizma kod dezmoplastičnog neurotropnog melanoma [69].

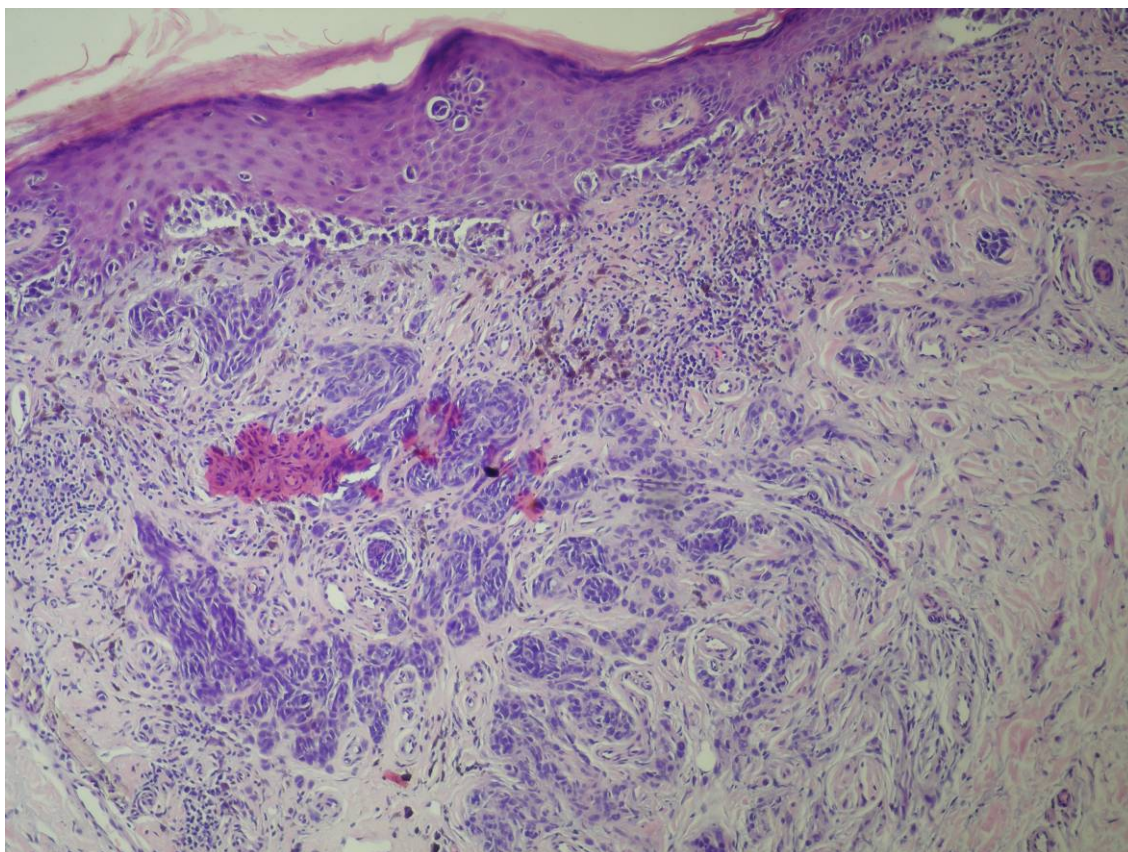
Patohistološka obilježja melanoma nisu jedinstvena, a uključuju: veličinu, asimetriju, pagetoidno širenje, konfluirajući rast, skraćivanje ili potpun nestanak epidermalnih grebena, nazubljenost dermoepidermalne granice, celularnost, stvaranje velikih žarišta, gubitak dermalne strukture, izostanak dozrijevanja stanica u dubljim dijelovima melanoma i perineuralna invazija. Citološke osobine melanoma uključuju velike jezgre, istaknute jezgrice, debele i nepravilne stanične membrane, nepravilne citoplazmatske melanizacije, mitoze

u dubokim dijelovima dermisa i atipične mitoze [70]. Neke od ovih osobina mogu biti prisutne i u madežima. Konfluirajući rast uzduž dermoepidermalne granice (pagetoidno širenje) [71, 72] i atipične mitoze osim u melanomima mogu se vidjeti u benignim melanocitnim nevusima. Stoga dijagnoza melanoma zahtijeva pažljivu prosudbu brojnih histoloških obilježja.

Superficialno (površinsko) šireći melanom (engl. superficial spreading melanoma-SSM) je najčešći histološki tip melanoma (slika 4 i 5) i čini 70% svih melanoma. Nastaje na koži koja je izložena Suncu. U žena najčešće se pojavljuje na stražnjoj strani potkoljenice, a u muškaraca na leđima. Histološki pokazuju pagetoidno širenje, a građeni su od epiteloidnih melanomskih stanica [70, 73].



Slika 4. Klinički izgled površinsko širećeg melanoma

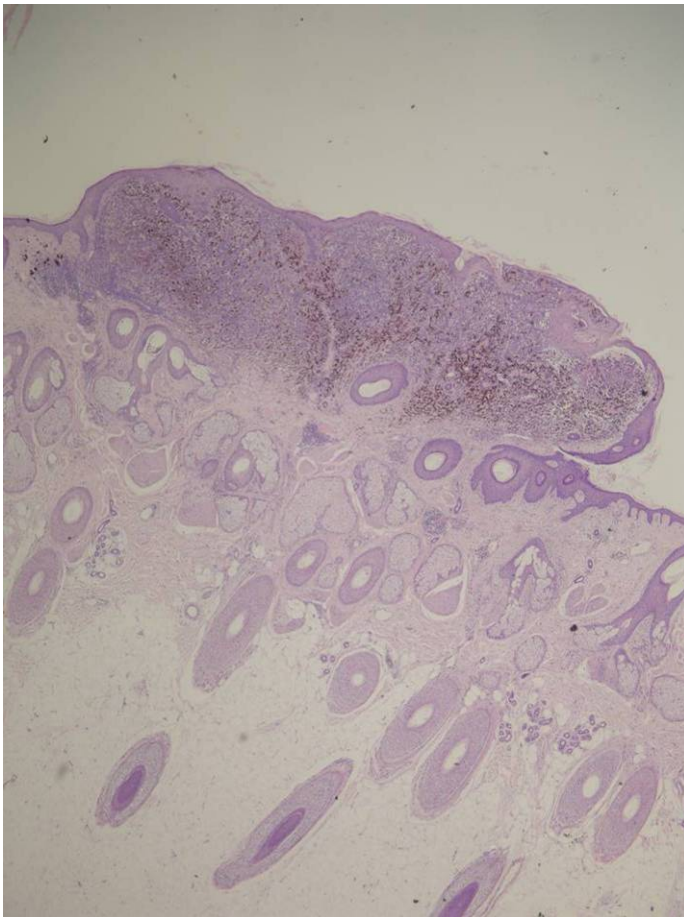


Slika 5. Histološka slika površinsko širećeg melanoma (hemalaun i eozin, 100×).

Nodularni melanom (NM) (slika 6 i 7) čini 5% svih melanoma, najčešće nastaje na trupu i ekstremitetima, a češće se javlja u muškaraca. Tumori su često ulcerirani. Ovi melanomi mogu biti amelanotični pa ih se može zamijeniti za vaskularnu anomaliju. U nodularnim melanomima postoji samo vertikalna faza rasta. Ne pokazuju regresiju i nisu povezani s madežima. Poseban oblik nodularnog melanoma je polipoidni melanom [70].



Slika 6. Klinički izgled nodularnog melanoma



Slika 7. Histološka slika nodularnog melanoma (hemalaun i eozin, 20×).

Akralni lentiginozni melanom (ALM) je rijedak, a čini 5% svih melanoma. Iako nastaje u svim etničkim skupinama, najčešće se javlja u izrazito tamnoputih ljudi. Nastaje na debeloj koži stopala, dlanova i na prstima (slika 8), a često nastaje i na peti. Kada nastaje na prstu može biti smješten pod noktom i to najčešće palca na stopalu i palca na šaci, češće u žena starije dobi. I NM i SSM mogu nastati pod noktima prstiju [74].



Slika 8. Klinički prikaz akralnog lentiginoznog melanoma.

Lentigo maligna (LM) nastaje u 4–15% bolesnika i povezan je s dugotrajnim izlaganjem UV zračenju. Lentigo maligna je poznat pod nazivom i Hutchinsonova melanotična pjega i kao prekancerozna Dubreuilhova melanoza. Histološko obilježje čini jedan red melanocitnih gnijezda uzduž atrofične dermoepidermalne granice, melanomske stanice često se šire i uzduž dlačnih folikula. Najčešće nastaje na koži oštećenoj od Sunca koja pokazuje znakove solarne elastoze. Katkad se LM teško razlikuje od melanocitne hiperplazije kod kože oštećene Suncem. Lentigo maligna može postojati i desetljećima prije nego prodire u dermis. Progresija invazivnog melanoma iz LM jednaka je kao i

u drugim oblicima melanoma in situ, iako postoje mišljenja da je progresija kod LM znatno sporija [70, 74].

Od rjeđih oblika melanoma važno je spomenuti dezmoplastični melanom koji najčešće nastaje na glavi i vratu, a može nastati na sluznicama, najčešće spojnici oka, gingivi, genitalnim regijama i perianalno. Najčešće se javlja u muškaraca starijih od 60 godina. Ponekad je amelanotičan, a ponekad pigmentacija postoji na dermalnom nodulu. Može nastati i u sklopu drugih oblika melanoma. Dezmoplastični melanom je pozitivan na S-100 protutijela, a HMB45, Mart 1 i Melan-A su često negativni. Teško ga je histološki razlikovati od ožiljnog tkiva zato što i ožiljno tkivo može biti S-100 pozitivno. Kod dezmoplastičnog melanoma često se javlja infiltracija živca pa se u takvim slučajevima nazivaju se dezmoplastični neurotropni melanom [70]. Dezmoplastični melanomi rjeđe metastaziraju u limfne čvorove, u oko 8% slučajeva, ali imaju veći rizik od recidiva radi infiltrativnog rasta. Dezmoplastični melanom ima manji rizik od metastaziranja od konvencionalnog melanoma slične debljine te nešto bolju prognozu. Petogodišnje preživljenje DM je 72%, a konvencionalnog melanoma je 37–48% [75, 76].

Melanom balonskih stanica patohistološki slični madežu balonskih stanica, ali postoji i atipija, izgubljena dermalna arhitektura, nuklearni pleomorfizam i mitoze. Prognoza je istovjetna kao i kod drugih oblika kožnih melanoma slične debljine [70, 76, 77].

Miksoidni melanom može se zamijeniti s miksoidnim i mucinoznim neoplazmama. Miksoidne promjene mogu biti vidljive kod primarnog melanoma, kod metastaza i kod recidiva. Važno je razlikovanje od drugih oblika miksoidnih tumora poput miksoma, miksoma živčanih ovojnica, miksoidnog protuberantnog

dermatofibrosarkoma i dr. Imunohistokemijski pozitivni su za S-100, NKIC3, vimentin i HMB 45 [70, 76, 78].

Melanom izgrađen od stanica tipa prstena pečatnjaka je vrlo rijedak oblik melanoma, ali za razliku od klasičnog melanoma češće metastazira. Važno ga je razlikovati od kožnih metastaza adenokarcinoma sa stanicama tipa prstena pečatnjaka koje izlučuju mucin, limfoma, liposarkoma i drugih [70, 76, 79].

Osteogeni melanom najčešće nastaje na prstima, a posebno subungvalno, u nosu i sinusima. Potrebno je razlikovati ga od osteogenog sarkoma, kondrosarkoma i metaplastičnih karcinoma, a to se može imunohistokemijski, jer je osteogeni melanom imunopozitivan na S-100, HMB 45 i Melan- A [70, 76, 80].

Jedan od vrlo rijetkih oblika melanoma je rabdoidni melanom koji pokazuje junkcijsku aktivnost ili su u pozadini prisutne konvencionalne melanomske stanice. Imunohistokemijski pozitivan je na S-100, ali često negativan na HMB 45, pozitivan je i na keratin i aktin. Rabdoidni fenotip može predstavljati evoluciju primitivnog nediferenciranog tumora u melanom [70, 76, 81].

Rijetko se događa da melanom nastane u bazeocelularnom karcinomu [70, 76, 82].

1.6.4. Klasifikacija melanoma i prognostički pokazatelji

Klasifikacija melanoma, kao i drugih malignih tumora, omogućuje kliničarima: ujednačenu nomenklaturu temeljenu na prognozi, razvrstavanje bolesnika u rizične skupine ovisno o preživljenju, kriterije za razvrstavanje i izvještavanje o rezultatima kliničkih istraživanja, mogućnost usporedbe različitih oblika liječenja te pomoć pri donošenju kliničkih odluka u liječenju bolesnika [45].

Do danas su korištene brojne klasifikacije [83–86] od kojih su najduže u primjeni ostale Clarkova i Breslowova klasifikacija. Clark i koautori [17] su 1969. godine predložili klasifikaciju melanoma temeljenu na dubini invazije melanoma i klasificirali je u pet stupnjeva (tablica 2). Clark i suradnici su i opisali različite histološke forme koje su imale prognostičko značenje: površinsko šireći melanom, nodularni melanom i lentigo maligna melanom.

Tablica 2.

Clarkova klasifikacija dubine invazije [17].

Stupanj	Histološke karakteristike
I	Zahvaćanje epidermisa (in situ)
II	Zahvaća papilarni dermis, ali ne doseže papilarno-retikularnu granicu
III	Ispunjava papilarni dermis, ali ne zahvaća retikularni dermis
IV	Zahvaća retikularni dermis, ali ne zahvaća subkutis
V	Zahvaća retikularni dermis i subkutis

Breslow je 1970. godine [19] pokazao prognostičko značenje najveće debljine melanoma (tablica 3). Krajem 1970-tih objavljene su prve kontrolirane studije u kojima je pokazano da mjerenje debljine melanoma po Breslowu ima

statistički značajniju prognostičku vrijednost nego mjerenje dubine invazije melanoma po Clarku [20, 87].

Tablica 3.

Breslowova klasifikacija debljine melanoma [19].

Stupanj	Maksimalna debljina melanoma
I	≤0,75 mm
II	0,76 – 1,50 mm
III	1,51 – 4,00 mm
IV	≥4,01 mm

Prve klasifikacije melanoma od American Joint Committee on Cancer (AJCC) datiraju iz 1978. godine te revizije 1983. godine, a daljnje verzije su izmjene i nadopune klasifikacije iz 1983. godine, a objavljene su 1988., 1992. i 1997. godine [88].

American Joint Committee on Cancer (AJCC) je 1998. godine osnovao Melanoma Staging Committee koji je predložio novu klasifikaciju melanoma. Klasifikacija je prihvaćena 1999. godine, a objavljena 2002. godine. Novu klasifikaciju prihvatili su i Union Internationale Contre le Cancer (UICC), TNM Committee, European Organization for Research and Treatment Melanoma Committee i World Health Organisation Melanoma Program i u uporabi je do današnjih dana [88]. Klasifikacija se temelji na obradi podataka iz Melanoma Staging Database. Formirana je jedinstvena baza podataka bolesnika oboljelih od melanoma iz 13 centara i kooperativnih grupa. U bazu podataka je do tada upisano 30450 bolesnika, od kojih je 17600 bolesnika (58%) imalo sve važne podatke prognostičkih pokazatelja potrebne za stvaranje TNM klasifikacije. Pet godina je praćeno 12837 (73%) bolesnika, a 8633 (49%) praćeno je najmanje

10 godina, dok je 2485 bolesnika (14%) praćeno 20 godina [89]. Prognostićki pokazatelji i preživljenje praćenih bolesnika iz baze podataka statistićki su obraćeni te je na temelju razlićutih pokazatelja stvorena nova klasifikacija (tablica 4 – 7) [88].

Analiza AJCC-a 13581 bolesnika s lokaliziranim primarnim melanomom pokazala je da su debljina melanoma i prisutnost ulceracije najvaćžniji pokazatelji preživljenja, a drugi statistićki znaćajni prognostićki pokazatelji su dob, spol i Clarkova dubina invazije melanoma. Mećutim, analizom 4750 bolesnika iz AJCC-ove baze podataka melanoma kojima je patohistoloćkim pregledom limfnih ćvorova dokazan stadij I i II, najvaćžniji pokazatelji preživljenja su bili: odsutnost limfnih metastaza, a Clarkova dubina invazije melanoma i spol viće nisu bili znaćajni pokazatelji preživljenja. Analiza AJCC-a je pokazala da je debljina melanoma toćnija, kvantitativna i reproducibilna u odnosu na Clarkovu dubinu invazije melanoma [89]. Odnos preživljenja i debljine melanoma nije proporcionalan, što je veća debljina melanoma, manje pridonosi preživljenju, ali vrlo je znaćajno da debljina melanoma statistićki znaćajno korelira riziku metastaza u limfnim ćvorovima ćime identificira bolesnike kojima je potrebno ućiniti biopsiju sentinel limfnog ćvora. Vaćžno je naglasiti da debljina melanoma dobro korelira riziku od lokalnog recidiva, "*in transit*" metastaza i satelitoze. Ulceracija melanoma definira se kao nedostatak epidermisa nad većim dijelom melanoma na mikroskopskom histoloćkom pregledu [87]. Ulcerirani melanom je povezan s većim metastatskim potencijalom, a ujedno je i opisni termin bioloćkog ponaćsanja melanoma, kojim oznaćujemo tumorsku infiltraciju epidermisa što dovodi do "nedostatka" epidermisa. Preživljenje bolesnika s ulceriranim melanomom je proporcionalno slabije nego s neulceriranim

melanomom iste T kategorije, ali je približno preživljenju neulceriranih melanoma sljedeće, više T kategorije. Ulceracija melanoma je drugi po značajnosti pokazatelj preživljenja (iza debljine melanoma), od prognostičkih pokazatelja analiziranih AJCC-ovom studijom [89]. Dodatni prognostički pokazatelj kod melanoma tanjih od 1 milimetar je dubina invazije po Clarku pa je stoga i u TNM klasifikaciju kod T1 melanoma uvrštena i dubina invazije. U T1b melanome uvršteni su melanomi tanji od 1 mm, dubine invazije po Clarku IV i V, i/ili s prisutnošću ulceracije bez obzira na dubinu invazije. Od ostalih prognostičkih pokazatelja važni su: dob, lokalizacija primarnog melanoma, spol, vrsta rasta, regresija melanoma, DNA ploidnost te mitotski indeks. Obradom AJCC-ove baze podataka [89] pokazalo se da dob bolesnika utječe na preživljenje na nekoliko načina. U starijih bolesnika melanomi su bili deblji, ulcerirani, lokalizirani na glavi i vratu, češće zastupljeni u muškaraca. Bolesnici stariji od 60 godina imali su slabije preživljenje u usporedbi sa mlađim bolesnicima. Što se tiče anatomske lokalizacije melanoma, AJCC-ova studija [89] je ukazala na lošiju prognozu bolesnika s melanomima lokaliziranim na trupu, glavi i vratu u usporedbi s bolesnicima s melanomima lokaliziranim na udovima. Univarijatnom i multivarijatnom analizom AJCC-ove baze podataka u stadiju I i II ženski spol je povezan sa statistički značajno boljim preživljenjem, dok se u III i IV stadiju gubi statistička značajnost. Osim lentigo maligna melanoma koja ima nešto povoljnije preživljenje, među drugim histološkim tipovima melanoma nema razlike u preživljenju. Od drugih prognostičkih pokazatelja, visoki mitotski indeks ima lošiju prognozu, dok faza vertikalnog rasta, limfocitna infiltracija, aneuploidnost DNA i vaskulariziranost melanoma nemaju utjecaj na preživljenje [89] .

U III stadiju (tablica 5) bolesti prema analizi AJCC-a najznačajniji prognostički pokazatelj je broj zahvaćenih limfnih čvorova, a potom tumorsko opterećenje limfnih čvorova u smislu mikrometastaza (manje od 2 mm) ili makrometastaza (veće od 2 mm) [89]. Treći po značajnosti prognostički pokazatelj preživljenja je prisutnost ulceracije primarnog melanoma te je stoga AJCC Melanoma Staging Committee predložio viši podstadij za ulcerirane melanome s istim brojem zahvaćenih limfnih čvorova. Konačni prognostički pokazatelji, prema kojima je i formirana AJCC-ova klasifikacija, su prisutnost ili odsutnost satelitoze ili *"in transit"* metastaza čija prisutnost znatno pogoršava preživljenje. Satelitski čvorovi su melanomska žarišta koja se nalaze unutar 2 centimetra od primarnog melanoma, a jasno su odvojeni od primarnog melanoma (histološki odvojeni s normalnim retikularnim dermisom). Dije se na mikrosatelitske čvoriće vidljive samo mikroskopom (<0,05 mm) te makrosatelitske čvorove (>0,05 mm). *"In transit"* metastaze su nakupine tumorskog tkiva udaljene više od 2 centimetra od primarnog melanoma. *"In transit"* metastaze i satelitski čvorovi predstavljaju intralimfatičku proširenost melanoma. Važno je razlikovanje satelitoze i lokalnog recidiva. Lokalni recidiv predstavlja ponovni rast melanoma nakon primjerene ekscizije primarnog melanoma. Zapravo se radi o intralimfatičkim metastazama pa se može zaključiti da prema patogenezi ne postoji razlika, a analizom preživljenja bolesnika s lokalnim recidivom i satelitozom, odnosno, *"in transit"* metastazama, ne postoje statistički značajne razlike [89].

Od ostalih pokazatelja preživljenja u III stadiju melanoma važno je spomenuti primarnu lokalizaciju melanoma. Pokazalo se da lokalizacija melanoma na glavi i vratu i III stadij bolesti ima značajno niže preživljenje od

drugih lokalizacija melanoma. Također, bolesnici stariji od 60 godina imaju manje preživljenje u istome stadiju bolesti u odnosu na mlađe bolesnike. Spol, debljina melanoma i dubina invazije melanoma nemaju prognostičko značenje u preživljenju bolesnika u III stadiju [89].

Obradom podataka AJCC-ove baze podataka s 1158 bolesnika u IV stadiju (tablica 6) utvrđeno je da bolesnici s različitom lokalizacijom metastaza imaju različitu prognozu. Bolesnici s metastazama u koži i potkožju te udaljenim limfnim čvorovima imaju značajnije bolje preživljenje od bolesnika s metastazama u organima ili u bolesnika s povišenom vrijednošću serumske laktat dehidrogenaze (LDH) [88]. Metastaze u koži imaju bolje preživljenje u odnosu na plućne metastaze, a metastaze u drugim organima imaju najlošije preživljenje. Iznimka AJCC-ove klasifikacije je u uvrštenju vrijednosti serumske LDH u klasifikaciju što nije učinjeno kod ni jednog drugog tumora. Naime, toliko je statistički značajno lošije preživljenje bolesnika s povišenim serumskim LDH (M1c) da se ta iznimka morala uvrstiti u TNM klasifikaciju. [89].

U prosincu 2009. godine [90] objavljena je finalna verzija sedme AJCC-ove klasifikacije melanoma (tablica 4–7). Klasifikacija je sadržavala nekoliko novosti kao što su mitotski indeks mjeren na jednome kvadratnome milimetru i imunohistokemijsko određivanje metastaza i izoliranih tumorskih stanica klasificira se kao prisutnost metastaze u limfnom čvoru (N1). U obradu podataka uključeno je 30946 bolesnika I, II i III stadija te 7972 bolesnika IV stadija. Klasifikacija je određivana multivarijatnom analizom i krivuljama preživljenja za pojedine faktore rizika. U T-klasifikaciji postoji značajna razlika preživljenja (T1a petogodišnje preživljenje 97%, T4b petogodišnje preživljenje 39%, $P < 0,0001$), a obzirom na studije koje su uključivale mitotski indeks (broj

mitoza po kvadratnome milimetru) kao prognostički pokazatelj, po prvi puta je u multivarijatnu analizu 10233 bolesnika I i II stadija uključen i mitotski indeks koji se pokazao najznačajnijim prognostičkim pokazateljem poslije debljine melanoma [90]. Utvrđeno je da kod melanoma tanjih od jedan milimetar uz ulceraciju najvažniji i prognostički pokazatelj mitotski indeks, Stoga se T1 melanomi subklasificiraju (tablica 4) prema prisutnosti ulceracije i prisutnosti manje ili veće od jedne mitoze po kvadratnome milimetru [90]. Desetogodišnje preživljenje bolesnika s melanomom tanjim od milimetra i bez ulceracije i bez mitoza po kvadratnome milimetru je 95%, a u bolesnika s ulceracijom i prisutnim mitozama po kvadratnome milimetru je 78%. Tako je po prvi puta u posljednjih 40 godina Clarkova dubina invazije izostavljena iz klasifikacije melanoma jer je u multivarijatnoj analizi izgubila statističku značajnost za preživljenje bolesnika s melanomom tanjim od jedanog milimetra [90].

Tablica 4.

Tumorska klasifikacija TNM klasifikacije melanoma [88, 90].

T Klasifikacija	Debljina melanoma (mm)	Subklasifikacija (2001.)	Subklasifikacija (2009.)
Tis (in situ)	In situ tumor		
T1	≤1,0	a- bez ulceracije (Clark II/III) b- s ulceracijom (Clark IV/V)	a- bez ulceracije i/ili mitoze <1/mm ² b- s ulceracijom i/ili mitoze ≥1/mm ²
T2	1,01–2,00	a- bez ulceracije b- s ulceracijom	a- bez ulceracije b- s ulceracijom
T3	2,01–4,00	a- bez ulceracije b- s ulceracijom	a- bez ulceracije b- s ulceracijom
T4	≥4,01	a- bez ulceracije b- s ulceracijom	a- bez ulceracije b- s ulceracijom

Klasifikacija regionalnih limfnih metastaza doživjela je manje promjene u odnosu na klasifikaciju iz 2001. godine, jer se i na 3307 analiziranih bolesnika nisu promijenili najznačajniji faktori rizika za preživljenje (broj zahvaćenih limfnih čvorova, mikrometastaze ili makrometastaze). Predloženo je da se svaka prisutnost tumorskih stanica (tablica 5) u limfnim čvorovima, otkrivena imunohistokemijski, određuje kao N1 [90], za razliku od klasifikacije iz 2001. godine kod koje su se metastaze manje od 0,2 mm klasificirale kao N0.

Tablica 5.

Nodalna klasifikacija TNM klasifikacije melanoma [88, 90].

N klasifikacija	Broj metastatskih limfnih čvorova	Metastatska masa
N0	Bez metastaza	
N1	1	a- mikrometastaze* b-makrometastaze**
N2	2–3	a- mikrometastaze* b-makrometastaze** c-satelitoza i/ili "in transit" metastaze bez metastaza u limfnim čvorovima
N3	4 ili više crno pigmentirani (matirani) limfni čvorovi, "in transit" metastaze i/ili satelitoza s metastazama u limfnim čvorovima	

* mikrometastaze dokazane patohistološki

** Makrometastaze klinički prepoznate, patohistološki potvrđene

U klasifikaciji udaljenih metastaza, analizom 7972 bolesnika [90], prognostički faktori se nisu mijenjali te je stoga zadržana klasifikacija iz 2001. godine (tablica 6).

Tablica 6.

Metastatska klasifikacija TNM klasifikacije melanoma [88, 90].

M klasifikacija	Lokalizacija metastaza	Serum LDH
M0	Bez metastaza	Normalan
M1a	Udaljene kožne, potkožne, u limfnim čvorovima	Normalan
M1b	Plućne	Normalan
M1c	Sve druge metastaze, svi drugi zahvaćeni organi	Povišen

Stadiji melanoma, također, nisu mijenjani u odnosu na klasifikaciju iz 2001. godine (tablica 7).

Tablica 7.

Klasifikacija melanoma prema stadijima [88, 90].

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

*Klinički stadij- debljina melanoma i kliničko radiološki pregled limfnih čvorova

** Patološki stadiji- debljina melanoma, patohistološki pregled limfnih čvorova nakon biopsije sentinel limfnog čvora ili limfadenektomije

Ženski spol, prema nekim istraživanjima, ima značajno bolje preživljenje u IV stadiju melanoma nego muški spol, iako postoje oprečna mišljenja [88, 90]. Dužina remisije bolesti prije pojave udaljenih metastaza, također je značajan prognostički pokazatelj. Dokazano je da remisija duža od 12 mjeseci ima statistički bolje preživljenje, nego kraće remisije. Značajan prognostički pokazatelj je i stadij bolesti kod koje je primarni melanom liječen. Bolja je

prognoza u bolesnika koji su primarno liječeni kao stadij I i II te je onda nastupila pojava udaljenih metastaza. Bolesnici u IV stadiju melanoma imaju vrlo lošu prognozu s jednogodišnjim preživljenjem od 40% do 60%, a petogodišnjim preživljenjem manjim od 15% [89].

Niti jednom klasifikacijom, niti obradom prognostičkih pokazatelja nije uzeta u obzir debljina kože koja je vrlo promijenjiva. Saxby je 1984. godine objavio prvi pokušaj uvrštavanja odnosa debljine dermisa koji nije zahvaćen melanomom i debljine melanoma kao prognostičkog pokazatelja [91]. Iako je studija postavljena na način da je debljina nezahvaćenog dermisa indirektna funkcija debljine tumora, rezultati Saxbyeve studije pokazali su drugačije. Oni upućuju na to da je kod tankih melanoma (T1 i T2) omjer neinvadiranog dermisa i debljine melanoma bolji prognostički pokazatelj u odnosu na stupnjevanje po Breslowu [91]. Usprkos tome ova se klasifikacija nije se održala u kliničkoj praksi.

1.6.5. Kirurško liječenje melanoma

Kirurško liječenje i ekscizija tankih melanoma može dovesti do izlječenja u velikog broja bolesnika. Eliptična ekscizija melanoma prvi je korak u njegovom liječenju. Prije svega potrebno je znati koliko okolne zdrave kože treba obuhvatiti ekscizijom. Kroz povijest opisane su razne preporuke širine ekscizije, a početkom dvadesetog stoljeća preporučivala se ekscizija s rubovima od 5 cm, s ekscizijom fascije i mišića [13]. Rezultat Intergroup Melanoma Trial skupine [92] koja je usporedila razliku između 2 cm i 4 cm ekscizije kod melanoma od 1–4 mm nije pokazao razlike u učestalosti incidencije recidiva. Učestalost recidiva u grupi s ekscizijom od 2 cm je bila 0,8% dok je u grupi s ekscizijom od 4 cm bila 1,7% (nema statističke značajnosti). S druge strane, zatvaranje rana slobodnim kožnim presatkom djelomične debljine kože, kao i dodatni morbiditet, bilo je znatno češće potrebno u grupi s ekscizijom zdrave kože od 4 cm u 46% bolesnika, dok je potreba slobodnog kožnog presadka u grupi bolesnika s ekscizijom kože od 2 cm bilo potrebno u 11% slučajeva [92]. Nadopuna studije prikazala je rezultate nakon desetogodišnjeg praćenja bolesnika i nije ukazala na razliku u broju recidiva, kao ni u preživljenju [93]. Prospektivnom, randomiziranom studijom WHO Melanoma Group obrađeni su bolesnici s debljinom melanoma manje od 2 mm te su uspoređene ekscizije s rubovima zdrave kože od 1 cm i od 3 cm. Nije bilo lokalnog recidiva kod melanoma tanjih od 1 mm bez obzira na širinu ekscizije, već četiri lokalna recidiva u grupi melanoma 1–2 mm s ekscizijom zdrave kože od 1 cm. Nije zabilježena statistička značajnost između praćenih grupa u preživljenju bez bolesti kao ni u ukupnom preživljenju [94]. Navedeno istraživanje je obnovljeno s

petnaestogodišnjim praćenjem koje je, također, pokazalo da nema razlike u preživljenju između ekscizije 1 cm i 3 cm ruba zdrave kože u bolesnika do 2 mm debljine [95]. U istraživanju melanoma višeg rizika, debljih od 2 mm (medijan 3 mm), uspoređene su ekscizije rubova zdrave kože od 1 cm i 3 cm. Pokazano je da ekscizija rubova od 1 cm dovodi do značajnije pojave lokalnih recidiva i regionalnih metastaza, ali zanimljivo je da nema razlike u preživljenju [96]. Za melanome deblje od 4 mm dokazano je da kod ekscizije rubova zdrave kože veće od 2 cm nema statistički značajnih razlika u lokalnim recidivima, preživljenju bez znakova bolesti, ukupnom preživljenju od ekscizije rubova kože s 3 cm ili više [97]. Prednosti ili nedostaci ekscizije fascije zajedno s kožom nisu dokazani [98]. Obzirom na navedena istraživanja, preporučena je ekscizija s rubom zdrave kože: za melanome tanje od 1 mm da bude 1 cm, za melanome od 2–4 mm, širina okolne kože u ekscizatu bi trebala biti do 2 cm, dok je za melanome deblje od 4 mm, preporučena je širina ekscizije okolne kože 2–3 cm [45].

Unazad 20 godina preporuka je kod melanoma debljih od 1 mm učiniti biopsiju sentinel limfnog čvora (limfnog čvora čuvara) [22]. Prije razdoblja biopsije sentinel limfnih čvorova postojala su dva osnovna gledišta. Prvo je bilo konzervativno u smislu praćenja bolesnika, a drugo gledište je bila preporučena elektivna limfadenektomija. Iako prospektivna, randomizirana istraživanja nisu uspjela dokazati poboljšanje preživljenja u bolesnika kod kojih je učinjena elektivna limfadenektomija, potrebno je naglasiti nekoliko podataka. U studiji Intergroup Melanoma Surgical Trial [99] randomizirano je 740 bolesnika s melanomima debljine od 1 mm do 4 mm u dvije grupe: grupu s elektivnom limfadenektomijom i grupu koja je praćena. Nije se pokazala razlika u ukupnom

preživljenju između dvije grupe. No, prilikom razvrstavanja podgrupa nađeno je da je elektivna limfadenektomija dovela do poboljšanja preživljenja za određene podgrupe. Elektivna limfadenektomija dovela je do poboljšanja preživljenja: u bolesnika s neulceriranim melanomom smanjena je smrtnost za 30%, u bolesnika s debljinom melanoma 1–2 mm smanjena je smrtnost za 30%, bolesnici stariji od 60 godina imali su smrtnost manju za 27% i melanomi smješteni na udovima imali su smanjen mortalitet za 27% [99]. U istraživanju Svjetske zdravstvene organizacije, utvrđene su neke prednosti elektivne limfadenektomije prema preživljenju praćenih bolesnika [100]. Iako nije pokazalo razliku u preživljenju između grupe praćenih bolesnika i grupe bolesnika kod kojih je učinjena elektivna limfadenektomija, nađena je statistički značajna razlika ($p=0,04$) na preživljenje bolesnika u kojih su prilikom elektivne limfadenektomije nađene metastaze u limfnim čvorovima (petogodišnje preživljenje 48%). U grupi bolesnika koji su bili praćeni, te potom učinjena odgođena limfadenektomija, nakon pojave metastaza petogodišnje preživljenje je bilo 27%. Istraživanje Donalda Mortona i suradnika, usporedilo je preživljenje bolesnika kod kojih je učinjena limfadenektomija nakon pozitivne biopsije sentinel limfnog čvora i onih u kojih je odgođena limfadenektomija, nakon klinički otkrivenih metastaza u limfnim čvorovima [101]. U navedenom istraživanju nađeno je značajno povećanje preživljenja nakon 5, 10 i 15 godina u bolesnika u kojih je nakon pozitivne biopsije sentinel limfnog čvora učinjena limfadenektomija.

Upravo je zbog podataka iz navedenih istraživanja, došlo je do općeg prihvaćanja biopsije sentinel limfnog čvora u liječenju melanoma debljih od 1 mm koji nemaju klinički otkrivene metastaze. Biopsija sentinel limfnog čvora je

minimalno invazivna tehnika u usporedbi s limfadenektomijom. Biopsija ima manje poslijeoperacijskih komplikacija od limfadenektomije. Biopsija sentinel limfnog čvora predstavlja najtočniju metodu otkrivanja metastaza u limfnim čvorovima i omogućava točno određivanje stadija bolesti.

Biopsija sentinel limfnog čvora je dijagnostički postupak koji najbolje može odrediti stanje limfnih čvorova, i nije terapijski postupak. Iako biopsija sentinel limfnog čvora nije 100% točna, i dalje je mnogostruko točnija od kliničko-dijagnostičkog uspjeha u dijagnosticiranju metastatski promijenjenih limfnih čvorova. Neki autori su naglasili da kirurški postupak koji nije kurativni ne bi trebao biti dio svakodnevne kirurške prakse. Nadalje, navode da je metastaza melanoma u limfnom čvoru pokazatelj sistemskog širenja bolesti [102, 103]. Za takve navode nema čvrstih dokaza. U istraživanju bolesnika u III stadiju bolesti s maksimalnim praćenjem od 32 godine pokazano je da dugoročno preživljenje 1422 bolesnika kod kojih je zbog metastaza učinjena terapijska limfadenektomija iznosi nakon 15 godina 36%, nakon 20 godina 35% i nakon 25 godina 35%, a da bolesnici koji su imali palpabilne limfne čvorove imaju znatno kraće preživljenje [104]. U prospektivnoj, randomiziranoj multinacionalnoj studiji pod imenom Multicenter Sentinel Lymphadenectomy Trial (MSLT)-1 objavljeni su podaci 1269 bolesnika s melanomom debljine 1,2–3,5 mm koji su randomizirani u grupu kod kojih je učinjena biopsija sentinel limfnog čvora i kontrolnu grupu bolesnika koja je praćena te nije učinjena biopsija sentinel limfnog čvora [105]. Rezultati ukazuju da nema razlike u petogodišnjem preživljenju bolesnika kod kojih je učinjena biopsija sentinel limfnog čvora i kontrolne grupe bolesnika. Ipak, statistički značajna razlika postoji u petogodišnjem intervalu bez bolesti, koji je u grupi s biopsijom sentinel limfnog

čvora bio 78,3%, a u grupi praćenih bolesnika bio 73,1% ($p=0,009$). Ustanovljeno je da je prisutnost metastaze u sentinel limfnom čvoru najvažniji prognostički pokazatelj u preživljenju bolesnika. Potvrda tome je petogodišnje preživljenje bolesnika s metastazom u limfnom čvoru 72,3%, a bez metastaze 90,2% [105]. U grupi bolesnika s biopsijom sentinel limfnog čvora bilo je 16% mikrometastaza (metastaza manja od 2 mm), dok je u grupi koja je bila praćena bilo 15,6% relapsa bolesti u limfnim čvorovima što ukazuje na progresiju bolesti iz mikrometastaze u makrometastaze. Nadalje, u grupi bolesnika koji su praćeni prilikom pojave metastaza u limfnim čvorovima bilo je u prosjeku zahvaćeno 3,3 limfna čvora, dok je u grupi bolesnika kod koje je učinjena biopsija sentinel limfnog čvora prosječan broj metastatski zahvaćenih limfnih čvorova bio 1,4 [105]. Navedeno, također, ukazuje na progresiju metastaza u limfnim čvorovima za vrijeme praćenja bolesnika. Takvo zapažanje podupire tezu da se melanom prvo širi u limfne čvorove zahvaćajući isprva samo susjedne limfne čvorove, a potom tek nastaju udaljene metastaze. U svakom slučaju, autori zaključuju da limfadenektomija nakon pozitivne biopsije sentinel limfnog čvora značajno produžuje život bolesnicima s melanomom [105].

Melanomi tanji od 1 mm ne zahtijevaju biopsiju sentinel limfnog čvora, ali tanki melanomi predstavljaju vrlo specifičan problem. U 5% slučajeva je prisutna metastaza u sentinel limfnom čvoru u bolesnika s melanomom tanjim od 1 mm [106]. Posebno se izdvaja grupa s debljinom melanoma od 0,75 mm do 1,00 mm kod kojih metastaza u sentinel limfnom čvoru može biti prisutna u 5–8% slučajeva. Iz tog su razloga utvrđeni i drugi prognostički pokazatelji kod melanoma tanjih od 1 mm koji su važni u probiru visoko rizičnih bolesnika, a to su: vertikalna faza rasta, Clarkov stupanj IV ili V, ulceracija, regresija tumora,

visok mitotski indeks i mlađa dob [107–109]. Analiza 223 bolesnika s melanomom 0,75–1,0 mm debljine pokazala je da 3,6% bolesnika imalo metastazu u sentinel limfnom čvoru [106]. Analiza podataka 187 bolesnika s melanomom debljine 0,9–1,0 mm pokazala je prisutnost 5 % metastaza u sentinel limfnom čvoru [110].

Kod melanoma debljih od 4 mm, zbog vrlo loše prognoze i preživljenja, biopsija sentinel limfnog čvora ima ulogu u identifikaciji bolesnika s klinički neprepoznatim metastazama i pravovremenom liječenju [111].

Zadovoljavajući rezultati kirurškog liječenja III stadija bolesti mogu se postići uklanjanjem limfnih čvorova iz određenog limfnog bazena (limfadenektomijom) uz prihvatljive dugoročne rezultate [104].

Bolesnici u IV stadiju bolesti, tj. kod prisutnosti udaljenih metastaza, imaju vrlo lošu prognozu s petogodišnjim preživljenjem manjim od 5%. [89]. Pokušaji u liječenju metastatskog melanoma moraju biti pažljivo planirani, a u obzir uzeti i svi negativni aspekti liječenja udaljenih metastaza. Nekoliko pokazatelja je važno u poboljšanju preživljenja u bolesnika s metastatskim melanomom, a to su: mogućnost potpunog odstranjenja metastaza, smještaj metastaza, solitarne ili multiple metastaze te interval nastanka metastaza nakon odstranjenja primarnog melanoma [112]. Povoljni pokazatelji su ako se radi o solitarnoj metastazi nastaloj više od godine nakon operacije primarnog melanoma bez metastaza u limfnim čvorovima.

Najpovoljniji rezultati dobivaju se u liječenju kožnih i potkožnih metastaza, s mogućim petogodišnjim preživljenjem 20–30%, dok su najlošiji rezultati u liječenju metastaza u mozgu, jetri i nadbubrežnoj žlijezdi [113]. Citoreduktivna kirurgija u liječenju IV stadija melanoma, također, ima ulogu što

je zamijećeno u istraživanju melanomskog cjepiva onamelatucel-L (Canvaxin™) [114]. Iako je istraživanje Canvaxina prijevremeno prekinuto, jer nije pokazalo razlike u preživljenju u usporedbi s placebo, u studiji svim bolesnicima IV stadija moralo se kirurški odstraniti sve metastaze. Primjećeno je da bolesnici IV stadija u obje grupe (placebo i Canavaxin) imaju petogodišnje preživljenje od 40% [68].

1.6.6. Radioterapija melanoma

Uvriježeno je mišljenje da je melanom radiorezistentni tumor te da liječenje melanoma zračenjem nije učinkovito, kao i mišljenje da je radioterapija samo indicirana kod inoperabilnih bolesnika [45, 114]. Ipak, istraživanja su pokazala i vrijednost u primarnom liječenju melanoma radioterapijom. Za liječenje melanoma žilnice ukazano je da nema razlike u preživljenju bolesnika koji su zračeni (82%) i u kojih je učinjena enukleacija oka (81%) [115]. Slični rezultati dobiveni su i u zračenih bolesnika s lentigo maligna [116].

Na Mayo Klinici, u bolesnika s metastazama u limfnim čvorovima, pokazalo se da je interval bez pojave recidiva u grupi zračenih bolesnika bio 20 mjeseci, a kod onih koji nisu bili zračeni je 9 mjeseci. Medijan preživljena je za zračene bolesnike bio 33 mjeseca, a nezračene bolesnike 22 mjeseca [117]. Istraživači iz M.D. Anderson Cancer Center su predložili adjuvantno zračenje u bolesnika: s dezmozoplastičnim melanomom, nekompletnim ekscizijama, kod rekurentne bolesti te melanoma debljih od 4 mm s ulceracijom i/ili satelitozom. Zračenje je planirano u ukupnoj dozi od 30 Gy u 6 Gy frakcijama i rezultatom s 89% lokoregionalne kontrole bolesti [118].

Nadalje, radioterapija je indicirana kod nepotpunih resekcija melanoma kao i prisutnosti "*in-transit*" metastaza koje je teško kontrolirati drugim metodama liječenja [119]. Vrlo je važna indikacija radioterapije palijativno liječenje udaljenih metastaza (koštanih i metastaza u mozgu) s pozitivnim odgovorom 67–87% [120].

1.6.7. Adjuvantna terapija melanoma

Prospektivne i randomizirajuće studije nisu pokazale uspješnost monokemoterapijskih sredstava (dacarbazine, temolozomid, i dr) kao što ni polikemoterapijski ciklusi liječenja i kombinacije s citokinima nisu pokazali uspješnost u liječenju metastatskog melanoma [121]. Neosporno je da pod utjecajem citotoksičnih lijekova dolazi do smanjenja tumora i, što je najvažnije, do smanjenja općih simptoma uzrokovanih diseminacijom melanoma, ali nema značajnog produženja preživljenja [121]. Međutim, ni drugi lijekovi (interleukin 2-IL-2) nisu dali osobite rezultate [122–126].

Velika očekivanja su bila od biokemoterapije, tj. kombinacije kemoterapeutika (cisplatin, vinblastin, dacarbazin) i imunoterapije (IL-2, interferon alfa 2b). Iako su prvi rezultati bili ohrabrujući, nije nađeno statističko značajno povećanje preživljenja [124].

Važno je spomenuti liječenje interferonom alfa 2b (IFN 2b) koje ima istaknuto mjesto u liječenju melanoma. U meta analizi [126] učinkovitosti IFN 2b, kojom je obrađeno 6000 bolesnika, nađeno je statistički značajno produženje intervala bez bolesti te povećanje petogodišnjeg preživljenja (reduciran rizik smrti za 3%). Posebna je prednost smanjenja smrtnosti zabilježena kod ulceriranih melanoma, ali nije zabilježena značajnost u visini doze kao ni u dužini primjene IFN 2b [126].

Izoliranu perfuziju ekstremiteta opisali su Creech i Krementz i sur. 1958. godine [127], a metoda je lokalne kemoterapije kojom se može primjeniti visoke doze kemoterapeutika u oboljeli ud. Izolirana perfuzija ekstremiteta pruža mogućnost lokalne kontrole bolesti u bolesnika sa satelitozom i "*in transit*"

metastazama na ekstremitetu, kod kojih nije moguća kurabilna resekcija i kako bi se izbjegla amputacija. Uz perfuziju ekstremiteta, upotrebljava se i blaža hipertermija od 39–40°C koja poboljšava djelovanje lijeka, a naziva se izolirana hipertermička perfuzija ekstremiteta. Kao lijek u terapiji izoliranom perfuzijom ekstremiteta upotrebljava se melfalan. Čimbenik nekroze tumora (tumor necrosis factor-TNF) dodaje se melfalanu kako bi se poboljšao potpuni odgovor na terapiju [128]. Izolirana infuzija ekstremiteta isprva je bila namijenjena bolesnicima s komorbiditetom, kao i starijim bolesnicima [129]. Kao lijekovi za izoliranu infuziju ekstremiteta koriste se melfalan i acitnomycin D. Rezultati liječenja izoliranom infuzijom ekstremiteta su usporedivi s rezultatima liječenja izoliranom perfuzijom ekstremiteta i nemaju utjecaja na preživljenje bolesnika s melanomom [127–131].

Melanomska cjepiva nisu uspješna u liječenju sistemskog melanoma, niti u slučajevima kada su kombinirani s imunostimulansima [132].

1.7 Svrha disertacije

Svaki pokušaj određivanja prognostičkih faktora u malignim tumorima baziran je na brojnim kompromisima nastalim nedovoljnim poznavanjem biologije tumora. Melanom nije iznimka pa je vrlo rano primijećeno da prognoza ovisi o veličini tumora. Nedostatak Clarkove klasifikacije [17] je u subjektivnoj procjeni patologa, kao i zanemarivanju veličine melanoma iznad razine kože. Breslow [19] je predložio objektivniju klasifikaciju na temelju mikrometarskog mjerenja debljine melanoma. Ipak, ne smijemo zanemariti da ni Breslowova klasifikacija nije idealna. Njezin osnovni nedostatak je zanemarivanje debljine kože različitih područja. Klasifikacija Saxbya i sur. [91] temelji se na omjeru debljine dermisa koji nije zahvaćen melanomom i debljine melanoma, a bolesnici s tanjim melanomom imali su i veću debljinu nezahvaćenog dermisa. Rezultati studije Saxbya i sur. pokazali su da je kod tankih melanoma (T1 i T2) omjer dermisa nezahvaćenog melanomom i debljine melanoma bolji prognostički pokazatelj u odnosu na stupnjevanje po Breslowu. Usprkos tome, ova se klasifikacija nije pokazala upotrebljivom u kliničkoj praksi.

Debljina kože tijela je vrlo varijabilna i varira od vrlo tanke kao na kapku i uški do vrlo debele na leđima i tabanu [1–4].

Osnovna je namjera ovog istraživanja da se u bolesnika s melanomom stadija I i II (T1–T4 N0 M0), uz mikrometarsko mjerenje melanoma po Breslowu, učini dodatno i mjerenje debljine kože (epidermisa i dermisa) oko tumora. U bolesnika s melanomom kože u stadiju I i II melanoma kože rutinski se izvodi biopsija sentinel limfnog čvora pa se prema nalazu sentinel limfnog čvora može odrediti prognostička vrijednost navedenih metoda.

Svrha dobivenih rezultata je dobivanje novog prognostičkog pokazatelja, omjera debljine melanoma i debljine kože kao novog prognostičkog pokazatelja koji bi bio točniji pokazatelj metastaza u limfnom čvoru od debljine melanoma. Prisutnost metastaze u limfnom čvoru najvažniji je prognostički pokazatelj te ima najveći utjecaj u preživljenju bolesnika s melanomom.

Do sada u literaturi nije opisano slično istraživanje, to jest uporaba omjera debljine melanoma i debljine kože kao prognostičkog faktora. Premda predložena studija ima neke sličnosti sa Saxbyevim istraživanjem baziranim na omjeru debljine dermisa koji nije zahvaćen melanomom i debljine melanoma, ono ne uzima u obzir različitu debljinu kože ljudskog tijela.

2. Hipoteza i cilj

2.1. Hipoteza

Odnos debljine melanoma i debljine kože kao pokazatelj metastaza u sentinel limfnom čvoru ima jednaku prognostičku vrijednost kao i debljina tumora mjerena po Breslowu na prisutnost metastaza u sentinel limfnom čvoru. Što je veći odnos debljine melanoma i debljine kože, veća je i učestalost metastaza u sentinel limfnome čvoru.

2.2. Cilj disertacije

Cilj ove disertacije je da se određivanjem omjera debljine melanoma i debljine kože definira prognostički pokazatelj koji bi bio vjerodostojniji za određene lokalizacije melanoma. Za stadije melanoma I i II primarni prognostički pokazatelj je debljina melanoma koja se određuje metodom po Breslowu. Mjerenje debljine po Breslowu ne uzima u obzir varijacije u debljini kože različitih regija tijela.

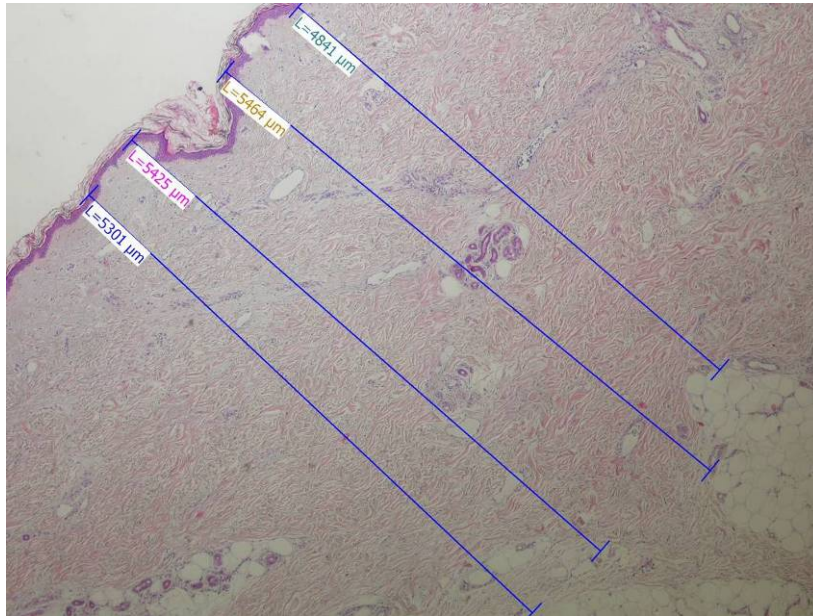
3. Bolesnici i metode

Istraživanje je provedeno na Klinici za plastičnu kirurgiju Kliničke bolnice «Dubrava» te na Odjelu za patologiju Kliničke bolnice «Dubrava» u Zagrebu.

U bolesnika sa sumnjom na melanomom, kliničkog stadija I i II, učinjena je ekscizijska biopsija u lokalnoj infiltracijskoj anesteziji (lidokain 2%). Eliptičnom ekscizijom oko melanoma sa slobodnim rubovima od 1–3 mm, učini se ekscizija melanoma pune debljine kože. Preparat se potom šalje na patohistološku analizu.

Patohistološka obrada preparata ekscidiranog kožnog melanoma učinjena je na Odjelu za patologiju Kliničke bolnice «Dubrava». Primljeni materijal se izmjeri, prvo dužina, širina i debljina uzorka, a potom dužina i širina tumora, a ako je tumor uzdignut iznad razine kože onda i njegova debljina. Potom se markiraju resekcijski rubovi. Fiksirani materijal se izreže na 2 mm debele rezove pri čemu se vodi računa da jedan rez ide kroz najdeblji dio tumora. Materijal se potom obradi standardiziranim histološkim tehnikama, nareže se na 4 µm debele rezove i oboji hemalaunom i eozinom. U patohistološki verificiranih melanoma u dijelu tumora pronađe se mjesto najdublje invazije koje se slika se digitalnom kamerom Olympus C-5050 pod povećanjem od 20×. Na rubovima preparata bez tumorske invazije također se s četiri mjesta slika se digitalnom kamerom pod povećanjem od 20× i okolna koža (slika 9). Nadalje, tijekom mikroskopiranja zabilježe se i dodatni prognostički pokazatelji, koji se standardno određuju za svaki melanom, kao što su: prisutnost ulceracije, tip rasta (radijalni ili vertikalni), mitotski indeks, histološki tip melanoma (površinsko šireći melanom, nodularni melanom, lentigo maligna

melanom, akralni lentiginozni melanom, dezmoplastični melanom), postojanje limfocitne infiltracije, opis histoloških rubova preparata, prisutnost vaskularne invazije, regresije te postojanje neurotropizma kod dezmoplastičnog neurotoropnog melanoma.



Slika 9. Mjerenje debljine kože

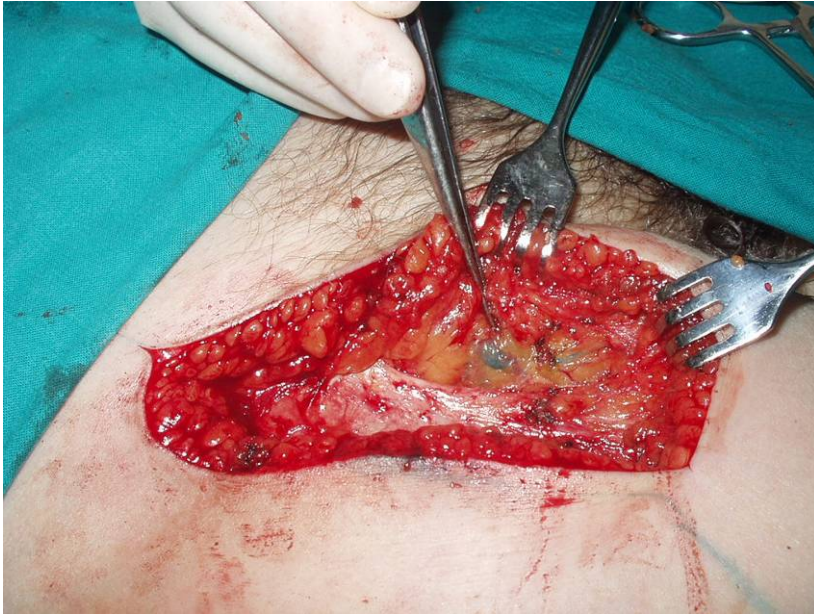
Mjerenje debljine melanoma određuje se od gornjega dijela zrnatog sloja epidermisa do najdubljeg dijela melanoma, a kod prisutne ulceracije od baze ulceracije do najdubljeg dijela melanoma. Mitotski indeks određuje se brojenjem mitozu po kvadratnome milimetru. Kako su mitoze najčešće lokalizirane u jednome dijelu tumora, na tom mjestu tumora počinje brojenje mitozu. Radijalna faza rasta opisuje melanome smještene unutar epidermisa, a dermalne tumorske nakupine su manje od epidermalnih i nema mitozu unutar dermalnih otočića tumora. Vertikalna faza rasta se opisuje kod melanoma kod kojih je prisutno više nakupina melanomskih stanica unutar dermisa, a najveća nakupina melanoma u dermisu je veća od najveće nakupine melanoma u

epidermisu, također, melanomske stanice u dermisu pokazuju proliferativnu aktivnost. Regresija se opisuje kod melanoma kada je tumorsko tkivo nadomješteno vezivnim tkivom, melanofagima, degenerativno promijenjenim melanocitima, limfocitnom infiltracijom i teleangiektazijama. Upalni odgovor melanoma se opisuje kod prisutnosti limfocita oko melanoma koji može biti difuzni, fokalni i odsutni. Vaskularna invazija se patohistološki definira kao prisutnost melanomskih stanica u lumenu krvnih žila, ali mora se izbjeći tumačenje artefakata kao vaskularne invazije. Zavijene žile i skvrčavanje patohistološkog preparata može artefaktno prikazati melanomske stanice u limfnim žilama. Neurotropizam se definira kao tumorsko širenje duž živca, dok perineuralno širenje tumora označava melanomsku infiltraciju živčanih vlakana.

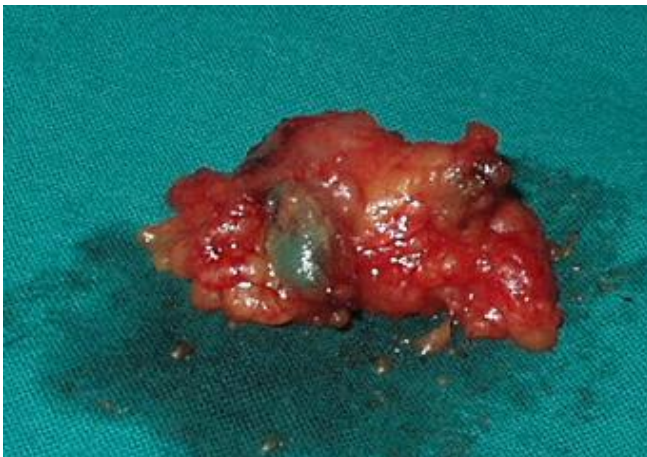
Nakon patohistološkog pregleda, digitalne snimke u JPEG formatu (Joint Photographic Experts Group) prebace se na računalo direktnom vezom digitalne fotokamere i računala preko kabla te se obrađuju u DP-Soft programskom paketu koji pruža mogućnost točnog mjerenja debljine kože i melanoma. Debljina melanoma se mjeri na digitalnoj snimci slikanoj pod povećanjem od 20× tako da se na najdebljem mjestu melanoma označi točkom zrnatog sloja i najdublji dio melanoma, a program automatski izračuna debljinu. Mjerenje kože se vrši na sličan način u DP-Soft programskom paketu. Digitalna snimka kože slika se pod povećanjem od 20×, na kojoj se jednom točkom obilježi zrnati sloj epidermisa, te drugom točkom granica dermisa i potkožnog masnog tkiva, a potom program automatski izračuna debljinu kože.

Bolesnici u kojih je postavljena dijagnoza melanoma (klinički stadij I i II) patohistološki nakon biopsije na gore opisan način, zaprimaju se na Kliniku za plastičnu kirurgiju Kliničke bolnice «Dubrava».

Nakon rutinske prijeoperacijske obrade bolesnika (kompletna krvna slika, koagulogram, biokemijski nalazi, elektrokardiogram, telerendgenogram srca i pluća), na dan operacijskog zahvata na Odjelu za nuklearnu medicinu Kliničke bolnice «Dubrava», limfoscintigrafski se određuje lokalizacija sentinel limfnog čvora. Prvo se oko ožiljka na koži na 4–6 mjesta intradermalno injicira Tehnecij 99 (Tc99) sumporni koloid (1 mCi/mL), potom se digitalnom gama kamerom prvih 10 minuta slika u intervalu po 10 sekundi, a zatim se dinamički dio snima u intervalu od 5 minuta do 30–40 minuta. Poslije limfoscintigrafije bolesnik se odvede u sobu za buđenje pred operacijskim dvoranama gdje se nakon pranja intradermalno oko ožiljka injicira vitalna boja (0,5–1 mL Lymphazurin-blue 1% vodena otopina). Mjesto oko kojeg je injicirano lagano se masira kako bi se potaknula limfna drenaža. Nakon prijeoperacijskog pranja i pokrivanja, u općoj endotrahealnoj anesteziji, učini se reekscizija ožiljka nastalog nakon ekscizijske biopsije tumora (ovisno o debljini melanoma s 1–3 cm širokim zdravim rubovima). Na mjestu gdje je sentinel limfni čvor označen na koži učini se incizija (tako da se može inkorporirati u inciziju potrebnu za eventualnu limfadenektomiju) te se uz pomoć gama detektora s ručnom sondom odredi sentinel limfni čvor kao čvor s 3× većom radioaktivnošću nego okolina (10× veća radioaktivnosti nego drugi limfni čvorovi određenog bazena). Sentinel limfni čvor plavkasto je najčešće obojan i vitalnom bojom (slika 10 i 11) te se i na taj način razlikuje od okoline i drugih limfnih čvorova (trostruko označavanje). Nakon ekstirpacije, limfni čvor se pošalje na intraoperacijsku "imprint" citologiju, a potom na patohistološki pregled. Ukoliko je nalaz "imprint" citologije pozitivan, učini se terapijska limfadenektomija.



Slika 10. Plavkasto obojena aferentna limfna žila i sentinel limfni čvor.

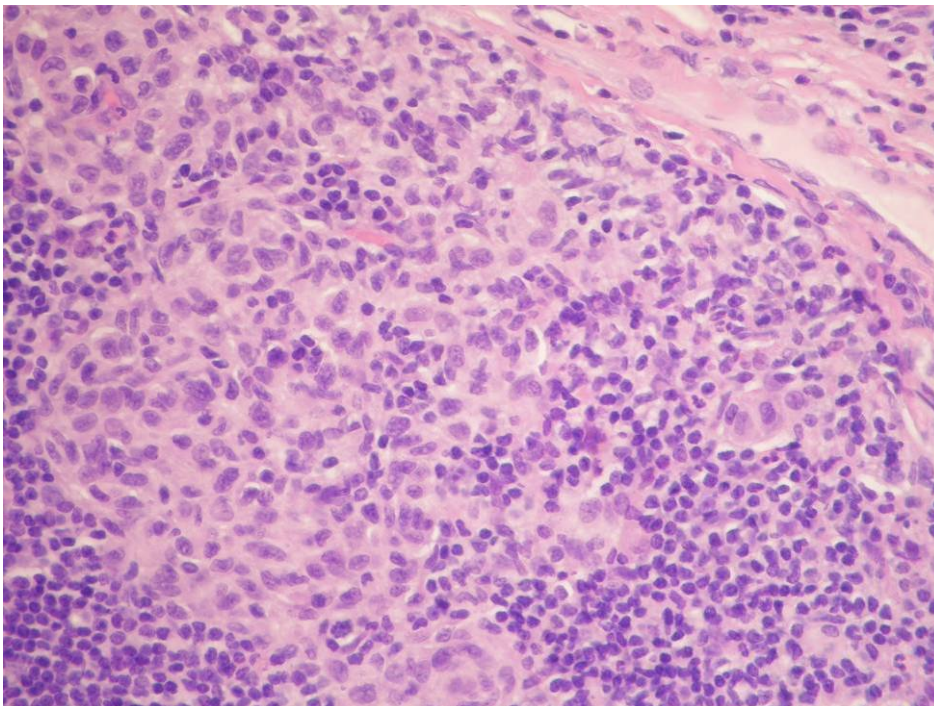


Slika 11. Plavkasto obojen sentinel limfni čvor u masnome tkivu

Patohistološka obrada preparata reekscidiranog ožiljka i sentinel limfnog čvora učinjena je na Odjelu za patologiju Kliničke bolnice «Dubrava». Prvo se preparati reekscidiranog ožiljka i sentinel limfnog čvora makroskopski opišu, a resekcijски rubovi markiraju. Materijal se obradi standardnim histološkim tehnikama, potom se oboji hemalaunom i eozinom. Mikroskopski preparati se

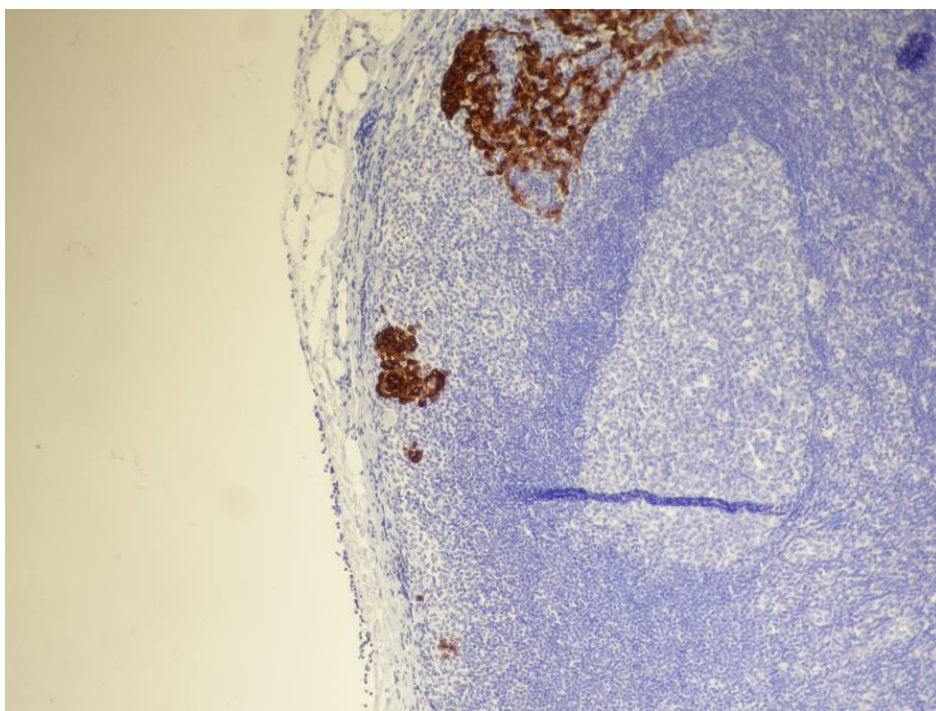
pregledavaju radi postojanja eventualnog rezidualnog melanoma. Patohistološki pregled sentinel limfnog čvora obuhvaća svjetlosno mikroskopsku analizu klasičnim bojenjem hemalaunom i eozinom te imunohistokemijsku analizu (S-100, HMB-45, Melan-A protutijelima) radi otkrivanja mikrometastaza (slika 12 i 13). Svaki sentinel limfni čvor izreže se na 2 mm debele odsječke koji se zasebno uklapaju u parafinske blokove. Iz svakog parafinskog bloka pregleda se 9 rezova, 6 obojenih hemalaunom i eozinom i 3 obojena imunohistokemijski (S-100, HMB-45, Melan-A) te opiše eventualna prisutnost metastaza ili mikrometastaza.

U slučaju prisutnosti mikrometastaza ili metastaza u sentinel limfnom čvoru bolesniku se, po dobivanju patohistološkog nalaza, učini limfadenektomija u zahvaćenoj regiji.



Slika 12. Tumorska nakupina u sentinel limfnom čvoru (hemalaun i eozin, 400×).

Za svakog bolesnika obrađivani su sljedeći podaci: prisutnost ulceracije, debljina melanoma po Breslowu, debljina kože, tip rasta, vaskularna invazija, patohistološki nalaz jednog ili više sentinel limfnih čvorova (prisutnost mikrometastaza ili metastaza). Za bolesnike u kojih je učinjena limfadenektomija, dodatno je zabilježen i patohistološki nalaz limfadenektomijskog preparata s brojem limfnih čvorova, prisutnost mikroskopskih ili makroskopskih metastaza i eventualna prisutnost konglomerata limfnih čvorova.



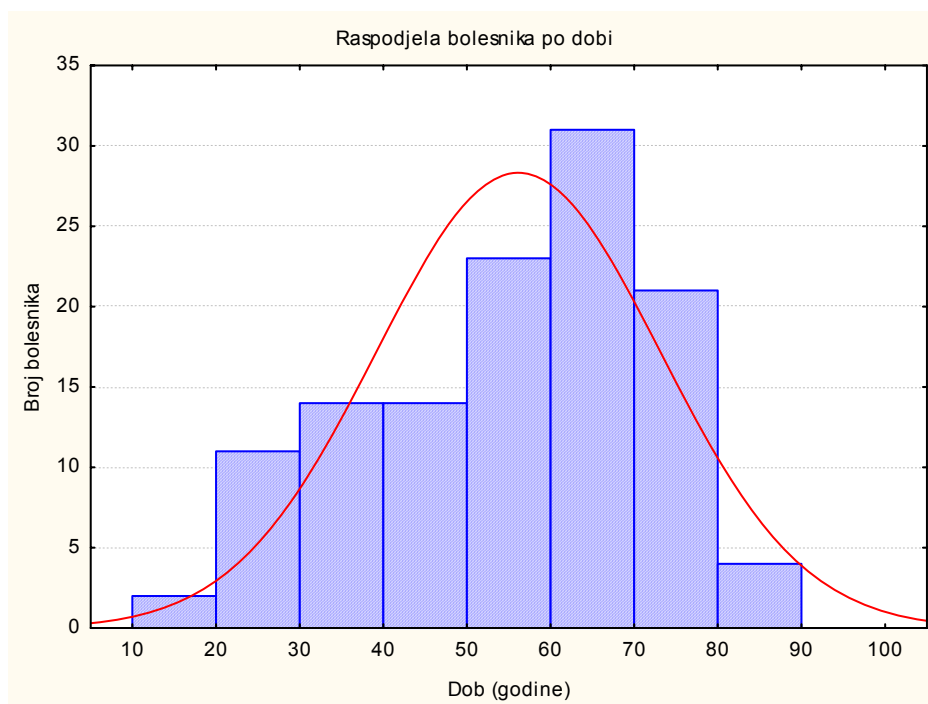
Slika 13. Mikrometastaza u sentinel limfnome čvoru (Melan A bojenje, 100×)

Brojčane varijable u istraživanju su prikazane u svojim originalnim mjerenjima, dok su kategoričke varijable u svrhu traženja pokazatelja binarizirane.

Statistička usporedba brojčanih pokazatelja prema skupinama binarnih varijabli učinjena je t-testom, a kategoričkih pokazatelja χ^2 testom. Utjecaj pokazatelja na metastaze u limfnom čvoru određivane su univarijatnom i multivarijatnom regresijskom analizom.

4. Rezultati

Od 2005. do 2009. godine u istraživanje je uključeno 120 bolesnika s melanomom liječenih na Klinici za plastičnu kirurgiju Kliničke bolnice "Dubrava". Od 120 bolesnika, 59 je muškaraca i 61 žena. Srednja vrijednost dobi svih bolesnika (slika 14) iznosi 55,9 godina (raspon 20–89 godina, medijan 58,0, SD 16,9). Srednja dob bolesnica je 54,9 godine (raspon 20–83, medijan 58,0, SD 17,3), a srednja dob bolesnika je 56,9 godina (raspon 20–89, medijan 59, SD 16,5). Nije bilo statistički značajne razlike između dobi bolesnica i bolesnika (t-test $p=0,53$).



Slika 14. Raspodjela bolesnika po dobi.

Lokalizacija melanoma u 120 bolesnika uključenih u istraživanje (slika 15) najčešće je uključivala trup i to u 61 bolesnika (50,8%), potom noge u 39 bolesnika (32,5%), dok je na rukama melanom nastao u 16 bolesnika (13,3%). Najrjeđe su liječeni bolesnici s melanomom u području glave i vrata kojih je bilo četiri (3,3%).



Slika 15. Raspodjela bolesnika prema lokalizaciji melanoma.

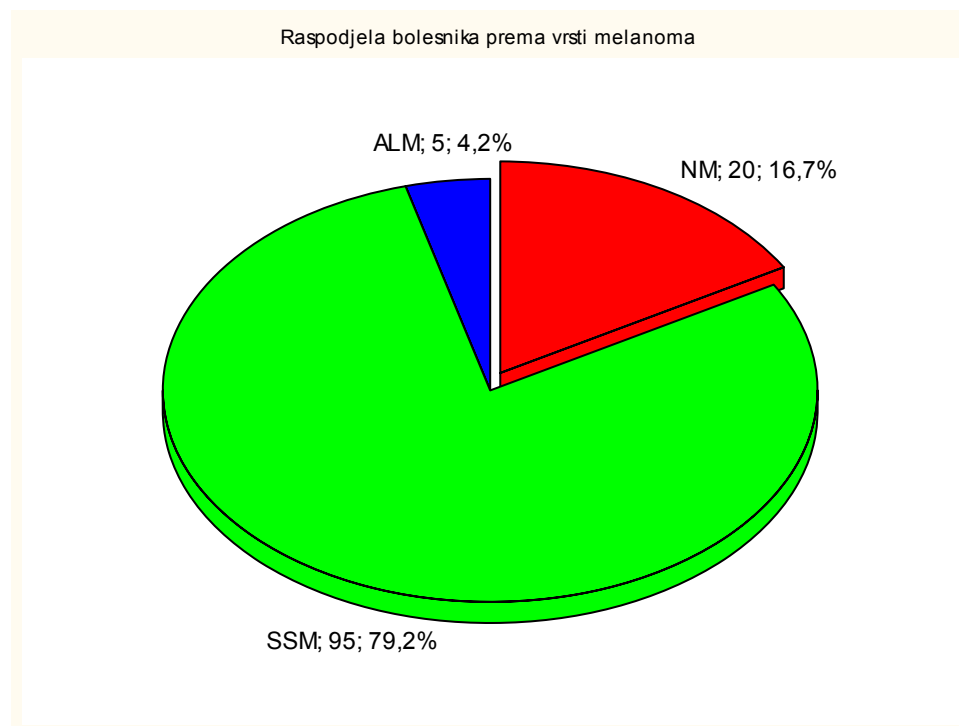
Najčešće sijelo melanoma u 36 bolesnika je trup (60,3%), dok je u 28 bolesnika najčešće sijelo melanoma noga (45,9%), a slijedi potom trup u 25 bolesnika (40,1%). Sijelo melanoma na rukama, glavi i vratu bilo je najrjeđe u oba spola. Postoji statistički značajna razlika u sijelu melanoma između

muškaraca i žena (χ^2 test $p=0,014$). Raspodjela lokalizacije melanoma u muškaraca i žena prikazana je u tablici 8.

Tablica 8. Raspodjela lokalizacije melanoma prema spolu (postoji statistički značajna razlika među spolovima, χ^2 test $p=0,014$)

Lokalizacija	Muškarci	Žene
Glava i vrat	3 (5,2%)	1 (1,6%)
Trup	36 (60,3%)	25 (40,0%)
Ruka	9 (15,5%)	7 (11,5%)
Noga	11 (18,0%)	28 (45,9%)

Najčešće zastupljen melanom je površinsko šireći melanom (SSM) u 95 bolesnika (79,2%), potom nodularni melanom (NM) u 20 bolesnika (16,7%), a najrjeđe je zastupljen akrolentiginozni melanom (ALM) u 5 bolesnika (4,2%) (slika 16).



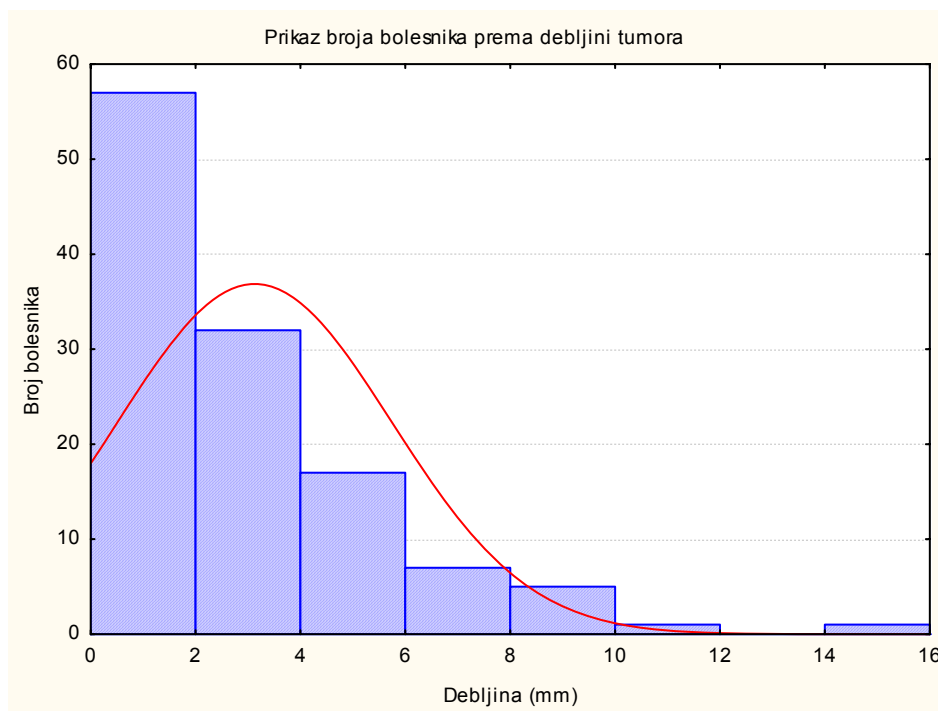
Slika 16. Raspodjela bolesnika prema vrsti melanoma.

Učestalost melanoma među spolovima ne razlikuje se (χ^2 test $p=0,62$), a najzastupljeniji melanom je površinsko šireći melanom u 81,0% muškaraca i 77,1% žena. Učestalost vrsta melanoma među spolovima prikazan je u tablici 9.

Tablica 9. Raspodjela vrste melanoma prema spolu

Vrsta melanoma	Muškarci	Žene
ALM	2 (3,5%)	3 (4,9%)
SSM	47 (81,0%)	47 (77,1%)
NM	9 (15,5%)	11 (18,0%)

U svih 120 bolesnika, srednja debljina melanoma iznosi 3,11 mm, (raspon 0,34–15, medijan 2,2 mm, SD 2,60) (slika 17). Razlika u debljini melanoma među spolovima nije statistički značajna (t-test $p=0,75$). Srednja debljina melanoma u 61 žene obuhvaćene istraživanjem je 3,04 mm (raspon 0,44–15, medijan 1,95, SD 3,07), a u 59 muškaraca 3,19 (raspon 0,44–9 medijan 2,8, SD 2,02).



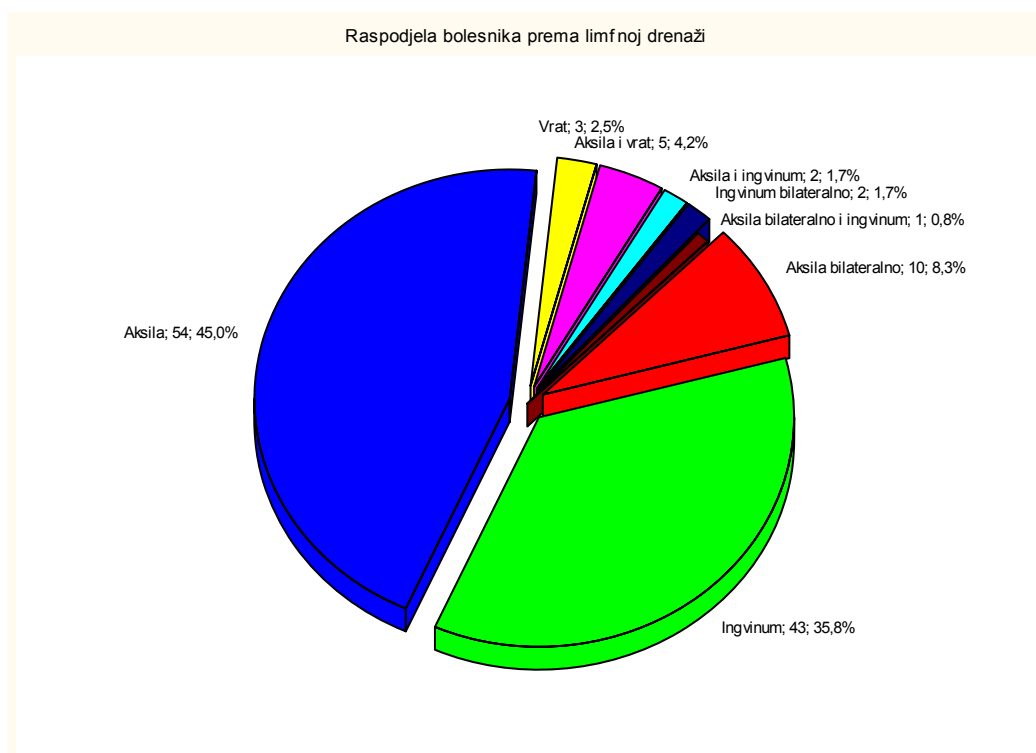
Slika 17. Prikaz broja bolesnika prema debljini tumora.

Od drugih prognostičkih pokazatelja obrađenih istraživanjem, ulceracija je prisutna u 40 bolesnika (33,3%), regresija melanoma je zamojećena u 2 bolesnika (1,7%), vaskularna invazija u 7 bolesnika (5,8%), limfocitna infiltracija tumora u 14 bolesnika (11,7%), a više od jedne mitoze po kvadratnom milimetru u 3 bolesnika (2,5%). Razlike među spolovima u prognostičkim pokazateljima nisu statistički značajne, a navedene su u tablici 10.

Tablica 10. Raspodjela prognostičkih pokazatelja prema spolu

Prognostički pokazatelji	Muškarci	Žene	χ^2 test
Ulceracija	20 (34,5%)	20 (32,8%)	p=0,90
Regresija	1 (1,7%)	1 (1,6%)	p=0,98
Angioinvazija	3 (5,2%)	4 (6,6%)	p=0,73
Upalni odgovor	5 (8,6%)	9 (14,7%)	p=0,28
Mitose	2 (3,5%)	1 (1,6%)	p=0,54

U 97 bolesnika (80,8%) bila je samo jedna regija u kojoj se nalazi sentinel limfni čvor, dok su u preostalih 23 bolesnika (19,2%) bile dvije ili više limfnih regija sa sentinel limfnim čvorom (slika 18).



Slika 18. Raspodjela bolesnika prema limfnoj drenaži.

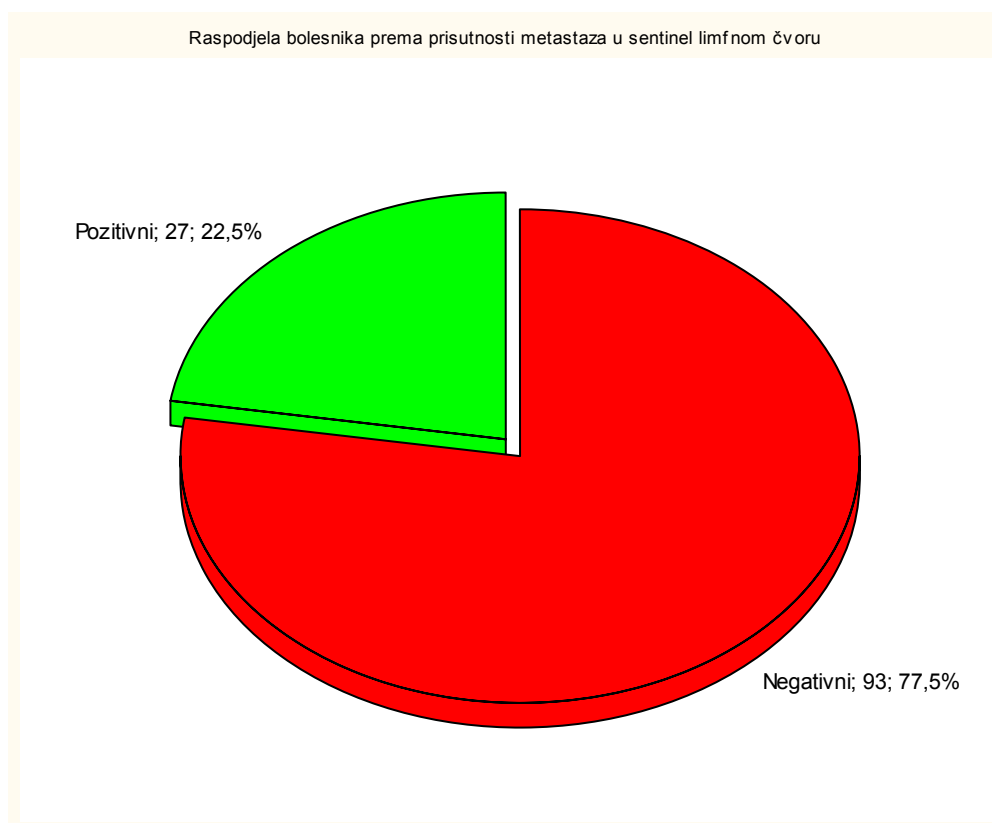
Kada se statistički usporedi raspodjela drenažnih limfnih regija između spolova, ne postoji statistički značajna razlika (χ^2 test $p=0,13$). U tablici 11. prikazane su učestalosti drenažnih limfnih regija. Vidljivo je kako je limfna drenaža u preponsku regiju znatno češće zastupljena u žena, stoga je provedena dodatna statistička analiza subgrupa koja je ukazala na značajnu razliku u broju limfnih regija prepona između muškaraca i žena (χ^2 test $p=0,0001$, korigirani $p<0,005$).

Tablica 11. Raspodjela bolesnika prema spolu i limfnoj drenaži.

Limfna regija	Muškarci	Žene	Ukupno
Vrat	2	1	3
Pazuh	33	21	54
Pazuh obostrano	6	4	10
Pazuh i vrat	3	2	5
Pazuh i prepona	1	1	2
Pazuh obostrano i prepona	0	1	1
Prepona	13	30	43
Prepone obostrano	1	1	2

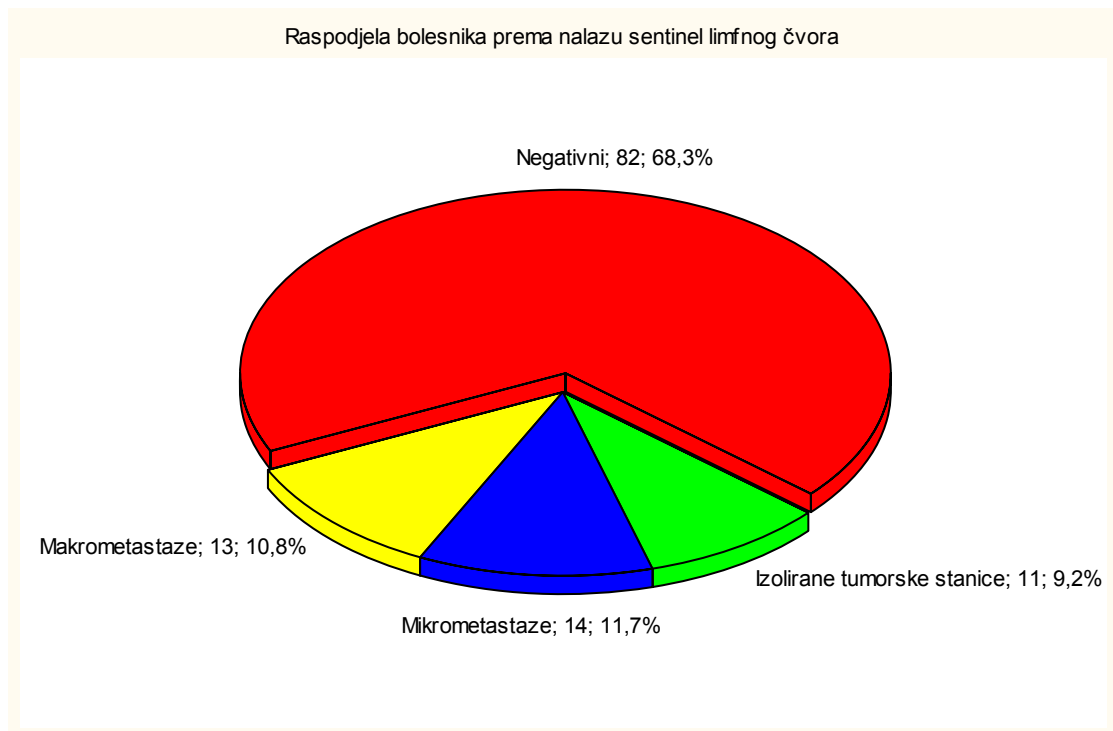
Ukupno je odstranjeno je 160 limfnih čvorova što je prosječno 1,61 limfnih čvorova po bolesniku (u prosjeku 1,38 limfnih čvorova kada je jedna limfna regija i 2,95 limfnih čvorova kod više limfnih regija). U prosjeku u muških bolesnika je odstranjeno 1,80 limfnih čvorova, u ženskih bolesnika 1,49 limfna čvora, no ne postoje statistički značajne razlike ($p=0,14$).

U 27 bolesnika (22,5%) u sentinel limfnom čvoru nalazila se metastaza (slika 19). U 11 bolesnica i 16 bolesnika sentinel limfni čvor bio je metastatski promijenjen. Ne postoji statistička razlika između broja sentinel limfnih čvorova između muškaraca i žena (t-test $p=0,14$).



Slika 19. Raspodjela bolesnika prema prisutnosti metastaza u sentinel limfnom čvoru.

Mikrometastaze su bile prisutne u 14 (11,7%) bolesnika (18 limfnih čvorova), makrometastaze u 13 bolesnika (10,8%), dok su izolirane tumorske stanice za koje se prema TNM klasifikaciji iz 2001. godine smatra da nisu metastaze, prisutne su u 11 (9,2%) bolesnika (u 12 limfnih čvorova) (slika 20).



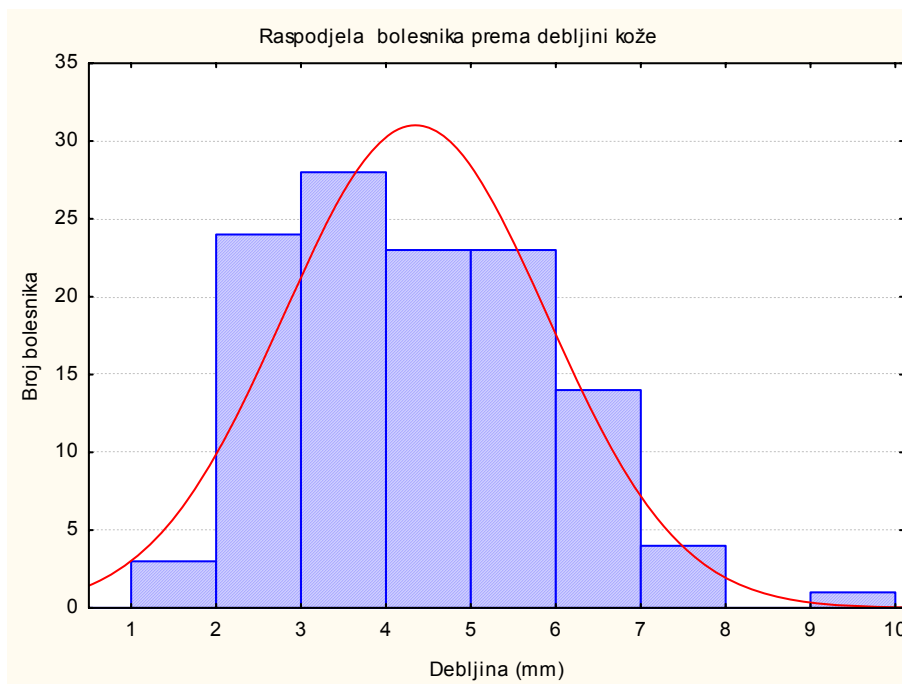
Slika 20. Raspodjela bolesnika prema nalazu sentinel limfnog čvora.

U 11 bolesnika je sentinel limfni čvor bio pozitivan, u 5 bolesnika bila je prisutna makrometastaza, a u 6 bolesnika mikrometastaza, dok su izolirane tumorske stanice bile prisutne u 8 bolesnika. Šesnaest bolesnika imalo je metastaze u sentinel limfnim čvorovima. U 8 bolesnika bile su prisutne makrometastaze, mikrometastaze su bile prisutne također u 8 bolesnika, a u 3 bolesnika nalazile su se izolirane tumorske stanice. Ne postoje statističke značajnosti u razlikama statusa sentinel limfnih čvorova između muških i ženskih bolesnika (χ^2 test $p=0,20$).

U 27 bolesnika učinjene su limfadenektomije (15 u području pazuha i 15 u području prepone), kod svih bolesnika s mikrometastazama i makrometastazama. U 3 bolesnika učinjena je limfadenektomija dviju limfnih regija (u dva bolesnika obostrana ingvinalna limfadenektomija i u jednog

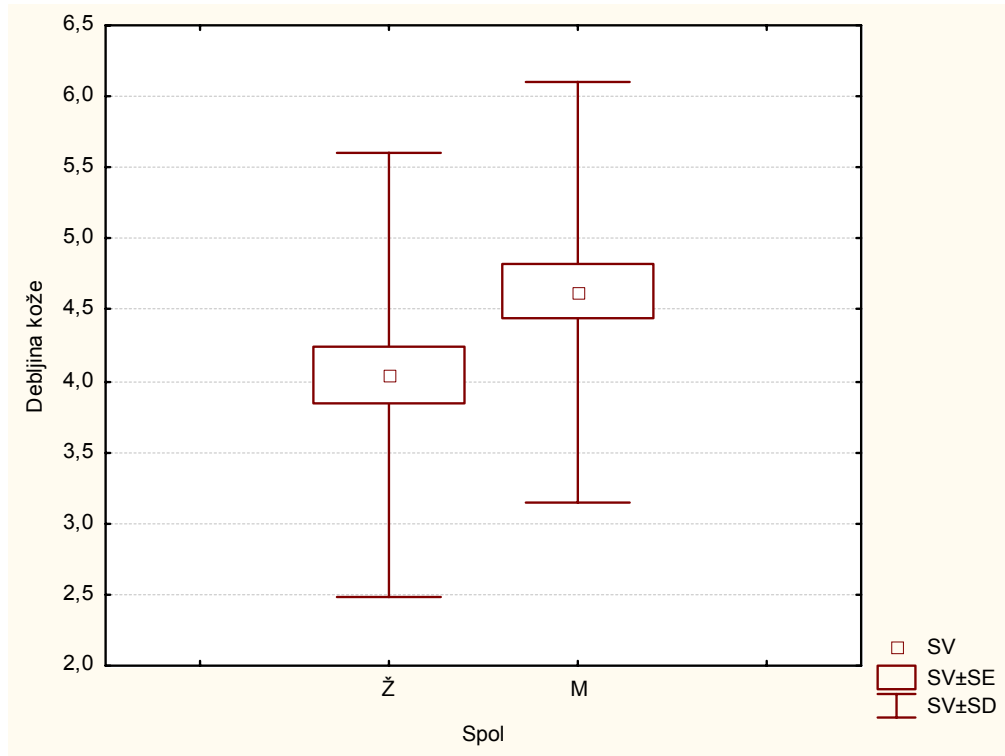
bolesnika obostrana pazušna limfadenektomija). U disektatima limfnih čvorova nađeno je ukupno 222 limfna čvora, 133 limfna čvora izolirano je iz masnog tkiva aksila, a 89 limfnih čvorova izolirano je iz masnog tkiva ingvinuma. U samo jednome limfnom čvoru izoliranom iz aksila bila je prisutna metastaza, dok su u 3 ingvinalna disektata nađene metastaze u 5 limfnih čvora (u dva bolesnika po dva limfna čvora sadržavala su metastaze, a u jednoga bolesnika jedan limfni čvor je sadržavao metastazu).

Debljina kože je najviše varirala. Prosječna debljina kože u bolesnika iznosila je 4,33 mm (raspon 1,67–9,62, medijan 4,06 mm, SD 1,54) (slika 21). U muškaraca prosječna debljina kože iznosila je 4,63 mm (raspon 2,17–7,66, medijan 4,30 mm, SD 1,48), dok je u žena srednja debljina kože bila 4,04 (raspon 1,67–9,62, medijan 3,90 mm, SD 1,56).



Slika 21. Raspodjela bolesnika prema debljini kože

Koža je statistički značajnije deblja u muškaraca (t-test $p=0,03$), a grafički je prikazana na slici 22.



Slika 22. Razlika u debljini kože u muškaraca i žena.

Tablica 12 i 13 prikazuju moguće pokazatelje na prisutnost metastaza u sentinel limfnom čvoru.

Tablica 12. Razlika vrijednosti prognostičkih pokazatelja između grupa bolesnika s pozitivnim i negativnim sentinel limfnim čvorom (brojčane varijable)

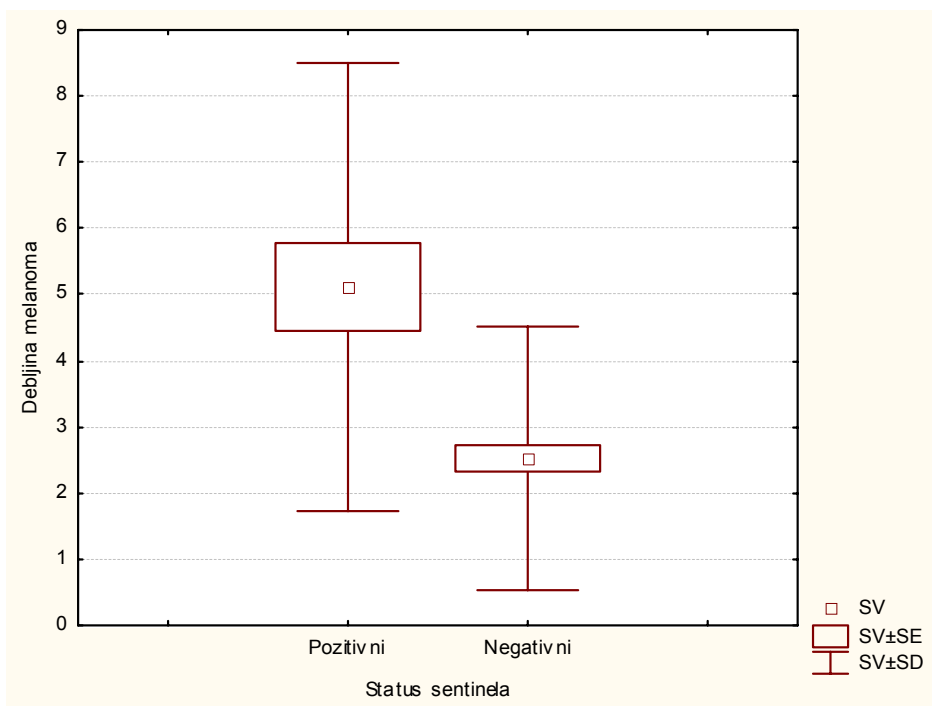
Prognostički pokazatelj	Sentinel limfni čvor pozitivni (srednje vrijednosti)	Sentinel limfni čvor negativni (srednje vrijednosti)	T vrijednost u t-testu	p
Dob	55,78	55,92	-0,04	0,96
Debljina melanoma	5,11	2,53	4,98	0,000002
Debljina kože	4,63	4,24	1,15	0,25
Odnos debljine melanoma i debljine kože	1,22	0,66	4,13	0,000067

Tablica 13. Povezanost prognostičkih pokazatelja na metastaze u sentinel limfnom čvoru (kategoričke varijable)

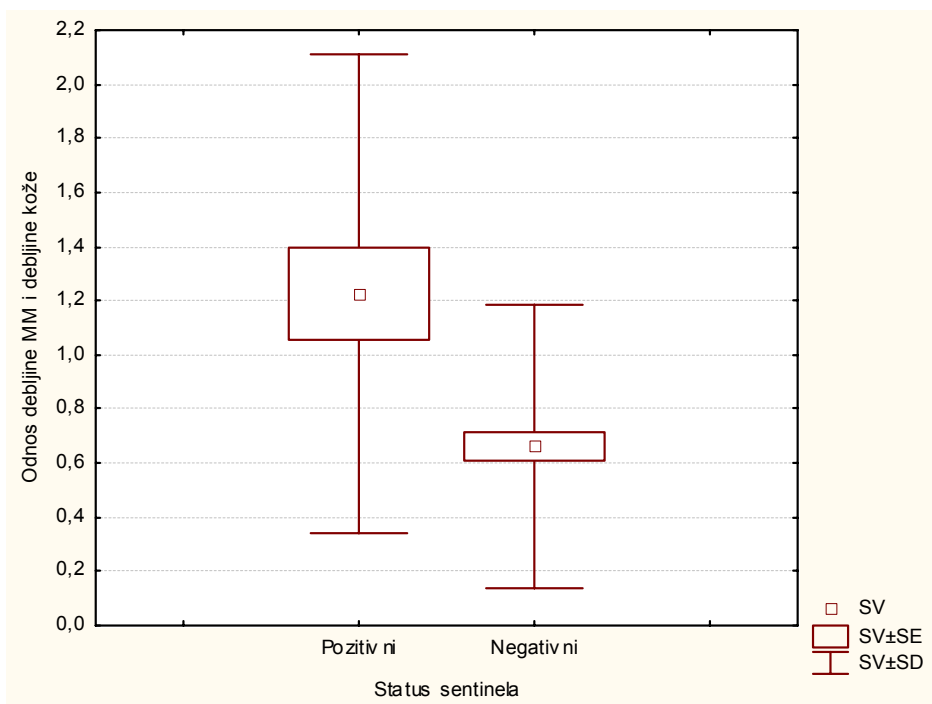
Prognostički pokazatelj		Broj negativnih sentinel limfnih čvorova	Broj pozitivnih sentinel limfnih čvorova	χ^2 vrijednost u χ^2 testu	p
Spol	M	43	16	1,42	0,23
	Ž	50	11		
Regija melanoma	Trup	44	17	7,04	0,07
	Noga	29	10		
	Ruka	16	0		
	Glava i vrat	4	0		
Vrsta melanoma	NM	12	8	4,43	0,22
	SSM	77	18		
	ALM	4	1		
Ulceracija*	+	25	15	7,74	0,005
	-	68	12		
Regresija*	+	2	0	0,59	0,44
	-	91	27		
Angioinvazija*	+	4	3	1,77	0,18
	-	89	24		
Upalni odgovor*	+	12	2	0,61	0,43
	-	81	25		
Prisutnost mitozā*	+	2	1	0,21	0,65
	-	91	26		

* + prisutna/pozitivna; - odsutna/negativna

Od svih praćenih pokazatelja melanoma kao najbolji pokazatelj metastaza u sentinel limfnom čvoru pokazali su se debljina melanoma ($p=0,000002$) (slika 23), odnos debljine (slika 24) melanoma i debljine kože ($p=0,000067$) te ulceracija melanoma ($p=0,05$).



Slika 23. Razlika u debljini melanoma u pozitivnih i negativnih sentinel limfnih čvorova.



Slika 24. Razlika u odnosu debljine melanoma i debljine kože u pozitivnih i negativnih sentinel limfnih čvorova.

Kako bi se dobile jednake grupe, 120 bolesnika je podijeljeno prema vrijednostima debljine kože u 33,33 i 66,67 centili te je razdijeljeno na sljedeće vrijednosti: grupa 1 bolesnika debljine kože do 3,54 mm, grupa 2 od 3,55 mm do 5,05 mm, grupa 3 veće od 5,06 mm. U svakoj grupi obuhvaćeno je 40 bolesnika.

Između tri grupe nije bilo statistički značajne razlike u raspodjeli među spolovima, u debljini melanoma, vrsti melanoma, prisutnosti ulceracije, regresije, angioinvazije, upalnog odgovora i prisutnosti mitoze te statusu sentinel limfnog čvora (tablica 14).

Tablica 14. Distribucija različitih pokazatelja između grupa.

		Grupa 1	Grupa 2	Grupa 3
Dob	SV	57,98	55,72	53,98
	SD	16,14	16,87	17,83
	Raspon	21–85	21–89	20–88
Debljina melanoma	SV	2,81	3,05	3,48
	SD	2,17	2,28	3,23
	Raspon	0,44–9	0,34–11	0,7–15
Spol	M	15 (37,5%)	22 (55,0%)	22 (55,0%)
	Ž	25 (62,5%)	18 (45,0%)	18 (45,0%)
Regija melanoma	Glava	3 (7,5%)	1 (2,5%)	0
	Trup	1 (2,5%)	27 (67,5%)	33 (82,5%)
	Ruka	10 (25,0%)	4 (10,0%)	2 (5,0%)
	Noga	26 (65,0%)	8 (20,0%)	5 (12,5%)
Vrste melanoma	SSM	29 (72,5%)	33 (82,5%)	33 (82,5%)
	NM	8 (20,0%)	6 (15%)	6 (15,0%)
	ALM	3 (7,5%)	1 (2,5%)	1 (2,5%)
Prognostički pokazatelji melanoma	Ulceracija	18 (45,0%)	9 (22,5%)	13 (32,5%)
	Regresija	1 (2,5%)	0	1 (2,5%)
	Angioinvazija	2 (5,0%)	1 (2,5%)	4 (10,0%)
	Upalni odgovor	7 (17,5%)	3 (7,5%)	4 (10,0%)
	Mitoze	2 (5,0%)	1 (2,5%)	0
Status sentinel limfnog čvora	Izolirane tumorske stanice	1 (2,5%)	3 (7,5%)	7 (17,5%)
	Mikrometastaza	4 (10,0%)	6 (15,0%)	4 (10,0%)
	Makrometastaza	1 (2,5%)	6 (15,0%)	6 (15,0%)

Obzirom da su grupe razvrstane prema debljini kože, među grupama je uočena statistički značajna razlika u zastupljenosti regija melanoma (χ^2 test $p=0,000001$), drenažnim limfnim regijama sentinel limfnog čvora (χ^2 test $p=0,0002$) te omjeru debljine melanoma i debljine kože, i to između grupe 1. i grupe 3. ($p=0,005$). Između tri grupe bolesnika ne postoji statistički značajna razlika u prisutnosti metastaza u limfnom čvoru (χ^2 test $p=0,16$).

Kako bi se definirali pokazatelji pojave metastaza u sentinel limfnom čvoru provedena je i univarijatna logistička regresija svih 120 bolesnika kao i svake grupe bolesnika. U 120 bolesnika univarijatnom logističkom regresijom određeni su statistički značajni pokazatelji pojave metastaza u sentinel limfnom čvoru. Pokazatelji su: debljina melanoma ($p=0,00001$), odnos debljine melanoma i debljine kože ($p=0,0002$) i ulceracija ($p=0,006$), dok dob, spol, debljina kože, regresija, angioinvazija, upalni odgovor, mitotski indeks nemaju prognostički utjecaj. Omjer vjerojatnosti za debljinu melanoma iznosi 1,44, za odnos debljine melanoma i debljine kože 3,24, a za ulceraciju 3,40. Podaci univarijatne analize sažeti su u tablici 15.

Tablica 15. Univarijatna logistička regresija za pokazatelje metastaze u sentinel limfnom čvoru.

N=120	Faktor regresije	Omjer vjerojatnosti	p=
Spol	0,52	1,69	0,23
Dob	-0,0005	0,99	0,97
Debljina melanoma	0,36	1,44	0,00001
Debljina kože	0,16	1,17	0,25
DM/DK*	1,18	3,24	0,00022
Ulceracija	1,22	3,40	0,007
Regresija	-26,26	0,00	0,31
Angioinvazija	1,02	2,78	0,22
Upalni odgovor	-0,62	0,54	0,41
Prisutnost mitoza	0,56	1,75	0,66

*DM/DK-omjer debljine melanoma i debljine kože

Univarijatnom logističkom regresijom analizirani su i podaci za sve tri grupe bolesnika. Statistički značajni pokazatelj za metastaze u sentinel limfnom čvoru u sve tri grupe je debljina melanoma (grupa 1 $p=0,01$; grupa 2 $p=0,09$, grupa 3 $P=0,01$) i odnos debljine melanoma i debljine kože (grupa 1 $p=0,002$; grupa 2 $p=0,008$, grupa 3 $p=0,02$). U grupi 3 dodatni pokazatelj i ulceracija melanoma ($p=0,004$). Podaci univarijatne logističke regresije po grupama sažeti su u tablici 16.

Tablica 16. Univarijatna logistička regresija za pokazatelje metastaze u sentinel limfnom čvoru prema grupama.

		Faktor regresije	Omjer vjerojatnosti	p=
Spol	Grupa 1	1,06	2,87	0,28
	Grupa 2	0,19	1,21	0,78
	Grupa 3	0,27	1,31	0,71
Dob	Grupa 1	0,01	1,01	0,69
	Grupa 2	-0,01	0,98	0,61
	Grupa 3	0,008	1,00	0,69
Debljina melanoma	Grupa 1	0,51	1,67	0,01
	Grupa 2	0,43	1,54	0,009
	Grupa 3	0,28	1,32	0,01
Debljina kože	Grupa 1	-0,41	0,66	0,67
	Grupa 2	0,21	1,24	0,79
	Grupa 3	0,04	1,04	0,91
DM/DK*	Grupa 1	1,86	6,41	0,002
	Grupa 2	1,84	6,27	0,008
	Grupa 3	1,40	4,06	0,02
Ulceracija	Grupa 1	1,79	6,0	0,08
	Grupa 2	0,83	2,30	0,29
	Grupa 3	2,23	9,33	0,004
Regresija	Grupa 1	-25,20	0,00	0,60
	Grupa 2	0,10	1,11	1,0
	Grupa 3	-23,17	0,00	0,44
Angioinvazija	Grupa 1	2,14	8,50	0,18
	Grupa 2	-24,46	0,00	0,39
	Grupa 3	1,25	3,50	0,25
Upalni odgovor	Grupa 1	0,19	1,20	0,88
	Grupa 2	-27,09	0,00	0,13
	Grupa 3	0,00	1,00	1,00
Prisutnost mitoza	Grupa 1	2,14	8,5	0,18
	Grupa 2	-25,09	0,00	0,39
	Grupa 3	0,10	1,00	1,00

*DM/DK-omjer debljine melanoma i debljine kože

Multivarijatnom logističkom regresijom je analizirana prisutnost metastaza u sentinel limfnom čvoru, a kao pokazatelji uzeti su: debljina melanoma, odnos debljine melanoma i debljine kože te ulceracija. Ti su

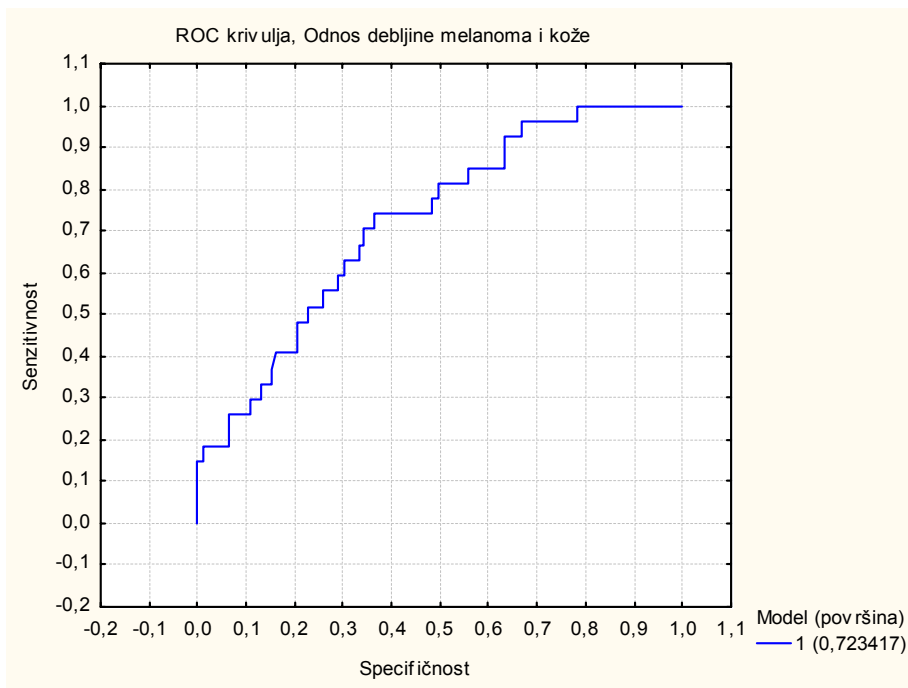
pokazatelji u univarijatnoj logističkoj regresiji bili statistički značajni pokazatelji. Rezultati multivarijatne logističke regresije ukazuju da debljina melanoma, kao i omjer debljine melanoma i debljine kože te ulceracija nisu statistički značajni pokazatelji metastaza u sentinel limfnom čvoru u 120 bolesnika obuhvaćenih istraživanjem, kao niti u tri subgrupe bolesnika. Podaci multivarijatne logističke regresije sažeti su u tablici 17.

Tablica 17. Rezultati multivarijatne logističke regresije za pokazatelja metastaze u sentinel limfnom čvoru.

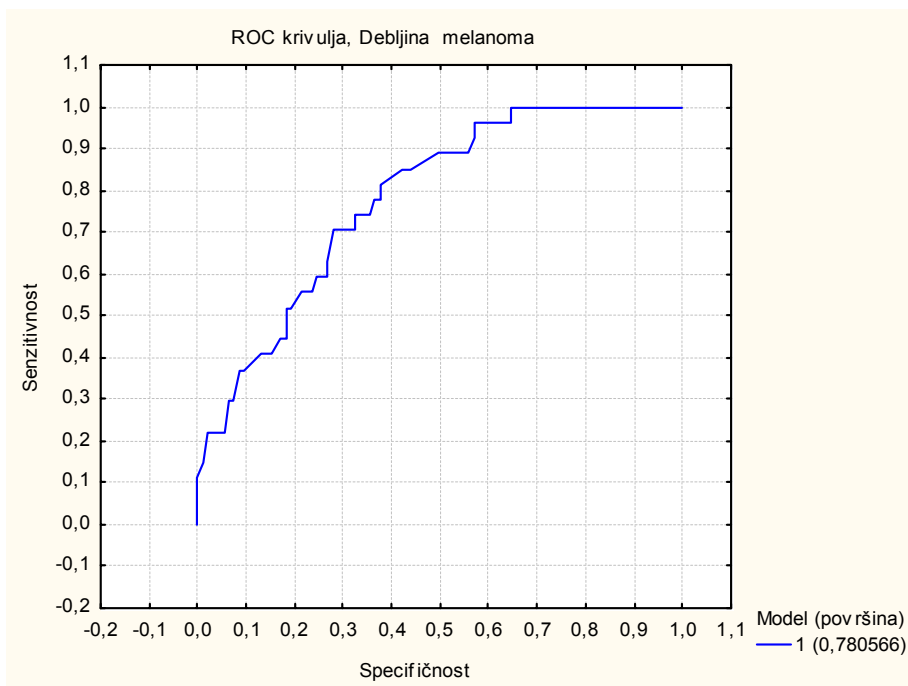
	Debljina melanoma	DM/DK*	Ulceracija
Svi bolesnici (N-120)	p=0,055	p=0,996	p=0,593
Grupa 1 (N-40)	p=0,206	p=0,055	p=0,213
Grupa 2 (N-40)	p=0,986	p=0,710	p=0,957
Grupa 3 (N-40)	p=0,143	p=0,169	p=0,112

*DM/DK-omjer debljine melanoma i debljine kože

Kako bi se dodatno analizirala specifičnost i senzitivnost omjera debljine melanoma i debljine kože prema debljini melanoma, izrađena je ROC krivulja (ROC - Receiver Operating Characteristic), koja pokazuje da je površina pod krivuljom za omjer debljine melanoma i debljine kože 0,723, a površina ispod ROC krivulje za debljinu melanoma 0,781. To ukazuje da je debljina melanoma nešto bolji pokazatelj metastaze u sentinel limfnom čvoru (slika 25 i 26).



Slika 25. ROC krivulja za omjer debljine melanoma i debljine kože.



Slika 26. ROC krivulja za debljinu melanoma.

5. Rasprava

Jedan od važnih prognostičkih pokazatelja melanoma je **spol**, a za ženski spol se navodi da ima bolju prognozu [88, 90]. U provedenom istraživanju podjednaka je raspodjela među spolovima (M-59, Ž-61), nema razlike između spolova: u dobi, debljini tumora, vrsti tumora, dok postoje statistički značajne razlike u lokalizaciji tumora i debljini kože. Većina radova navodi da je incidencija melanoma u muškaraca veća nego u žena [133–135]. U MSLT-1 studiji [105] sudjelovalo je 1269 bolesnika, odnosno 721 muškarac i 548 žena. U radu Kruper i sur. 2006. godine [136] od 251 bolesnika žena je bilo 128 a muškaraca 123. U studiji Gimottyja i sur. [137] desetogodišnje preživljenje žena bilo je 75% a muškaraca 61%. Također, ukazano je da žene imaju 0,71 rizik umiranja od melanoma u 5 godina u odnosu na muškarce [138]. U studiji na 5093 bolesnika s melanomom ženski spol je na multivarijatnoj analizi pokazivao bolje preživljenje [139]. Razlika u preživljenju između spolova objašnjava se time da žene prilikom postavljanja dijagnoze imaju manju debljinu melanoma [137], da je češće melanom lokaliziran na udovima [138] i da se u žena melanom dijagnosticira u mlađoj dobi [138]. Ne postoji razlika u preživljenju između spolova kod melanoma tanjih od 1 mm [140].

Dob bolesnika u ovome istraživanju je u prosjeku 55,9 godina, medijan 58 godina (M-56,9, medijan 59, Ž-54,9, medijan 58), što je nešto viša dob od dobi opisane u literaturi. I dob je prognostički pokazatelj, a prognoza starijih bolesnika (iznad 60 godina) se smatra lošijom od prognoze mlađih bolesnika [89]. U objavljenim istraživanjima dob bolesnika iznosi od 47 do 54 godina što je nešto niža dob od dobi iz provedene studije [105, 133, 134, 141]. U talijanskoj

studiji s 428 bolesnika dob iznad 60 godina bila je povezana s većim rizikom smrti od melanoma u odnosu na bolesnike mlađe od 60 godina [142]. U Švedskoj u 10 godina primijećeno je da bolesnici stariji od 50 godina imaju povećan rizik od smrti od melanoma za 1,59 puta [138]. Bolesnici stariji od 65 godina imali su petogodišnje preživljenje 55%, a mlađi od 65 godina 65% [143]. Studija na 3076 bolesnika [144] pokazala je da se povećanjem dobi povećava i debljina melanoma, učestalost ulceracije melanoma, učestalost regresije melanoma i udio muških bolesnika.

Najveće je proturječje u **debljini kože**. U literaturi se spominje debljina kože od 1,5 do 4 mm [1, 3]. U prijavi disertacije raspodjela prema grupama je zamišljena prema debljini kože, a vrijednosti su temeljene na literaturnim podacima (1,5–4 mm). Iz dosadašnjih podataka vidljivo je kako nije bilo moguće grupirati bolesnike kako je to navedeno u prijavi teme disertacije (grupa 1 regija tanke kože do 1,50 mm; grupa 2 regija intermedijarne debljine kože 1,51–2,50 mm; grupa 3 regija debele kože >2,50 mm). Mjerenjima debljine kože dobivene su vrijednosti od 1,67 mm do 9,62 mm, srednje vrijednosti 4,32 mm, a muškarci su imali statistički značajnije deblju kožu ($p=0,03$). U radu Donalda Barkera iz 1951. godine, histološki je mjerena debljina kože na četiri kadavera, a debljine kože su od najtanje na kapku 0,33 mm do najdeblje 2,43 mm na gornjem dijelu leđa [145]. Histološka mjerenja kože izvršena su na 452 uzorka iz 28 regija kod korejskih muškaraca i žena, a debljina kože je varirala od 0,521 mm do 1,977 mm [146]. Nadalje, opisivane su i debljine kože mjerene ultrazvučno 3 cm ispod trohantera, a iznosile su u prosjeku 1,99 mm [147]. Ultrazvučna mjerenja su vršena i na nekoliko različitih regija. U istraživanju Laurenta i sur. 2007. godine [148] debljina kože je iznosila u prosjeku na natkoljenici (1,55 mm), struku (1,91

mm), deltoidu (2,02 mm) i na leđima supraskapularno (2,54 mm). U radu Hasanzadeha i sur. 2008. godine [149] ultrazvučno je mjerena debljina kože kažiprsta (2,02 mm) i malog prsta šake (1,76 mm). Mamografskim mjerenjem debljine kože dojki utvrđena je debljina kože 0,5–3,1 mm [2]. Na debljinu kože utječu: hormonska nadomjesna terapija koja povećava debljinu kože [147], djelovanje ultraljubičastog zračenja povećava debljinu kože za 10–30% [150], dok se debljina kože smanjuje starenjem [2].

Jedan od važnih prognostičkih pokazatelja je i **lokalizacija melanoma**. U ovoj je studiji melanom bio najčešće lokaliziran na trupu (61/120) a najrjeđe na glavi i vratu (4/120). Lokalizacija melanoma na udovima ima bolju prognozu u odnosu na lokalizaciju melanoma na trupu, ali se analiza lokalizacija nije pokazala kao neovisan prognostički pokazatelj [151]. Istraživanje na 298 bolesnika pokazalo je da su melanomi lokalizirani na trupu povezani s negativnim pokazateljima preživljenja kada su grupirani prema debljini melanoma [152]. Neka istraživanja također su pokazala da melanomi lokalizirani distalno na ekstremitetima imaju lošiju prognozu od proksimalnije lokaliziranih melanoma. U radu Hsueha i sur. 1999. godine desetogodišnje preživljenje melanoma na stopalu bilo je 66%, a natkoljenice 95% [153]. U kontroliranoj studiji na 357 bolesnika s melanomima potkoljenice i stopala odgovarajuće raspodjele po debljini melanoma, ulceraciji i spolu, desetogodišnje preživljenje melanoma lokaliziranih na potkoljenici je 77,2%, a melanoma lokaliziranih na stopalu iznosi 63,6% [154]. Melanomi lokalizirani na glavi i vratu imaju lošiju prognozu od ostalih lokalizacija melanoma s desetogodišnjim preživljenjem 68–76,1% u odnosu na ostale lokalizacije melanoma koje imaju desetogodišnje preživljenje 83–92,1% [142, 155–157].

Bolesnici s melanomom na glavi imaju 1,84 puta veći rizik od smrti u odnosu na melanome ostalih lokalizacija [156]. Druge studije nisu uspjele pokazati razliku u preživljenju različitih lokalizacija melanoma, a posebice kada je ujednačena i kontrolirana debljina melanoma. Univarijatna analiza lokalizacije melanoma na udovima imala je bolje preživljenje, ali multivarijatna analiza nije pokazala statističke značajnosti u preživljenju što je opisano u istraživanju Balzia i sur. na 428 bolesnika [142]. U studiji Nagorea i sur. iz 2005. godine [158] na 823 bolesnika ukazano je da lokalizacija melanoma na udovima u usporedbi s lokalizacijom melanoma na glavi i vratu ima bolje preživljenje bez znakova bolesti, dok je ukupno preživljenje isto.

Najčešći **tip melanoma** u disertaciji bio je površinsko šireći melanom (SSM) u 79,2% bolesnika, potom nodularni melanom (NM) u 16,7%, a najrjeđi je bio akrolentiginozni melanom (ALM) u 4,2% slučajeva. To odgovara raspodjeli melanoma iz literature, gdje je učestalost SSM u 70–80 %, NM u 15–30% te ALM u 2–8% [69, 70, 132]. Crocetti i sur. su 2006. godine [159] nakon obrade podataka 1403 bolesnika utvrdili da NM ima veći rizik petogodišnje smrtnosti u odnosu na SSM. Istraživanje na 124 bolesnika u Japanu [160] pokazalo je da SSM ima najslabije petogodišnje preživljenje (51%), dok najlošije desetogodišnje preživljenje ima NM (36%) [160]. Kada su se podaci razvrstali u odnosu na debljine SSM je imao najlošiju prognozu. Druga istraživanja nisu pokazala razliku preživljenja u odnosu na subtipove melanoma [88–90]. Razlika u preživljenjima u odnosu na subtipove moguća je zbog različitih kriterija klasificiranja melanoma [161].

Najvažniji prognostički pokazatelj melanoma je **debljina melanoma** kada nisu prisutne limfne metastaze [88–90]. U provedenome istraživanju, prosječna

debljina melanoma u bolesnika je 3,11 mm (medijan 2,2 mm), dok se debljina nije značajno razlikovala između spolova (Ž-3,03 mm medijan 1,95 mm M- 3,19 mm medijan 2,8 mm). Debljina melanoma je statistički značajni pokazatelj metastaza u sentinel limfnome čvoru, dok multivarijatnom analizom nije imao statističku značajnost. U Breslowovom radu iz 1970. [19] preživljenje bolesnika s melanomom tanjim od 0,75 mm bilo je 100% dok u bolesnika s melanomom debljim od 3 mm bilo je 22,2%. Istraživanje na 548 bolesnika s melanomom pokazalo je da je debljina melanoma jedna od dvije varijable (mitotski indeks je druga varijabla) koje imaju najznačajniji prognostički značaj u preživljenju od melanoma [162]. Rousseau i sur. objavili su istraživanje [163] 2003. godine na 1375 bolesnika, s rezultatima da je debljina melanoma dominantni pokazatelj predviđanja metastaze u sentinel limfnom čvoru. Incidencija metastaza u sentinel limfnom čvoru u melanoma tanjih od 1 mm je 4%, za melanome debljine 1,01–2,00 mm je 12%, melanomi 2,01–4,00 debljine imaju incidenciju metastaza u sentinel limfnom čvoru 28% slučajeva metastaze, a u melanoma debljih od 4 mm čak u 44% slučajeva prisutne su metastaze u sentinel limfnom čvoru [88–90]. Debljina melanoma ima toliki statistički značajan utjecaj na preživljenje da se može izraziti i matematičkom formulom. U istraživanju Karakousisa i sur. [164] na 371 bolesniku približno preživljenje može se izračunati za muškarce:

petogodišnje preživljenje= $[80\%-9\times(\text{debljina melanoma}-1\text{mm})\%]$, a za žene za melanome od 1 mm do 6 mm debljine :

petogodišnje preživljenje= $[94\%-3\times(\text{debljina melanoma}-1\text{mm})\%]$. Za melanome deblje od 6 mm: petogodišnje preživljenje= $[75\%-8\times(\text{debljina melanoma}-1\text{mm})\%]$.

Breslow [19] je naveo da melanomi tanji od 0,75 mm mogu ponekad metastazirati i recidivirati. U istraživanju 681 bolesnika s melanomom tanjim od 0,76 mm metastaze su se pojavile u 4,8% bolesnika nakon prosječnog praćenja od 3,6 godina [165].

Ulceracija ima važnu ulogu u prognozi melanoma [88]. Vjeruje se da ulceracija nastaje zbog sekundarne ishemije tumora radi prebrzog rasta tumora [166]. U vlastitom istraživanju ulceracija je bila prisutna u 40 (33,3%) bolesnika te u 18 od 38 (47,4%) bolesnika koji su imali metastazu u sentinel limfnom čvoru. Univarijatnom analizom ulceracija je značajan pokazatelj metastaze u sentinel limfnom čvoru, dok multivarijatnom analizom nije. U brojnim studijama ukazano je da ulceracija značajno smanjuje preživljenje bolesnika s melanomom [89, 105, 142, 167, 168]. Ulceracija povećava i rizik od smrti za 1,4–1,86 puta u odnosu na neulcerirane lezije. Balch i suradnici pokazali su multivarijatnom analizom da je ulceracija uz debljinu melanoma najznačajniji prognostički pokazatelj [89], a zbog toga je i sastavni dio TNM klasifikacije. Ulceracija ovisi i o debljini melanoma. Naime, povećanjem debljine melanoma povećava se učestalost ulceracija i to od 12,5% ulceracija za melanome tanje od 0,75 mm do 72,5% ulceracija za melanome deblje od 4 mm [169]. Ulceracija je i prognostički pokazatelj relapsa bolesti i preživljenja bez znakova bolesti kod melanoma debljih od 4 mm [170]. Zanimljivo je da ulceracija u bolesnika starijih od 65 godina i debljina melanoma 1–4 mm nije se pokazala kao značajni prognostički pokazatelj [171]. Zasigurno je da i veličina ulceracije, tj. omjer širine ulceracije s vertikalnom fazom rasta tumora ima određeno značenje u prognozi bolesnika s melanomom. Pokazano je da je omjer širine ulceracije i debljine melanoma u vertikalnoj fazi rasta od 2% značajan pokazatelj metastaze

u sentinel limfnom čvoru, a omjer od 5% značajan je prognostički pokazatelj u preživljenju bolesnika s melanomom [172].

U disertaciji **mitotski indeks** je bio prisutan u 3 bolesnika, te nije bio statistički značajan u predviđanju metastaza u sentinel limfnom čvoru. Vrlo važno mjesto među prognostičkim pokazateljima melanoma zauzima i broj mitozu po kvadratnom milimetru, odnosno, mitotski indeks, što je potvrđeno i uvrštavanjem broja mitozu u najnoviju AJCC-ovu klasifikaciju [90]. Istraživanjem Azzola i sur. 2003. godine [173] ukazalo se da mitotski indeks dovodi do značajnog smanjenja desetogodišnjeg preživljenja bolesnika s melanomom pa je desetogodišnje preživljenje iznosilo: 95% (0 mitozu/mm²), 80% (1–4 mitozu/mm²) te 70% (5–10 mitozu/mm²). Značajno je povišen i rizik od smrti u bolesnika s 1–6 mitozu/mm² i to za 8,3 puta, a kod >6 mitozu/mm² čak za 11,6 puta u petogodišnjem razdoblju [174]. U desetogodišnjem preživljenju 7,7 puta je veći rizik od smrti u bolesnika koji imaju 1 ili više mitozu/mm² [137]. Multivarijatnom analizom, ukazano je da je mitotski indeks važan prognostički pokazatelj [142, 173, 175, 176]. U ovome istraživanju mitotski indeks je bio prisutan u 3 bolesnika, te nije bio statistički značajan u predviđanju metastaze u sentinel limfnom čvoru.

Regresija melanoma je dodatni prognostički pokazatelj bolesnika s melanomom, a posebno u bolesnika s melanomom tanjim od 1 milimetar. U vlastitom istraživanju regresija je bila prisutna u dva bolesnika i nije bila statistički značajan pokazatelj metastaza u sentinel limfnom čvoru. Istraživanjem je obuhvaćen premali broj bolesnika s melanomom tanjim od 1 mm da bi se mogao izvesti zaključak. U literaturi postoje oprečni podaci o prognostičkoj značajnosti regresije melanoma. Analizom 9500 bolesnika iz

Sydneyske jedinice za liječenje melanoma [177] regresija je bila prisutna u 75% bolesnika s melanomom tanjim od 0,8 mm i metastazom u regionalnom limfnom čvoru. U istraživanju 85 bolesnika s melanomom tanjim od 1 mm, od 43 bolesnika s metastazom u sentinel limfnom čvoru, 49% je imalo prisutnu regresiju melanoma, dok od 42 bolesnika bez metastaze 19% je imalo prisutnu regresiju melanoma [178]. U 50 bolesnika s melanomom tanjim od 1 mm, 70% bolesnika je imalo prisutnu regresiju, dok je samo u jednog bolesnika s regresijom nađena metastaza u sentinel limfnome čvoru [179]. Slično kao i u radu Kaura i sur. [180] u kojem je analizirano 146 bolesnika od kojih je 70 bolesnika imalo prisutnu regresiju melanoma, metastaza u sentinel limfnom čvoru je bila prisutna u 5,7% bolesnika s regresijom, a u 17% bolesnika koji nisu imali regresiju. Jedna od mogućnosti velike razlike u literaturnim podacima o regresiji melanoma i prognozi jest nedostatak suglasnosti o mjerenju regresije te obimu regresije. U nekim studijama opisana je potpuna regresija, dok je u drugim studijama opisana djelomična regresija. Tako je regresija prisutna kod tankih melanoma (<1mm) u 7–61% slučajeva, a čak u 40–100% slučajeva kada je prisutna metastaza [178].

Upalni odgovor na melanom smatra se kao povoljnim prognostičkim pokazateljem iako postoje i oprečni podaci. U vlastitom istraživanju na 120 bolesnika upalni odgovor bio je prisutan u 14 (11,7%) bolesnika i nije statistički značajan pokazatelj prisutnosti metastaza u sentinel limfnome čvoru. Istraživanje Clarka i sur. [18] ukazalo je da osmogodišnje preživljenje bolesnika s jače izraženim upalnim odgovorom iznosi 88%, dok je u bolesnika bez upalnog odgovora 59%. Bolesnici s melanomom bez upalnog odgovora imaju značajnije viši rizik prisutnosti metastaze u sentinel limfnom čvoru (26,2%) nego

bolesnici s jače izraženim upalnim odgovorom (3,9%) [181]. Druge studije nisu pokazale da je upalni odgovor značajan prognostički pokazatelj. U studiji Barnhilla i sur. [162] u koju su uključeni melanomi vertikalne i radijalne faze rasta, preživljenje je bilo veće u bolesnika bez upalnog odgovora. Moguće je objašnjenje razlike literaturnih podataka što bi određivanje upalnog odgovora trebalo biti samo u melanoma s vertikalnom fazom rasta. Prognostička značajnost upalnog odgovora povezana je i s drugim prognostičkim pokazateljima [162]. Zamijećeno je da T-limfociti koji infiltriraju tumor funkcionalno su defektni [182, 183].

Vaskularna invazija je u provedenom istraživanju bila prisutna u 5,8% bolesnika, ali nije bila statistički značajan pokazatelj metastaze u sentinel limfnome čvoru univarijatnom niti multivarijatnom regresijskom analizom. Istraživanjem 102 bolesnika s nodularnim melanomom [184], 15% svih bolesnika je imalo vaskularnu invaziju, 57% bolesnika su imali metastaze u limfnim čvorovima, a 75% bolesnika imalo je udaljene metastaze. Vaskularna invazija nađena je u 45 od ukupno 526 bolesnika [185]. Bolesnici u čijim tumorima je nađena vaskularna invazija imaju češće metastaze u sentinel limfnim čvorovima, češće udaljene metastaze, lošije preživljenje i kraće razdoblje intervala bez bolesti nego bolesnici u čijim tumorima nije bilo vaskularne invazije [185]. Bolesnici s melanomom debljim od 4 mm i metastazom u limfnom čvoru i vaskularnom invazijom imaju izrazito loše petogodišnje preživljenje od samo 13,5% za razliku od bolesnika bez angioinvazije koji imaju petogodišnje preživljenje od 33% [186].

U vlastitom istraživanju prosječno je bio odstranjen 1,61 **limfni čvor** po biopsiji, drenaža u jedan **limfni bazen** je bilo u 84,2% (u prosjeku odstranjen

1,38 limfni čvor), a u više limfnih bazena u 15,8% bolesnika (u prosjeku odstranjen 2,95 limfna čvora, dok drenaža izvan drenažnih bazena nije bilo. Prisutnost metastaze u limfnom čvoru najvažniji je prognostički pokazatelj melanoma [88–90, 105, 186]. Preživljenje bolesnika s metastazom u sentinel limfnome čvoru je nepovoljno, a petogodišnje preživljenje je od 24% do 67% [89, 90, 105, 132]. Stoga je biopsija sentinel limfnog čvora važna u dijagnostici i prognozi bolesnika s melanomom. Točnost određivanja sentinel limfnog čvora kreće se od 95% do 99% [105, 132]. Položaj drenažnog limfnog bazena primarno ovisi o lokalizaciji melanoma. Lokalizacija melanoma bliža središnjoj liniji trupa ima nepredvidivu drenažu te mogućnost dreniranja u više limfnih bazena. Limfna drenaža u više od jednoga limfnog bazena prisutna je u 15–27% bolesnika, a u prosjeku se odstranjuje 1,3 do 2,1 limfna čvora prilikom biopsije sentinel limfnog čvora [187–189]. U do 10% slučajeva limfna drenaža nije u velikim limfnim bazenima, već je u poplitealnoj jami, epitrohlearno uz mišić trapezijus i sl [132, 187, 188].

U provedenom istraživanju u 38 bolesnika (31,7%) bile su prisutne **metastaze u sentinel limfnom čvoru**, od čega su mikrometastaze (0,2–2 mm) bile u 11,7% bolesnika, a metastaze manje od 0,2 mm bile su prisutne u 11 bolesnika (9,2%). Sentinel limfni čvor je pozitivan u 15–33% slučajeva [114, 132, 190]. U MSLT-1 studiji 16,0% bolesnika je imalo metastazu u limfnom čvoru, a u 4,2% slučajeva nastala je metastaza u limfnom čvoru nakon negativne biopsije sentinel limfnoga čvora [105]. U velikom AJCC-ovome istraživanju 2001. godine [89] 1528 bolesnika imalo je metastazu u limfnom čvoru (8,7%), a u istraživanju 2009. godine od 38918 bolesnika njih 3307 (8,5%) imalo je limfne metastaze [90]. U istraživanju Kruper i sur. od 682

bolesnika, 88 (12,9%) imalo je limfne metastaze [136]. Nizozemsko istraživanje 2006. godine pokazalo je da 77 od 262 bolesnika (29,4%) ima limfne metastaze [134]. U velikom broju slučajeva metastatske promjene u sentinel limfnom čvoru manje od 2 mm imaju nešto bolju prognozu. Petogodišnje preživljenje bolesnika s metastazom manjom od 0,2 mm je 89%, a preživljenje bolesnika bez metastaze je 94% [191]. Veliki broj radova pokazao je da metastatske nakupine manje od 0,2 mm imaju značajnije bolju prognozu [89, 90, 134, 190]. Metastaze manje od 1 mm čine 77% svih metastaza u limfnim čvorovima [134], a metastaze manje od 2 mm čine 85% svih metastaza u limfnim čvorovima [101, 105, 113, 132]. Značaj prisutnosti tumorskih stanica u limfnim čvorovima otkrivenih molekularnim tehnikama nije do kraja razjašnjen. Naime veliko istraživanje je pokazalo da na 1446 bolesnika samo 42% je imalo PCR pozitivne limfne čvorove, ali takav rezultat se nije pokazao značajnim u preživljenju nakon 30 mjeseci [192]. Meta analiza više od 4000 bolesnika pokazala je na nedostatak standardizacije PCR metode, neujednačenost testiranih markera, a pozitivni sentinel limfni čvorovi varirali su od 12% do 74% s prosjekom od 47% bolesnika koji su imali pozitivne sentinel limfne čvorove [193]. Tehnika PCR zahtijeva dodatnu standardizaciju i dodatne studije kako bi se utvrdila vrijednost molekularnih metoda u dijagnostici metastaza u sentinel limfnome čvoru [193, 194]. U svakome slučaju, PCR metoda otvorila je brojna pitanja: dijagnosticiraju li se sve metastaze u sentinel limfnim čvorovima, pretvaraju li se sve nakupine tumorskih stanica u metastazu ili dio odumire zbog djelovanja imunskog odgovora i koji je udio metastaza koji odumire [194].

Dakako, **broj pozitivnih limfnih čvorova** ovisi o mnogim pokazateljima od kojih su, kako je detaljno spomenuto, debljina melanoma i ulceracija

najvažniji. Rijetko se obraća pažnja patohistološkoj obradi sentinel limfnog čvora. Cook i suradnici [195] objavili su rezultate tri različite obrade sentinel limfnog čvora i dokazali da veći broj presjeka i primjena imunohistokemijskih metoda povisuju točnost određivanja metastaza u sentinel limfnom čvoru na razinu koja je približna PCR metodi [196–198]. Broj nedijagnosticiranih metastaza u sentinel limfnome čvoru u literaturi iznosi od 2,6% do 7,9%, [101, 105, 132, 187, 190, 198]. Važno je napomenuti i učenje kirurške tehnike biopsije sentinel limfnoga čvora, a smatra se da je potrebno izvesti 55 biopsija sentinel limfnog čvora da bi točnost određivanja sentinel limfnog čvora bila 95% [105]. Važna je i prosječna debljina melanoma, jer kod vrlo debelih melanoma moguće je da nastaju tumorski embolusi u limfnim žilama te tako dolazi do anomalne drenaže [190, 198]. Također je važna i patohistološka obrada sentinel limfnog čvora [198]. Obzirom na relativno niske učestalosti komplikacije biopsije sentinel limfnog čvora (do 10,1%), biopsija sentinel limfnog čvora iako ne poboljšava prognozu bolesnika važna je u modernome liječenju melanoma [90, 105, 132, 190, 199].

U vlastitom istraživanju, u 28 bolesnika koji su imali prisutne limfne metastaze učinjena je **limfadenektomija**, u 4 bolesnika su nađene metastaze u drugim limfnim čvorovima, u 2 bolesnika po jedan limfni čvor, a u dva bolesnika po dva metastatski promijenjena limfna čvora. U malom broju slučajeva (do 20%) limfadenektomija u drugim limfnim čvorovima osim sentinel limfnog čvora je prisutna metastaza [200–202]. Trenutno se vodi velika debata u kojih bolesnika s pozitivnim sentinel limfnim čvorom treba učiniti limfadenektomiju, a kod kojih bolesnika se limfadenektomija i morbiditet uzrokovan limfadenektomijom mogu izbjeći. U MSLT-1 studiji ne postoji razlika u

preživljenju između grupe bolesnika s melanomom u kojih je učinjena biopsija sentinel limfnog čvora i kod pozitivnog sentinel limfnog čvora učinjena je limfadenektomija i grupe bolesnika u kojih nije učinjena biopsija sentinel limfnog čvora, tj koji su praćeni [105]. Ipak između grupa bolesnika s pozitivnim sentinel limfnim čvorovima u kojih su učinjene limfadenektomije i grupe bolesnika kod kojih nije učinjena biopsija sentinel limfnog čvora, a tijekom praćenja su se razvile metastaze u limfnim čvorovima, te su podvrgnuti odgođenoj limfadenektomiji postoji značajna razlika u preživljenju između grupa (petogodišnje preživljenje 72,3% i 52,4%) [105]. Preživljenje iz MSLT-1 studije nešto je veće od drugih studija koje su pokazale petogodišnje preživljenje poslije limfadenektomije do 36% [104]. U MSLT-1 studiji je zamjećeno da je nakon pozitivnog sentinel limfnog čvora u disektatu bio metastatski promijenjen jedan limfni čvor u 70,5% slučajeva, u 27,9% slučajeva bila su zahvaćena 2–3 druga limfna čvora u disektatu, a samo u 1,6% slučajeva 4 ili više čvorova, prosječno je bilo metastazom zahvaćeno 1,4 limfna čvora po disektatu. [105]. U grupi bolesnika kod kojih nije učinjena biopsija sentinel limfnog čvora te je učinjena odgođena limfadenektomija nakon pojave metastaza u limfnim čvorovima, u takvim disektatima je bilo pozitivnih 2–3 limfna čvora u 35,1% slučajeva, više od 4 limfnih čvorova u 25,7%, a prosječan broj metastatski zahvaćenih limfnih čvorova bio je 3,3 [105]. U bolesnika s negativnim sentinel limfnim čvorom u kojih je učinjena odgođena limfadenektomija zbog metastaza u drugim limfnim čvorovima, nađeno je da je jedan limfni čvor bio zahvaćen tumorom u 61,9% slučajeva, 2–3 limfna čvora imala su metastaze u 9,5% slučajeva, a više od 4 metastatskih limfnih čvorova je bilo u 28,6% slučajeva, s prosjekom metastatski promijenjenih limfnih čvorova od 4,3 [105]. U malom

broju slučajeva, mali je broj limfnih čvorova metastatski promijenjen. Iz tog razloga potrebno je odrediti prognostičke pokazatelje koji će ukazati na postojanje metastaza u drugim limfnim čvorovima osim u sentinel limfnom čvoru, a to se očekuje kroz nekoliko godina kada budu dostupni prvi rezultati MSLT-2 studije.

Limfadenektomija ima i određene komplikacije i poslijeoperacijske posljedice. U MSLT-1 studiji učestalost komplikacija biopsije sentinel limfnog čvora i široke ekscizije bilo je u 10,1% slučajeva, a komplikacija limfadenektomija je bilo u 37,2% bolesnika [105]. U drugim studijama opisana je učestalost komplikacija limfadenektomija 29–84%, a kao najčešće komplikacije navode se nekroza kože, infekcija rane, serom i limfedem [203]. Najveća učestalost komplikacija je kod limfadenektomija ingvinuma (do 84%), od kojih je najteža komplikacija limfedem koji se javlja u 30–64% bolesnika [203]. Kod pazušnih limfadenektomija komplikacije su nešto rjeđe (do 53%), a limfedem se javlja u 2–19% slučajeva [203].

Stoga je potrebno pronaći rizične pokazatelje koji bi ukazali na prisutnost metastaza u sentinel limfnom čvoru kako bi se izbjegla nepotrebna biopsija sentinel limfnih čvorova u oko 80% bolesnika s melanomom. Također, vrlo je važno pronaći rizične pokazatelje za metastaze u drugim limfnim čvorovima osim u sentinel limfnom čvoru kako bi izbjegli 80% limfadenektomija. Dakako, uz sva proturječja vezane uz takva istraživanja, nekoliko autora pokušalo je ponuditi odgovore.

Kako bi se izbjegla biopsija sentinel limfnog čvora danas je moguće ultrazvučnim pregledom i ciljanom citološkom punkcijom točno dijagnosticirati metastazu melanoma u vratu i preponi veličine 4 mm, a u pazuhu veličine 4,5

mm [204], što je znatno veća veličina metastaza nego ona koja se dijagnosticira biopsijom sentinel limfnog čvora i ima lošiju prognozu. U novije vrijeme spektroskopska magnetska rezonancija jačine magneta 3 Tesle pokazala je mogućnost dijagnosticiranja malih metastaza u limfnim čvorovima i u budućnosti bi mogla zamijeniti biopsiju sentinel limfnog čvora kao metodu rane dijagnostike metastaza u limfnim čvorovima [198]. Obilježja melanoma (debljina melanoma, ulceracija, vertikalna faza rasta, mitotski indeks, limfovaskularna invazija te dob) mogu odrediti mogućnost metastaze u sentinel limfnom čvoru [101, 109, 136, 163]. Od dodatnih prognostičkih pokazatelja opisana je **površina presjeka melanoma**, koja ako je veća od 12 mm² ima lošiju prognozu s dvogodišnjim preživljenjem 41% u odnosu na 92% kod melanoma površine manje od 12 mm² [205]. Volumen melanoma se pokazao kao dodatni pokazatelj, gdje je volumen manji od 200 mm³ ima petogodišnje preživljenje 91,4%, dok melanom većeg volumena ima preživljenje 16,7% [206]. Oblik melanoma može imati utjecaj na preživljenje, pa tako polipoidni oblik ima izrazito loše desetogodišnje preživljenje od 40% obzirom da su takvi melanomi veće debljine i ulcerirani [207]. **Radijalna i vertikalna faza rasta**, također, su vrlo važni prognostički pokazatelji, gdje se vertikalna faza rasta povezuje s lošijom prognozom. U istraživanju Barnhilla i sur. 1996. [162] petogodišnje preživljenje bolesnika s radijalnom fazom rasta bilo je 98,2%, za razliku od bolesnika s vertikalnom fazom rasta čije je preživljenje 84%. U bolesnika s melanomom tanjim od 1 mm, vertikalna faza rasta značajno je korelirala s prisutnosti metastaze u sentinel limfnom čvoru [208]. **Vaskularnost melanoma** nastaje prilikom izlučivanja vaskularnog endotelnog faktora rasta [209]. U vertikalnoj fazi rasta melanoma, pokazano je da melanomi koji su metastazirali

u limfne čvorove imaju povećanu gustoću krvnih žila i širinu žila u odnosu na okolni dermis [209]. U istraživanju 417 bolesnika vaskularnost melanoma je značajno utjecala na preživljenje bolesnika, na relaps bolesti te u multivarijantnoj analizi bila je najznačajniji pokazatelj preživljenja, važniji i od debljine melanoma [176]. Nisu sva istraživanja pokazala značajnost vaskularnosti melanoma u preživljenju, pa tako u 107 bolesnika nije dokazan utjecaj na preživljenje [210]. Moguće je objašnjenje da vaskularizacija melanoma dobro korelira i s nekim drugim prognostičkim pokazateljima. **Angiotropizam** kod melanoma (okruženje krvnih žila melanomskim stanicama) opisan još davne 1907. godine [13], ali postoji tek nekoliko radova koji ukazuju na važnost angiotropizma u prognozi melanoma. U istraživanju na 40 bolesnika, angiotropizam je nađen samo u bolesnika koji su imali metastaze [211]. Angiotropizam je zabilježen kod epidermotropnih metastaza te 2/3 "in transit" metastaza [212]. **Melanomi nastali unutar madeža** prema nekim istraživanjima imaju bolju prognozu od melanoma nastalih *de novo* (petogodišnje preživljenje 91% za melanome nastale unutar madeža i 78% za novonastale melanome) [213]. Koliko utječe **paratumorska promjena arhitekture** kože pokazalo se na podatku da je paratumorska epidermalna hiperplazija bila prisutna u 94% bolesnika koji nemaju metastaze, a u 44% bolesnika s metastazama [214].

Za pokazatelje metastaza u ostalim limfnim čvorovima kada je sentinel limfni čvor pozitivan uvedeni su **mikromorfometrijski pokazatelji**. Mikromorfometrijski pokazatelji obuhvaćaju veličinu metastaze, najveću subkapsularnu dubinu tumora, mikroanatomski smještaj metastaze u limfnom čvoru, postotak površine limfnog čvora prožete metastazom i prisutnost ekstrakapsularnog širenja [198]. Dokazano je da kod metastaza manjih od 0,1

mm nema metastaza u drugim limfnim čvorovima, dok kod metastaza većih od 0,1 mm u 19% slučajeva su prisutne metastaze u drugim limfnim čvorovima ($p=0,07$) [134]. Kod subkapsularnog smještaja metastaze u sentinel limfnom čvoru u drugim limfnim čvorovima nema metastaza, dok su druge lokalizacije metastaza u sentinel limfnom čvoru (parenhimalna, multifokalna, ekstenzivna i kombinirana) imale metastaze u drugim limfnim čvorovima od 11,1% do 42,1% [141]. U radu van Akkooia i sur. [134] nije nađena značajna razlika u lokalizaciji metastaze unutar limfnog čvora. Učestalost metastaza u drugim limfnim čvorovima je 9% u kombiniranoj lokalizaciji metastaze unutar sentinel limfnog čvora, a 13 % u subkapsularnoj lokalizaciji metastaze unutar sentinel limfnog čvora [134]. Do sada nisu potvrđeni pokazatelji koji će moći predvidjeti metastazu u drugim limfnim čvorovima kada je sentinel limfni čvor pozitivan [134, 141, 198].

Preživljenje nakon limfadenektomije nije zanemarivo, opisano je dugoročno preživljenje bolesnika s limfnim metastazama nakon limfadenektomije [104]. U radu u kojem je analizirano 2505 bolesnika kod kojih je učinjena limfadenektomija zbog limfnih metastaza petogodišnje iznosilo je 43%, desetogodišnje 35%, petnaestogodišnje 28%, a dvadesetogodišnje preživljenje 23% [215]. Najznačajniji prognostički pokazatelj preživljenja bolesnika s metastazama u limfnim čvorovima je broj zahvaćenih limfnih čvorova (petogodišnje preživljenje 53% kada je jedan metastatski limfni čvor, petogodišnje preživljenje 25% kada su zahvaćena četiri ili više limfna čvora), a dodatni prognostički pokazatelji su debljina tumora i ulceracija [215].

U vlastitom istraživanju omjer debljine melanoma i debljine kože statistički značajan je pokazatelj metastaze u sentinel limfnome čvoru u

univarijatom regresijskom modelu, ali nešto manje značajnosti od debljine melanoma. U multivarijatom regresijskom modelu nema statističke značajnosti omjera debljine melanoma i debljine kože na prisutnost metastaze u sentinel limfnome čvoru. A kao što je već spomenuto metastaza u limfnom čvoru najvažniji je prognostički pokazatelj u bolesnika s melanomom. Saxby i sur.su 1984. [91] objavili rad na 147 bolesnika (M-27, Ž-120) u kojem je mjeren omjer nezahvaćenog dermisa i debljine melanoma kao prognostičkog pokazatelja. Svi bolesnici su praćeni 10 godina, te je pokazano da kod omjera nezahvaćenog dermisa i debljine melanoma većeg od 2 bolesnici imaju statistički značajno bolje preživljenje [91]. Glavni nedostatak studije je da u bolesnika s većim omjerom nezahvaćenog dermisa melanomom, i sam melanom je bio tanji, što je dodatno objašnjenje boljeg preživljenja.

Sljedeća generacija prognostičkih pokazatelja temeljit će se na markerima proliferacije, i/ili tumoricidnom imunosnom odgovoru, ili po ekspresiji gena koji reguliraju proliferaciju, angiotropizam i limfotropizam.

6. Zaključci

Analizom podataka istraživanja koje je provedeno na Klinici za plastičnu, rekonstrukcijsku i estetsku kirurgiju od 2005. do 2009 godine na 120 bolesnika s melanomom može se zaključiti.

- a) Koža je statistički značajno deblja u muških bolesnika ($p=0,03$).
- b) Lokalizacija melanoma između spolova statistički se značajno razlikuje ($p=0,014$), te je u žena češća na udovima (28/61, 45,9%), a u muškaraca na trupu (36/59, 60,3%).
- c) Dob, spol, lokalizacija melanoma nemaju prognostičku vrijednost prisutnosti metastaze u sentinel limfnome čvoru.
- d) Debljina melanoma ($p=0,00001$), ulceracija ($p=0,007$) i odnos debljine melanoma i debljine kože ($p=0,0002$) statistički su značajni prognostički pokazatelji metastaza u sentinel limfnome čvoru što je analizirano univarijatnom logističkom regresijom.
- e) Odnos debljine melanoma i debljine kože statistički je značajan pokazatelj metastaze u sentinel limfnome čvoru u svih grupa debljine kože (grupa 1 $p=0,002$; grupa 2 $p=0,008$, grupa 3 $p=0,02$).
- f) Debljina melanoma ($p=0,055$), ulceracija ($p=0,593$) i odnos debljine melanoma i debljine kože ($p=0,996$) statistički nisu značajni pokazatelji metastaza u sentinel limfnome čvoru što je analizirano multivarijatnom logističkom regresijom.
- g) Analizom omjera senzitivnosti i specifičnosti, debljina melanoma je nešto bolji pokazatelj metastaze u sentinel limfnome čvoru od omjera debljine melanoma i debljine kože.

7. Sažetak

Sentinel limfni čvor najvažniji je prognostički pokazatelj melanoma koji je pozitivan u 20% bolesnika. Postoje brojni prognostički pokazatelji metastaza u sentinel limfnome čvoru, ali ne uzimaju u obzir odnos debljine kože i debljine melanoma.

U 120 bolesnika s melanomom kože od 2005. do 2009. godine uz standardne prognostičke pokazatelje melanoma određivana je i debljina kože, te omjer debljine melanoma i debljine kože. Analiziran je utjecaj prognostičkih pokazatelja na metastaze u sentinel limfnome čvoru.

U bolesnika (M-59, Ž-61) srednje dobi 55,9 godina, najčešće lokalizacije melanoma su na trupu (50,8%), prosječne debljine melanoma 3,11 mm. Ulceracija je prisutna u 40 (33,3%), regresija tumora u 2 (1,7%), vaskularna invazija u 7 (5,8%), limfocitna infiltracija tumora u 14 (11,7%), više od 1 mitoze/mm² u 3 (2,5%) bolesnika. U 97 (80,8%) bolesnika bila je samo jedna regija u kojoj se nalazio sentinel limfni čvor, dok je u preostalih 23 (19,2%) bolesnika bilo dvije ili više drenažnih limfnih regija. U prosjeku je odstranjen 1,61 limfni čvor po bolesniku. U 27 (22,5%) bolesnika metastaze su bile prisutne u sentinel limfnom čvoru, a u 11 (9,2%) bolesnika izolirane tumorske stanice. Na prisutnost metastaze u sentinel limfnome čvoru univarijatom analizom statistički su bile značajne debljina melanoma ($p=0,00001$), omjer debljine melanoma i debljine kože ($p=0,00022$) te ulceracija ($p=0,007$). U multivarijatom analizi niti jedan parametar nije bio statistički značajan. Analizom omjera specifičnosti i senzitivnosti debljina melanoma je veće specifičnosti i senzitivnosti (0,781) nego omjer debljine melanoma i debljine kože (0,723).

Zaključno, univarijatnom analizom omjer debljine melanoma i debljine kože statistički je značajan prognostički pokazatelj prisutnosti metastaze u sentinel limfnome čvoru. Debljina melanoma je najznačajniji pokazatelj metastaza u sentinel limfnome čvoru, a i ulceracija je statistički značajan pokazatelj, iako s manjom statističkom značajnošću nego prethodna dva.

8. Summary

Melanoma thickness and skin thickness ratio as the prognostic factor of sentinel lymph node metastasis

Sentinel lymph node is the most significant prognostic factor in melanoma, that harbors metastasis in 20% of cases. There is no prognostic factor that takes into consideration skin thickness and melanoma thickness.

In 120 patients treated for melanoma from 2005 to 2009, along with standard melanoma prognostic factors, skin thickness was measured and ratio of melanoma thickness and skin thickness was calculated. Influence of melanoma prognostic factors were analyzed on sentinel lymph node positivity.

120 patients (59-M, 61-F) average age 55,9 years had most of melanomas localized on trunk (50,8%). Average melanoma thickness was 3,11 mm, ulceration was present in 40 (33,3%), regression in 2 (1,7%), vascular invasion in 7 (5,8%), tumor infiltrating lymphocytes in 14 (11,7%), more than 1 mitosis/mm² in 3 (2,5%) patients. In 97 patients (80,8%) there was single, while in 23 patients (19,2%) 2 or more draining lymph basins contained sentinel lymph node. 1,61 sentinel lymph node was removed per patient. In 27 (22,5%) patients sentinel lymph node harbored metastasis, in 11 (9,2%) patients isolated tumor cells were found. Melanoma thickness was most significant predictor of metastasis in sentinel lymph node ($p=0,00001$), followed by melanoma thickness and skin thickness ratio ($p=0,00022$) and ulceration ($p=0,007$) in univariate analysis. In multivariate analysis no prognostic factor was significant. ROC analysis showed more specificity and sensitivity for

melanoma thickness (0,781) than for melanoma thickness and skin thickness ratio (0,723).

Melanoma thickness and skin thickness ratio is significant prognostic factor in melanoma, although melanoma thickness is the most significant prognostic factor in melanoma, ulceration is important prognostic factor but not so significant as former two.

9. Literatura

1. Nikolić V. Koža, integumentum commune. U: Krmpotić-Nemanić J, ur. Anatomija čovjeka. Zagreb: JUMENA; 1990, str. 101-5.
2. Ulger H, Erdogan N, Kumanlioglu S, Unur E. Effect of age, breast size, menopausal and hormonal status on mammographic skin thickness. *Skin Res Technol.* 2003; 9 (3):284-9.
3. Jurić-Lekić G. Koža. U: Bradamante Ž, Kostović-Knežević L, ur. Osnove histologije. Zagreb: Školska knjiga; 2005, str. 369-81.
4. Jurić-Lekić G. Kožni sustav. U: Bradamante Ž, Grbeša Đ, ur. Langmanova medicinska embriologija. Zagreb: Školska knjiga; 2008, str. 337-40.
5. Urteaga O, Pack GT. On the antiquity of melanoma. *Cancer.* 1966; 19 (5):607-10.
6. McLeod GR, Davis NC, Sober AJ. A history of melanoma. From Hunter to Clark. U: Balch CM, Houghton AN, Sober AJ, Soong SJ, ur. Melanoma. St. Louis, Missouri: Quality Medical Publishing Inc.; 2003, str. 1-12.
7. Silvers DN, Gorham JD. Observations on a melanoma by William Norris, M.D., a country practitioner of the early 19th century. *Am J Dermatopathol.* 1982; 4 (5):421-4.
8. Davis NC. William Norris, M.D.: a pioneer in the study of melanoma. *Med J Aust.* 1980; 1 (2):52-4.
9. Paget J. Lectures on Surgical Pathology. 2. izd. London: Green and Longman; 1853.
10. Pemberton O. Observation on the History, Pathology and Treatment of Cancerous Diseases. London: Churchill J. ; 1858.
11. Mikhail GR. Hutchinson's sign. *J Dermatol Surg Oncol.* 1986; 12 (5):519-21.
12. Clark WH, Jr., Reimer RR, Greene M, Ainsworth AM, Mastrangelo MJ. Origin of familial malignant melanomas from heritable melanocytic lesions. 'The B-K mole syndrome'. *Arch Dermatol.* 1978; 114 (5):732-8.
13. Handley W. The pathology of melanocytic growths in relation to their operative treatment. *Lancet Oncol.* 1907; 1:927-33.
14. Shapiro PE. Who was Sophie Spitz? The woman behind the eponym. *Am J Dermatopathol.* 1992; 14 (5):442-6.
15. McGovern VJ. Epidemiological aspects of melanoma: a review. *Pathology.* 1977; 9 (3):233-41.
16. McGovern VJ. Melanoma: Histological Diagnosis and Prognosis. 1. izd. New York: Raven Press; 1983.
17. Clark WH, Jr., From L, Bernardino EA, Mihm MC. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res.* 1969; 29 (3):705-27.
18. Clark WH, Jr., Elder DE, Guerry Dt i sur. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst.* 1989; 81 (24):1893-904.

19. Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg.* 1970; 172 (5):902-8.
20. Breslow A, Cascinelli N, van der Esch EP, Morabito A. Stage I melanoma of the limbs: assessment of prognosis by levels of invasion and maximum thickness. *Tumori.* 1978; 64 (3):273-84.
21. Morton DL, Wen DR, Wong JH i sur. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg.* 1992; 127 (4):392-9.
22. Morton DL, Wen DR, Foshag LJ, Essner R, Cochran A. Intraoperative lymphatic mapping and selective cervical lymphadenectomy for early-stage melanomas of the head and neck. *J Clin Oncol.* 1993; 11 (9):1751-6.
23. Jhappan C, Noonan FP, Merlino G. Ultraviolet radiation and cutaneous malignant melanoma. *Oncogene.* 2003; 22 (20):3099-112.
24. Wang SQ, Setlow R, Berwick M i sur. Ultraviolet A and melanoma: a review. *J Am Acad Dermatol.* 2001; 44 (5):837-46.
25. Ortonne JP. Photoprotective properties of skin melanin. *Br J Dermatol.* 2002; 146 (Suppl 61):7-10.
26. Kraemer KH. Heritable diseases with increased sensitivity to cellular injury. U: Freedberg LM, Eisen AZ, Wolf K, Austen KH, Katz SI, ur. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* New York: McGraw Hill; 2003, str. 1508-14.
27. Mocellin S, Verdi D, Nitti D. DNA repair gene polymorphisms and risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Carcinogenesis.* 2009; 30 (10):1735-43.
28. Meyle KD, Guldberg P. Genetic risk factors for melanoma. *Hum Genet.* 2009; 126 (4):499-510.
29. Raimondi S, Sera F, Gandini S i sur. MC1R variants, melanoma and red hair color phenotype: a meta-analysis. *Int J Cancer.* 2008; 122 (12):2753-60.
30. Bevona C, Sober AJ. Melanoma incidence trends. *Dermatol Clin.* 2002; 20 (4):589-95.
31. Elwood JM, Jopson J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. *Int J Cancer.* 1997; 73 (2):198-203.
32. Whiteman DC, Whiteman CA, Green AC. Childhood sun exposure as a risk factor for melanoma: a systematic review of epidemiologic studies. *Cancer Causes Control.* 2001; 12 (1):69-82.
33. Fears TR, Bird CC, Guerry Dt i sur. Average midrange ultraviolet radiation flux and time outdoors predict melanoma risk. *Cancer Res.* 2002; 62 (14):3992-6.
34. Kopf AW, Hellman LJ, Rogers GS i sur. Familial malignant melanoma. *JAMA* 1986; 256 (14):1915-9.
35. Ford D, Bliss JM, Swerdlow AJ i sur. Risk of cutaneous melanoma associated with a family history of the disease. The International Melanoma Analysis Group (IMAGE). *Int J Cancer.* 1995; 62 (4):377-81.
36. Tucker MA, Fraser MC, Goldstein AM i sur. A natural history of melanomas and dysplastic nevi: an atlas of lesions in melanoma-prone families. *Cancer.* 2002; 94 (12):3192-209.

37. Mazzarello V, Soggiu D, Masia DR, Ena P, Rubino C. Melanoma versus dysplastic naevi: microtopographic skin study with noninvasive method. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2006; 59 (7):700-5.
38. Shors AR, Kim S, White E i sur. Dysplastic naevi with moderate to severe histological dysplasia: a risk factor for melanoma. *Br J Dermatol.* 2006; 155 (5):988-93.
39. Titus-Ernstoff L, Perry AE, Spencer SK, Gibson JJ, Cole BF, Ernstoff MS. Pigmentary characteristics and moles in relation to melanoma risk. *Int J Cancer.* 2005; 116 (1):144-9.
40. Cho E, Rosner BA, Feskanich D, Colditz GA. Risk factors and individual probabilities of melanoma for whites. *J Clin Oncol.* 2005; 23 (12):2669-75.
41. MacKie RM. Strategies to reduce mortality from cutaneous malignant melanoma. *Arch Dermatol Res.* 1994; 287 (1):13-5.
42. Wagner JD, Gordon MS, Chuang TY, Coleman JJ, 3rd. Current therapy of cutaneous melanoma. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 105 (5):1774-99; quiz 800-1.
43. Polk HC, Jr. Surgical progress and understanding in the treatment of the melanoma epidemic. *Am J Surg.* 1999; 178 (6):443-8.
44. Nola I, Kruslin B, Muller D, Oremovic L, Belicza M. The rise in melanoma incidence in Croatia. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2002; 10 (1):3-7.
45. Stanec S, Šitum M. Melanom protokol liječenja. Zagreb: Znanje; 2003.
46. MP Curado BE, HR Shin. Cancer Incidence in Five Continents. 9. izd. Lyon: IARC Scientific Publications No. 160; 2007.
47. de Vries E, van de Poll-Franse LV, Louwman WJ, de Gruijl FR, Coebergh JW. Predictions of skin cancer incidence in the Netherlands up to 2015. *Br J Dermatol.* 2005; 152 (3):481-8.
48. Diffey BL. The future incidence of cutaneous melanoma within the UK. *Br J Dermatol.* 2004; 151 (4):868-72.
49. MacKie RM, Bray C, Vestey J i sur. Melanoma incidence and mortality in Scotland 1979-2003. *Br J Cancer.* 2007; 96 (11):1772-7.
50. Karagas MR, Zens MS, Stukel TA i sur. Pregnancy history and incidence of melanoma in women: a pooled analysis. *Cancer Causes Control.* 2006; 17 (1):11-9.
51. Lea CS, Holly EA, Hartge P i sur. Reproductive risk factors for cutaneous melanoma in women: a case-control study. *Am J Epidemiol.* 2007; 165 (5):505-13.
52. MacKie RM, Bray CA. Hormone replacement therapy after surgery for stage 1 or 2 cutaneous melanoma. *Br J Cancer.* 2004; 90 (4):770-2.
53. Kirkpatrick CS, Lee JA, White E. Melanoma risk by age and socio-economic status. *Int J Cancer.* 1990; 46 (1):1-4.
54. Pukkala E, Aspholm R, Auvinen A i sur. Incidence of cancer among Nordic airline pilots over five decades: occupational cohort study. *BMJ* 2002; 325 (7364):567.
55. Fortes C, Mastroeni S, Melchi F i sur. The association between residential pesticide use and cutaneous melanoma. *Eur J Cancer.* 2007; 43 (6):1066-75.

56. Curiel C, Gomex M, Atkins T, Nijsten R, S. S. Association between use of non steroidal anti-inflammatories and of melanoma: a case control study. *J Clin Oncol.* 2007; 25 (Supp):18s.
57. Koomen ER, Joosse A, Herings RM i sur. Is statin use associated with a reduced incidence, a reduced Breslow thickness or delayed metastasis of melanoma of the skin? *Eur J Cancer.* 2007; 43 (17):2580-9
58. Bastiaannet E, Homan-van der Heide JJ, Ploeg RJ, Hoekstra HJ. No increase of melanoma after kidney transplantation in the northern part of The Netherlands. *Melanoma Res.* 2007; 17 (6):349-53.
59. Le Mire L, Hollowood K, Gray D, Bordea C, Wojnarowska F. Melanomas in renal transplant recipients. *Br J Dermatol.* 2006; 154 (3):472-7.
60. Maier T, Korting HC. Sunscreens - which and what for? *Skin Pharmacol Physiol.* 2005; 18 (6):253-62.
61. Kaskel P, Sander S, Kron M, Kind P, Peter RU, Krahn G. Outdoor activities in childhood: a protective factor for cutaneous melanoma? Results of a case-control study in 271 matched pairs. *Br J Dermatol.* 2001; 145 (4):602-9.
62. Montague M, Borland R, Sinclair C. Slip! Slop! Slap! and SunSmart, 1980-2000: Skin cancer control and 20 years of population-based campaigning. *Health Educ Behav.* 2001; 28 (3):290-305.
63. Freedberg KA, Geller AC, Miller DR, Lew RA, Koh HK. Screening for malignant melanoma: A cost-effectiveness analysis. *J Am Acad Dermatol.* 1999; 41 (5 Pt 1):738-45.
64. Geller AC, Zhang Z, Sober AJ i sur. The first 15 years of the American Academy of Dermatology skin cancer screening programs: 1985-1999. *J Am Acad Dermatol.* 2003; 48 (1):34-41.
65. Weinstock MA. Early detection of melanoma. *Jama.* 2000; 284 (7):886-9.
66. Argenziano G, Soyer HP. Dermoscopy of pigmented skin lesions--a valuable tool for early diagnosis of melanoma. *Lancet Oncol.* 2001; 2 (7):443-9.
67. Holme SA, Varma S, Chowdhury MM, Roberts DL. Audit of a melanoma screening day in the U.K.: clinical results, participant satisfaction and perceived value. *Br J Dermatol.* 2001; 145 (5):784-8.
68. Riker AI, Glass F, Perez I, Cruse CW, Messina J, Sondak VK. Cutaneous melanoma: methods of biopsy and definitive surgical excision. *Dermatol Ther.* 2005; 18 (5):387-93.
69. Lambaša S. Patohistološka dijagnostika. U: Stanec S, Stanec Z, ur. *Melanom.* Zagreb: Medicinska Naklada; 2006, str. 116-26.
70. Markovic SN, Erickson LA, Rao RD i sur. Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. *Mayo Clin Proc.* 2007; 82 (3):364-80.
71. Clark WH, Jr., Hood AF, Tucker MA, Jampel RM. Atypical melanocytic nevi of the genital type with a discussion of reciprocal parenchymal-stromal interactions in the biology of neoplasia. *Hum Pathol.* 1998; 29 (1 Suppl 1):S1-24.
72. Stern JB, Haupt HM. Pagetoid melanocytosis: tease or tocsin? *Semin Diagn Pathol.* 1998; 15 (3):225-9.
73. Barnhill RL, Mihm MC, Jr. The histopathology of cutaneous malignant melanoma. *Semin Diagn Pathol.* 1993; 10 (1):47-75.

74. Perniciaro C. Dermatopathologic variants of malignant melanoma. *Mayo Clin Proc.* 1997; 72 (3):273-9.
75. Shendrik I, Silvers DN. Desmoplastic and desmoplastic neurotropic melanoma: experience with 280 patients. *Cancer.* 1999; 85 (11):2491-2.
76. Barnhill RL, Gupta K. Unusual variants of malignant melanoma. *Clin Dermatol.* 2009; 27 (6):564-87.
77. Kao GF, Helwig EB, Graham JH. Balloon cell malignant melanoma of the skin. A clinicopathologic study of 34 cases with histochemical, immunohistochemical, and ultrastructural observations. *Cancer.* 1992; 69 (12):2942-52.
78. Collina G, Losi L, Taccagni GL, Maiorana A. Myxoid metastases of melanoma: report of three cases and review of the literature. *Am J Dermatopathol.* 1997; 19 (1):52-7.
79. Rutten A, Huschka U, Requena C, Rodriguez-Peralto JL, Requena L. Primary cutaneous signet-ring cell melanoma: a clinico-pathologic and immunohistochemical study of two cases. *Am J Dermatopathol.* 2003; 25 (5):418-22.
80. Lucas DR, Tazelaar HD, Unni KK i sur. Osteogenic melanoma. A rare variant of malignant melanoma. *Am J Surg Pathol.* 1993; 17 (4):400-9.
81. Abbott JJ, Amirkhan RH, Hoang MP. Malignant melanoma with a rhabdoid phenotype: histologic, immunohistochemical, and ultrastructural study of a case and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med.* 2004; 128 (6):686-8.
82. Rodriguez J, Nonaka D, Kuhn E, Reichel M, Rosai J. Combined high-grade basal cell carcinoma and malignant melanoma of the skin ("malignant basomelanocytic tumor"): report of two cases and review of the literature. *Am J Dermatopathol.* 2005; 27 (4):314-8.
83. Ackerman L, J. DR. *Cancer Diagnosis, Treatment and Prognosis.* St. Louis: CV Mosby; 1954.
84. Allen AC, Spitz S. Malignant melanoma; a clinicopathological analysis of the criteria for diagnosis and prognosis. *Cancer.* 1953; 6 (1):1-45.
85. Petersen NC, Bodenham DC, Lloyd OC. Malignant melanomas of the skin. A study of the origin, development, aetiology, spread, treatment, and prognosis. I. *Br J Plast Surg* 1962; 15:49-94.
86. Mehnert JH, Heard JL. Staging of Malignant Melanomas by Depth of Invasion; a Proposed Index to Prognosis. *Am J Surg.* 1965; 110:168-76.
87. Balch CM, Murad TM, Soong SJ, Ingalls AL, Halpern NB, Maddox WA. A multifactorial analysis of melanoma: prognostic histopathological features comparing Clark's and Breslow's staging methods. *Ann Surg.* 1978; 188 (6):732-42.
88. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ i sur. Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol.* 2001; 19 (16):3635-48.
89. Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE i sur. Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol.* 2001; 19 (16):3622-34.

90. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ i sur. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol.* 2009; 27 (36):6199-206.
91. Saxby PJ, Griffiths RW, Corbishley CM, Briggs JC. A study of the thickness of uninvolved dermis beneath cutaneous malignant melanoma: the ratio of uninvolved dermis to tumour thickness (DT:TT) as a prognostic index. *Br J Plast Surg.* 1984; 37 (4):496-500.
92. Balch CM, Urist MM, Karakousis CP i sur. Efficacy of 2-cm surgical margins for intermediate-thickness melanomas (1 to 4 mm). Results of a multi-institutional randomized surgical trial. *Ann Surg.* 1993; 218 (3):262-7.
93. Balch CM, Soong SJ, Smith T i sur. Long-term results of a prospective surgical trial comparing 2 cm vs. 4 cm excision margins for 740 patients with 1-4 mm melanomas. *Ann Surg Oncol.* 2001; 8 (2):101-8.
94. Veronesi U, Cascinelli N, Adamus J i sur. Thin stage I primary cutaneous malignant melanoma. Comparison of excision with margins of 1 or 3 cm. *N Engl J Med.* 1988; 318 (18):1159-62.
95. Santinami M, Maurichi A, Patuzzo R, Pennacchioli E, Cascinelli N. Impact of clinical trials on the treatment of melanoma. *Surg Oncol Clin N Am.* 2001; 10 (4):935-47.
96. Thomas JM, Newton-Bishop J, A'Hern R i sur. Excision margins in high-risk malignant melanoma. *N Engl J Med.* 2004; 350 (8):757-66.
97. Heaton KM, Sussman JJ, Gershenwald JE i sur. Surgical margins and prognostic factors in patients with thick (>4mm) primary melanoma. *Ann Surg Oncol.* 1998; 5 (4):322-8.
98. Sondergaard K, Schou G. Therapeutic and clinico-pathological factors in the survival of 1,469 patients with primary cutaneous malignant melanoma in clinical stage I. A multivariate regression analysis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1985; 408 (2-3):249-58.
99. Balch CM, Soong S, Ross MI i sur. Long-term results of a multi-institutional randomized trial comparing prognostic factors and surgical results for intermediate thickness melanomas (1.0 to 4.0 mm). *Intergroup Melanoma Surgical Trial.* *Ann Surg Oncol.* 2000; 7 (2):87-97.
100. Cascinelli N, Morabito A, Santinami M, MacKie RM, Belli F. Immediate or delayed dissection of regional nodes in patients with melanoma of the trunk: a randomised trial. *WHO Melanoma Programme.* *Lancet.* 1998; 351 (9105):793-6.
101. Morton DL, Hoon DS, Cochran AJ i sur. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: therapeutic utility and implications of nodal microanatomy and molecular staging for improving the accuracy of detection of nodal micrometastases. *Ann Surg.* 2003; 238 (4):538-49.
102. Medalie NS, Ackerman AB. Sentinel lymph node biopsy has no benefit for patients with primary cutaneous melanoma metastatic to a lymph node: an assertion based on comprehensive, critical analysis: part II. *Am J Dermatopathol.* 2003; 25 (6):473-84.
103. Medalie NS, Ackerman AB. Sentinel lymph node biopsy has no benefit for patients with primary cutaneous melanoma metastatic to a lymph

- node: an assertion based on comprehensive, critical analysis: part I. *Am J Dermatopathol.* 2003; 25 (5):399-417.
104. Young SE, Martinez SR, Faries MB, Essner R, Wanek LA, Morton DL. Can surgical therapy alone achieve long-term cure of melanoma metastatic to regional nodes? *Cancer J.* 2006; 12 (3):207-11.
 105. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ i sur. Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Engl J Med.* 2006; 355 (13):1307-17.
 106. Wong SL, Brady MS, Busam KJ, Coit DG. Results of sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanoma. *Ann Surg Oncol.* 2006; 13 (3):302-9.
 107. Kalady MF, White RR, Johnson JL, Tyler DS, Seigler HF. Thin melanomas: predictive lethal characteristics from a 30-year clinical experience. *Ann Surg.* 2003; 238 (4):528-35.
 108. Kesmodel SB, Karakousis GC, Botbyl JD i sur. Mitotic rate as a predictor of sentinel lymph node positivity in patients with thin melanomas. *Ann Surg Oncol.* 2005; 12 (6):449-58.
 109. Sondak VK, Taylor JM, Sabel MS i sur. Mitotic rate and younger age are predictors of sentinel lymph node positivity: lessons learned from the generation of a probabilistic model. *Ann Surg Oncol.* 2004; 11 (3):247-58.
 110. Thompson JF, Shaw HM. Is sentinel lymph node biopsy appropriate in patients with thin melanomas: too early to tell? *Ann Surg Oncol.* 2006; 13 (3):279-81.
 111. Johnson TM, Sondak VK, Bichakjian CK, Sabel MS. The role of sentinel lymph node biopsy for melanoma: evidence assessment. *J Am Acad Dermatol.* 2006; 54 (1):19-27.
 112. Wong SL, Coit DG. Role of surgery in patients with stage IV melanoma. *Curr Opin Oncol.* 2004; 16 (2):155-60.
 113. Essner R, Lee JH, Wanek LA, Itakura H, Morton DL. Contemporary surgical treatment of advanced-stage melanoma. *Arch Surg.* 2004; 139 (9):961-6.
 114. Riker AI, Kirksey L, Thompson L, Morris A, Cruse CW. Current surgical management of melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2006; 6 (11):1569-83.
 115. Diener-West M, Earle JD, Fine SL i sur. The COMS randomized trial of iodine 125 brachytherapy for choroidal melanoma, III: initial mortality findings. COMS Report No. 18. *Arch Ophthalmol.* 2001; 119 (7):969-82.
 116. Schmid-Wendtner MH, Brunner B, Konz B i sur. Fractionated radiotherapy of lentigo maligna and lentigo maligna melanoma in 64 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2000; 43 (3):477-82.
 117. Creagan ET, Cupps RE, Ivins JC i sur. Adjuvant radiation therapy for regional nodal metastases from malignant melanoma: a randomized, prospective study. *Cancer.* 1978; 42 (5):2206-10.
 118. Ballo MT, Ang KK. Radiotherapy for cutaneous malignant melanoma: rationale and indications. *Oncology (Williston Park).* 2004; 18 (1):99-107.
 119. Burmeister BH, Mark Smithers B, Burmeister E i sur. A prospective phase II study of adjuvant postoperative radiation therapy following nodal surgery in malignant melanoma-Trans Tasman Radiation Oncology Group (TROG) Study 96.06. *Radiother Oncol.* 2006; 81 (2):136-42.

120. Olivier KR, Schild SE, Morris CG, Brown PD, Markovic SN. A higher radiotherapy dose is associated with more durable palliation and longer survival in patients with metastatic melanoma. *Cancer*. 2007; 110 (8):1791-5.
121. Eigentler TK, Caroli UM, Radny P, Garbe C. Palliative therapy of disseminated malignant melanoma: a systematic review of 41 randomised clinical trials. *Lancet Oncol*. 2003; 4 (12):748-59.
122. Atkins MB, Lotze MT, Dutcher JP i sur. High-dose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *J Clin Oncol*. 1999; 17 (7):2105-16.
123. Legha SS, Ring S, Bedikian A i sur. Treatment of metastatic melanoma with combined chemotherapy containing cisplatin, vinblastine and dacarbazine (CVD) and biotherapy using interleukin-2 and interferon-alpha. *Ann Oncol*. 1996; 7 (8):827-35.
124. Eton O, Legha SS, Bedikian AY i sur. Sequential biochemotherapy versus chemotherapy for metastatic melanoma: results from a phase III randomized trial. *J Clin Oncol*. 2002; 20 (8):2045-52.
125. Hauschild A, Gogas H, Tarhini A i sur. Practical guidelines for the management of interferon-alpha-2b side effects in patients receiving adjuvant treatment for melanoma: expert opinion. *Cancer*. 2008; 112 (5):982-94.
126. Wheatley K, Ives N, Hancock B, Gore M, Eggermont A, Suci S. Does adjuvant interferon-alpha for high-risk melanoma provide a worthwhile benefit? A meta-analysis of the randomised trials. *Cancer Treat Rev*. 2003; 29 (4):241-52.
127. Creech O, Jr., Kremenz ET, Ryan RF, Winblad JN. Chemotherapy of cancer: regional perfusion utilizing an extracorporeal circuit. *Ann Surg*. 1958; 148 (4):616-32.
128. Grunhagen DJ, de Wilt JH, van Geel AN, Eggermont AM. Isolated limb perfusion for melanoma patients--a review of its indications and the role of tumour necrosis factor-alpha. *Eur J Surg Oncol*. 2006; 32 (4):371-80.
129. Thompson JF, Lai DT, Ingvar C, Kam PC. Maximizing efficacy and minimizing toxicity in isolated limb perfusion for melanoma. *Melanoma Res*. 1994; 4 (Suppl 1):45-50.
130. Cornett WR, McCall LM, Petersen RP i sur. Randomized multicenter trial of hyperthermic isolated limb perfusion with melphalan alone compared with melphalan plus tumor necrosis factor: American College of Surgeons Oncology Group Trial Z0020. *J Clin Oncol*. 2006; 24 (25):4196-201.
131. Thompson JF, Kam PC. Isolated limb infusion for melanoma: a simple but effective alternative to isolated limb perfusion. *J Surg Oncol*. 2004; 88 (1):1-3.
132. Markovic SN, Erickson LA, Rao RD i sur. Malignant melanoma in the 21st century, part 2: staging, prognosis, and treatment. *Mayo Clin Proc*. 2007; 82 (4):490-513.
133. Mocellin S, Thompson JF, Pasquali S i sur. Sentinel node status prediction by four statistical models: results from a large bi-institutional series (n = 1132). *Ann Surg*. 2009; 250 (6):964-9.

134. van Akkooi AC, de Wilt JH, Verhoef C i sur. Clinical relevance of melanoma micrometastases (<0.1 mm) in sentinel nodes: are these nodes to be considered negative? *Ann Oncol.* 2006; 17 (10):1578-85.
135. van Akkooi AC, Nowecki ZI, Voit C i sur. Sentinel node tumor burden according to the Rotterdam criteria is the most important prognostic factor for survival in melanoma patients: a multicenter study in 388 patients with positive sentinel nodes. *Ann Surg.* 2008; 248 (6):949-55.
136. Kruper LL, Spitz FR, Czerniecki BJ i sur. Predicting sentinel node status in AJCC stage I/II primary cutaneous melanoma. *Cancer.* 2006; 107 (10):2436-45.
137. Gimotty PA, Guerry D, Ming ME i sur. Thin primary cutaneous malignant melanoma: a prognostic tree for 10-year metastasis is more accurate than American Joint Committee on Cancer staging. *J Clin Oncol.* 2004; 22 (18):3668-76.
138. Lindholm C, Andersson R, Dufmats M i sur. Invasive cutaneous malignant melanoma in Sweden, 1990-1999. A prospective, population-based study of survival and prognostic factors. *Cancer.* 2004; 101 (9):2067-78.
139. Garbe C, Buttner P, Bertz J i sur. Primary cutaneous melanoma. Prognostic classification of anatomic location. *Cancer.* 1995; 75 (10):2492-8.
140. McKinnon JG, Yu XQ, McCarthy WH, Thompson JF. Prognosis for patients with thin cutaneous melanoma: long-term survival data from New South Wales Central Cancer Registry and the Sydney Melanoma Unit. *Cancer.* 2003; 98 (6):1223-31.
141. Dewar DJ, Newell B, Green MA, Topping AP, Powell BW, Cook MG. The microanatomic location of metastatic melanoma in sentinel lymph nodes predicts nonsentinel lymph node involvement. *J Clin Oncol.* 2004; 22 (16):3345-9.
142. Balzi D, Carli P, Giannotti B, Buiatti E. Skin melanoma in Italy: a population-based study on survival and prognostic factors. *Eur J Cancer.* 1998; 34 (5):699-704.
143. Austin PF, Cruse CW, Lyman G, Schroer K, Glass F, Reintgen DS. Age as a prognostic factor in the malignant melanoma population. *Ann Surg Oncol.* 1994; 1 (6):487-94.
144. Chao C, Martin RC, 2nd, Ross MI i sur. Correlation between prognostic factors and increasing age in melanoma. *Ann Surg Oncol.* 2004; 11 (3):259-64.
145. Barker DE. Skin thickness in the human. *Plast Reconstr Surg* 1951; 7 (2):115-6.
146. Lee Y, Hwang K. Skin thickness of Korean adults. *Surg Radiol Anat.* 2002; 24 (3-4):183-9.
147. Demir B, Adabag A, Ozturk N, Gunes M. Effects of hormone replacement therapy and tibolone on skin thickness and bone in postmenopausal women. *Ann Saudi Med.* 2006; 26 (2):161-2.
148. Laurent A, Mistretta F, Bottiglioli D i sur. Echographic measurement of skin thickness in adults by high frequency ultrasound to assess the appropriate microneedle length for intradermal delivery of vaccines. *Vaccine.* 2007; 25 (34):6423-30.

149. Hasanzadeh P, Oveisgharan S, Sedighi N, Nafissi S. Effect of skin thickness on sensory nerve action potential amplitude. *Clin Neurophysiol.* 2008; 119 (8):1824-8.
150. Lopez H, Beer JZ, Miller SA, Zmudzka BZ. Ultrasound measurements of skin thickness after UV exposure: a feasibility study. *J Photochem Photobiol B.* 2004; 73 (3):123-32.
151. Masback A, Olsson H, Westerdahl J, Ingvar C, Jonsson N. Prognostic factors in invasive cutaneous malignant melanoma: a population-based study and review. *Melanoma Res.* 2001; 11 (5):435-45.
152. Ilmonen S, Asko-Seljavaara S, Kariniemi AL, Jeskanen L, Pyrhonen S, Muhonen T. Prognosis of primary melanoma. *Scand J Surg.* 2002; 91 (2):166-71.
153. Hsueh EC, Lucci A, Qi K, Morton DL. Survival of patients with melanoma of the lower extremity decreases with distance from the trunk. *Cancer.* 1999; 85 (2):383-8.
154. Talley LI, Soong S, Harrison RA, McCarthy WH, Urist MM, Balch CM. Clinical outcomes of localized melanoma of the foot: a case-control study. *J Clin Epidemiol.* 1998; 51 (10):853-7.
155. Gillgren P, Mansson-Brahme E, Frisell J, Johansson H, Larsson O, Ringborg U. A prospective population-based study of cutaneous malignant melanoma of the head and neck. *Laryngoscope.* 2000; 110 (9):1498-504.
156. Lachiewicz AM, Berwick M, Wiggins CL, Thomas NE. Survival differences between patients with scalp or neck melanoma and those with melanoma of other sites in the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) program. *Arch Dermatol.* 2008; 144 (4):515-21.
157. Wanebo HJ, Cooper PH, Young DV, Harpole DH, Kaiser DL. Prognostic factors in head and neck melanoma. Effect of lesion location. *Cancer.* 1988; 62 (4):831-7.
158. Nagore E, Oliver V, Botella-Estrada R, Moreno-Picot S, Insa A, Fortea JM. Prognostic factors in localized invasive cutaneous melanoma: high value of mitotic rate, vascular invasion and microscopic satellitosis. *Melanoma Res.* 2005; 15 (3):169-77.
159. Crocetti E, Mangone L, Lo Scocco G, Carli P. Prognostic variables and prognostic groups for malignant melanoma. The information from Cox and Classification And Regression Trees analysis: an Italian population-based study. *Melanoma Res.* 2006; 16 (5):429-33.
160. Kuno Y, Ishihara K, Yamazaki N, Mukai K. Clinical and pathological features of cutaneous malignant melanoma: a retrospective analysis of 124 Japanese patients. *Jpn J Clin Oncol.* 1996; 26 (3):144-51.
161. Weyers W, Euler M, Diaz-Cascajo C, Schill WB, Bonczkowitz M. Classification of cutaneous malignant melanoma: a reassessment of histopathologic criteria for the distinction of different types. *Cancer.* 1999; 86 (2):288-99.
162. Barnhill RL, Fine JA, Roush GC, Berwick M. Predicting five-year outcome for patients with cutaneous melanoma in a population-based study. *Cancer.* 1996; 78 (3):427-32.
163. Rousseau DL, Jr., Ross MI, Johnson MM i sur. Revised American Joint Committee on Cancer staging criteria accurately predict sentinel lymph

- node positivity in clinically node-negative melanoma patients. *Ann Surg Oncol*. 2003; 10 (5):569-74.
164. Karakousis CP, Emrich LJ, Rao U. Tumor thickness and prognosis in clinical stage I malignant melanoma. *Cancer*. 1989; 64 (7):1432-6.
 165. Slingluff CL, Jr., Vollmer RT, Reintgen DS, Seigler HF. Lethal "thin" malignant melanoma. Identifying patients at risk. *Ann Surg*. 1988; 208 (2):150-61.
 166. Crowson AN, Magro CM, Mihm MC. Prognosticators of melanoma, the melanoma report, and the sentinel lymph node. *Mod Pathol*. 2006; 19 (Suppl 2):S71-87.
 167. Gordon LG, Lowry WS, Pedlow PJ, Patterson CC. Poor prognosis for malignant melanoma in Northern Ireland: a multivariate analysis. *Br J Cancer*. 1991; 63 (2):283-6.
 168. Retsas S, Henry K, Mohammed MQ, MacRae K. Prognostic factors of cutaneous melanoma and a new staging system proposed by the American Joint Committee on Cancer (AJCC): validation in a cohort of 1284 patients. *Eur J Cancer*. 2002; 38 (4):511-6.
 169. Balch CM, Wilkerson JA, Murad TM, Soong SJ, Ingalls AL, Maddox WA. The prognostic significance of ulceration of cutaneous melanoma. *Cancer*. 1980; 45 (12):3012-7.
 170. Kim SH, Garcia C, Rodriguez J, Coit DG. Prognosis of thick cutaneous melanoma. *J Am Coll Surg*. 1999; 188 (3):241-7.
 171. Chang CK, Jacobs IA, Vizgirda VM, Salti GI. Melanoma in the elderly patient. *Arch Surg*. 2003; 138 (10):1135-8.
 172. Grande Sarpa H, Reinke K, Shaikh L i sur. Prognostic significance of extent of ulceration in primary cutaneous melanoma. *Am J Surg Pathol*. 2006; 30 (11):1396-400.
 173. Azzola MF, Shaw HM, Thompson JF i sur. Tumor mitotic rate is a more powerful prognostic indicator than ulceration in patients with primary cutaneous melanoma: an analysis of 3661 patients from a single center. *Cancer*. 2003; 97 (6):1488-98.
 174. Barnhill RL, Katzen J, Spatz A, Fine J, Berwick M. The importance of mitotic rate as a prognostic factor for localized cutaneous melanoma. *J Cutan Pathol*. 2005; 32 (4):268-73.
 175. Francken AB, Shaw HM, Thompson JF i sur. The prognostic importance of tumor mitotic rate confirmed in 1317 patients with primary cutaneous melanoma and long follow-up. *Ann Surg Oncol*. 2004; 11 (4):426-33.
 176. Kashani-Sabet M, Sagebiel RW, Ferreira CM, Nosrati M, Miller JR, 3rd. Tumor vascularity in the prognostic assessment of primary cutaneous melanoma. *J Clin Oncol*. 2002; 20 (7):1826-31.
 177. Shaw HM, Rivers JK, McCarthy SW, McCarthy WH. Cutaneous melanomas exhibiting unusual biologic behavior. *World J Surg*. 1992; 16 (2):196-202.
 178. Guitart J, Lowe L, Piepkorn M i sur. Histological characteristics of metastasizing thin melanomas: a case-control study of 43 cases. *Arch Dermatol*. 2002; 138 (5):603-8.
 179. Cecchi R, Buralli L, Innocenti S, De Gaudio C. Sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanomas. *J Dermatol*. 2007; 34 (8):512-5.

180. Kaur C, Thomas RJ, Desai N i sur. The correlation of regression in primary melanoma with sentinel lymph node status. *J Clin Pathol*. 2008; 61 (3):297-300.
181. Taylor RC, Patel A, Panageas KS, Busam KJ, Brady MS. Tumor-infiltrating lymphocytes predict sentinel lymph node positivity in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol*. 2007; 25 (7):869-75.
182. Ladanyi A, Kiss J, Somlai B i sur. Density of DC-LAMP(+) mature dendritic cells in combination with activated T lymphocytes infiltrating primary cutaneous melanoma is a strong independent prognostic factor. *Cancer Immunol Immunother*. 2007; 56 (9):1459-69.
183. Ladanyi A, Somlai B, Gilde K, Fejos Z, Gaudi I, Timar J. T-cell activation marker expression on tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic factor in cutaneous malignant melanoma. *Clin Cancer Res*. 2004; 10 (2):521-30.
184. Straume O, Akslen LA. Independent prognostic importance of vascular invasion in nodular melanomas. *Cancer*. 1996; 78 (6):1211-9.
185. Kashani-Sabet M, Sagebiel RW, Ferreira CM, Nosrati M, Miller JR, 3rd. Vascular involvement in the prognosis of primary cutaneous melanoma. *Arch Dermatol*. 2001; 137 (9):1169-73.
186. Zettersten E, Sagebiel RW, Miller JR, 3rd, Tallapureddy S, Leong SP, Kashani-Sabet M. Prognostic factors in patients with thick cutaneous melanoma (> 4 mm). *Cancer*. 2002; 94 (4):1049-56.
187. Morton DL, Thompson JF, Essner R i sur. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Ann Surg*. 1999; 230 (4):453-63.
188. Morton DL, Chan AD. Current status of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for melanoma: is it standard of care? *J Am Coll Surg*. 1999; 189 (2):214-23.
189. Lee JH, Essner R, Torisu-Itakura H, Wanek L, Wang H, Morton DL. Factors predictive of tumor-positive nonsentinel lymph nodes after tumor-positive sentinel lymph node dissection for melanoma. *J Clin Oncol*. 2004; 22 (18):3677-84.
190. van Akkooi AC, Spatz A, Eggermont AM, Mihm M, Cook MG. Expert opinion in melanoma: the sentinel node; EORTC Melanoma Group recommendations on practical methodology of the measurement of the microanatomic location of metastases and metastatic tumour burden. *Eur J Cancer*. 2009; 45 (16):2736-42.
191. Scheri RP, Essner R, Turner RR, Ye X, Morton DL. Isolated tumor cells in the sentinel node affect long-term prognosis of patients with melanoma. *Ann Surg Oncol*. 2007; 14 (10):2861-6.
192. Scoggins CR, Ross MI, Reintgen DS i sur. Prospective multi-institutional study of reverse transcriptase polymerase chain reaction for molecular staging of melanoma. *J Clin Oncol*. 2006; 24 (18):2849-57.
193. Mocellin S, Hoon DS, Pilati P, Rossi CR, Nitti D. Sentinel lymph node molecular ultrastaging in patients with melanoma: a systematic review and meta-analysis of prognosis. *J Clin Oncol*. 2007; 25 (12):1588-95.
194. Ariyan CE, Coit DG. Clinical aspects of sentinel lymph node biopsy in melanoma. *Semin Diagn Pathol*. 2008; 25 (2):86-94.

195. Cook MG, Green MA, Anderson B i sur. The development of optimal pathological assessment of sentinel lymph nodes for melanoma. *J Pathol.* 2003; 200 (3):314-9.
196. Abrahamsen HN, Hamilton-Dutoit SJ, Larsen J, Steiniche T. Sentinel lymph nodes in malignant melanoma: extended histopathologic evaluation improves diagnostic precision. *Cancer.* 2004; 100 (8):1683-91.
197. Spanknebel K, Coit DG, Bieligm SC, Gonen M, Rosai J, Klimstra DS. Characterization of micrometastatic disease in melanoma sentinel lymph nodes by enhanced pathology: recommendations for standardizing pathologic analysis. *Am J Surg Pathol.* 2005; 29 (3):305-17.
198. Scolyer RA, Murali R, McCarthy SW, Thompson JF. Pathologic examination of sentinel lymph nodes from melanoma patients. *Semin Diagn Pathol.* 2008; 25 (2):100-11.
199. Essner R. Sentinel lymph node biopsy and melanoma biology. *Clin Cancer Res.* 2006; 12 (7 Pt 2):2320s-5s.
200. Wargo JA, Tanabe K. Surgical management of melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009; 23 (3):565-81.
201. Cascinelli N, Clemente C, Bifulco C i sur. Do patients with tumor-positive sentinel nodes constitute a homogeneous group? *Ann Surg Oncol.* 2001; 8 (9 Suppl):35S-7S.
202. Chan AD, Essner R, Wanek LA, Morton DL. Judging the therapeutic value of lymph node dissections for melanoma. *J Am Coll Surg.* 2000; 191 (1):16-22.
203. Dzwierzynski WW. Complete lymph node dissection for regional nodal metastasis. *Clin Plast Surg* 2010; 37 (1):113-25.
204. Bafounta ML, Beauchet A, Chagnon S, Saiag P. Ultrasonography or palpation for detection of melanoma nodal invasion: a meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2004; 5 (11):673-80.
205. Smolle J, Okcu A, Hofmann-Wellenhof R i sur. Automated measurement of melanoma cross-sectional area. *Am J Dermatopathol.* 1998; 20 (2):155-9.
206. Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW i sur. Volume of malignant melanoma is superior to thickness as a prognostic indicator. Preliminary observation. *Dermatol Clin.* 1991; 9 (4):643-8.
207. Rongioletti F, Smoller BR. Unusual histological variants of cutaneous malignant melanoma with some clinical and possible prognostic correlations. *J Cutan Pathol.* 2005; 32 (9):589-603.
208. Lefevre M, Vergier B, Balme B i sur. Relevance of vertical growth pattern in thin level II cutaneous superficial spreading melanomas. *Am J Surg Pathol.* 2003; 27 (6):717-24.
209. Depasquale I, Thompson WD. Microvessel density for melanoma prognosis. *Histopathology.* 2005; 47 (2):186-94.
210. Carnochan P, Briggs JC, Westbury G, Davies AJ. The vascularity of cutaneous melanoma: a quantitative histological study of lesions 0.85-1.25 mm in thickness. *Br J Cancer.* 1991; 64 (1):102-7.
211. Lugassy C, Barnhill RL. Angiotropic melanoma and extravascular migratory metastasis: a review. *Adv Anat Pathol.* 2007; 14 (3):195-201.

212. Gerami P, Shea C, Stone MS. Angiotropism in epidermotropic metastatic melanoma: another clue to the diagnosis. *Am J Dermatopathol.* 2006; 28 (5):429-33.
213. Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW i sur. Favorable prognosis for malignant melanomas associated with acquired melanocytic nevi. *Arch Dermatol.* 1983; 119 (6):455-62.
214. Drunkenmolle E, Marsch W, Lubbe D, Helmbold P. Paratumoral epidermal hyperplasia: a novel prognostic factor in thick primary melanoma of the skin? *Am J Dermatopathol.* 2005; 27 (6):482-8.
215. White RR, Stanley WE, Johnson JL, Tyler DS, Seigler HF. Long-term survival in 2,505 patients with melanoma with regional lymph node metastasis. *Ann Surg.* 2002; 235 (6):879-87.

10. Životopis

Franjo Rudman, dr. med.

Klinika za plastičnu, rekonstrukcijsku i estetsku kirurgiju, KB "Dubrava"

Obrazovanje

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1997

Znanstveni poslijediplomski studij 2000–2003.

Specijalist opće kirurgije 2005.

Subspecijalist plastične kirurgije 2008.

Radno iskustvo

Klinika za tumore, Zagreb: liječnički staž 1997–1998,

KB "Dubrava" specijalizacija opće kirurgije 2000–2005, subspecijalizacija plastične kirurgije 2005–2008.

Liječnik Klinike za plastičnu, rekonstrukcijsku i estetsku kirurgiju od 2005.

Znanstveno aktivnost

Suradnik na projektu Ministarstva znanosti:

"Liječenje bolesnika sa ozljedom perifernih živaca" 2000–2005.

Publikacije

3 radova u časopisima indeksiranim u Current Contentsu, 2 radova u drugim indeksiranim časopisima, 3 poglavlja u knjigama,

Osobni podaci

Rođen u Zagrebu, 1973.

Otac jednog djeteta.