

Obeležavanje puta limfnog širenja melanoma i biopsija stražarskih limfnih žlezda

Ljubomir Panajotović

Vojnomedicinska akademija, Klinika za plastičnu hirurgiju i opekotine, Beograd

Ključne reči: koža, neoplazme; melanom; neoplazme, limfne metastaze; limfni čvorovi, stražarski, biopsija; scintigrafija; prognoza.

Key words: skin neoplasms; melanoma; lymphatic metastasis; sentinel lymph node biopsy, radionuclide imaging; prognosis.

Značajan porast incidence melanoma širom sveta poslednjih decenija (1–3) nametnuo je programe prevencije i edukacije stanovništva i ubrzan razvoj postupaka rane dijagnostike i lečenja (4).

Poznavanje faktora koji predskazuju rizik od lokalnog recidiva i metastatske bolesti je osnova u donošenju odluke o načinu lečenja (4, 5). Debljina primarnog tumora i prisustvo ulceracije su najznačajniji, međusobno nezavisni, prognostički faktori u vezi sa razvojem regionalne i diseminovane metastatske bolesti i preživljavanjem bolesnika (6–14). Sem njih, na prognozu mogu uticati nivo invazije, mitotski indeks, limfocitna infiltracija, vaskularna invazija, znaci regresije, mikroskopska satelitoza, kao i pol i starost bolesnika, lokalizacija i klinički tip primarnog tumora. Ove karakteristike, međutim, prognostički samo svrstavaju obolele u osobe sa rizikom od pojave recidiva i metastatske progresije bolesti, bez identifikacije onih kod kojih je to izvesno ili se bolest već proširila.

Kada se kod obolelog otkriju metastaze melanoma u regionalnim limfonodusima, prognostički faktori vezani za primarni tumor, imaju vrlo mali uticaj na prognostički model. Prisustvo ili odsustvo metastaza u regionalnim limfnim žlezdama tada postaje ključni prognostički faktor toka i ishoda bolesti (4, 15–17). Petogodišnje preživljavanje bolesnika sa metastazama u regionalnim limfonodusima kreće se od 13% do 45%, zavisno od broja zahvaćenih nodusa (15–17). Prisustvo metastaza u limfnim žlezdama smanjuje petogodišnje preživljavanje bolesnika za približno 45% u poređenju sa onima bez nodusnih metastaza. Uz to, potvrda o zahvaćenosti nodusa identifikuje osobe koje mogu imati koristi od primene adjuvantne terapije (4, 16). Kod bolesnika sa nodusnim metastazama broj zahvaćenih limfnih žlezda

je najvažniji prognostički pokazatelj (9, 13, 14, 16, 18–20). Broj metastatskih limfonodusa je uzet kao kriterijum u N klasifikaciji novog klasifikacionog sistema za melanome Američkog udruženog komiteta za rak (*American Joint Committee on Cancer-AJCC*), u kome se ove metastaze dele na mikroskopske i makroskopske (14). U klasifikacioni sistem je uveden i pojam intralimfatskih metastaza. Ovaj pojam obuhvata klinički manifestovane i mikroskopske prateće (sateliti) i usputne (*in transit*) metastaze. Budući da su oba ova entiteta patofiziološki i prognostički samo različite tačke u kontinuitetu istog procesa, svrstani su zajedno u N klasifikaciju (14).

Elektivna limfonododisekcija

Oko 90% bolesnika sa melanomom javlja se lekaru u fazi lokalizovane bolesti, bez klinički evidentnih metastaza u regionalnim limfnim žlezdama ili udaljenih metastaza (I i II stadijum po AJCC klasifikaciji) (9, 14, 21, 22). Ovi bolesnici predstavljaju čestu terapijsku dilemu u pogledu postupka sa limfnim žlezdama. Kod oko 10% bolesnika sa primarnim melanomom tanjim od 1 mm već u fazi inicijalnog lečenja postoje mikroskopske, kliničke okultne metastaze u limfnim žlezdama. Rizik od postojanja ovih metastaza kod bolesnika sa melanomom srednje debljine (1–4 mm) iznosi oko 57%, dok se pri debljini primarnog tumora većoj od 4 mm penje na 62% (7). Imajući u vidu statistički signifikantnu korelaciju između a) veće debljine tumora i opadanja preživljavanja, b) stepena invazije slojeva kože i porasta incidence nodusnih metastaza i c) produžavanja života bolesnika sa visoko rizičnim tumorom kod kojih je učinjena profilaktička limfonododisekcija, onkološki hirurzi

su se kod bolesnika sa velikim rizikom postojanja okultnih metastaza u limfnim žlezdama odlučivali između mogućnosti da odmah učine profilaktičku, odnosno elektivnu limfonododisekciju (ELND) i tzv. *watch and wait* programa (posmatrati i čekati) sa pažljivim praćenjem i odloženom, terapijskom limfonododisekcijom (TLND) kada se metastaze i klinički razviju. Polazeći od hipoteze o postupnom metastaziranju melanoma, najpre u regionalne limfne žlezde, a potom na udaljena mesta i dokaza da progresivno zahvatanje limfnih nodusa metastazama povećava rizik od distalnog širenja (23), zaključeno je da se ranim odstranjivanjem metastatski zahvaćenih limfnih žlezda, uz radikalnu eksciziju primarnog tumora, može značajno odstraniti izvor rezidualne bolesti i prekinuti kaskada u njenom širenju (24). Ovaj pristup može imati značaja u lečenju samo ukoliko već nije došlo do šire diseminacije bolesti.

S obzirom na mali rizik od metastaziranja tzv. tankih ili ranih melanoma (melanoma *in situ* i invazivni melanom tanji od 0,75 mm, odnosno 1 mm) generalno je prihvaćeno da oni ne iziskuju ELND (25). Bolesnici sa debelim kožnim lezijama (preko 4 mm) imaju visok rizik od nastanka metastaza u regionalnim nodusima (62%), kao i okultne diseminacije (72%–85%) (26, 27), pa elektivno odstranjivanje žlezda u ovoj grupi nije neophodno i može se obaviti palijativno kada metastaze postanu klinički vidljive (24, 28). Palijativni efekat terapijske disekcije ne treba umanjiti ni u toj fazi, jer kod bolesnika sa očekivanim preživljavanjem dužim od godinu dana netretirane nodusne metastaze mogu nekrotisati i dati bolne ulceracije, a svojom masom vršiti kompresiju na velike krvne sudove i živce regije (29). Bolesnici sa primarnim tumorom srednje debljine (0,76 mm – 4 mm) imaju do 57% rizika od nastanka okultnih regionalnih metastaza i nizak rizik od nastanka distalnih metastaza. Treba, dakle, očekivati da upravo kod njih agresivan lokoregionalni pristup može povoljno uticati na ishod (24, 30). Korist od hirurškog uklanjanja limfnih žlezda sa klinički okultnim metastazama proistekla bi iz činjenice da ono utiče na preživljavanje bolesnika. Zastupnici ELND tvrde da značajan broj bolesnika može biti zaštićen od diseminacije melanoma odstranjenjem limfonodusa u ranoj fazi bolesti. Oponenti ELND su mišljenja da su regionalne metastaze samo prognostički markeri za sistemsku diseminaciju za koju, za sada, nema efektivne terapije, te da je, ako ELND i može da utiče na tok bolesti, vrlo mala subpopulacija bolesnika koji mogu imati korist od ovog postupka. Sprovođenje ELND kod svih bolesnika sa tumorom srednje debljine i klinički negativnim žlezdama bi značilo učiniti u velikoj populaciji bolesnika operaciju sa potencijalnim morbiditetom i malom koristi.

U prilog ELND govore izveštaji o relativno visokoj incidenci regionalnih nodusnih metastaza u prve tri godine po uklanjanju primarnog tumora kod bolesnika sa melanomom srednje debljine (do 45%) i niskom riziku pojave udaljenih metastaza u toku pet godina (manje od 25%) (31). Koncept da progresivno zahvatanje nodusa metastazama povećava rizik od distalnog širenja potkrepljuje se podatkom o petogodišnjem preživljavanju 40–50% bolesnika sa

mikrometastazama prema 20–25% bolesnika sa klinički vidljivim limfonodusnim metastazama (32). Iako neke rane studije govore o većem stepenu preživljavanja bolesnika sa učenom ELND (32–35), kasnija klinička istraživanja nisu potvrdila efikasnost ELND kao rutinskog postupka (36–47). Zaključeno je, međutim, da bolesnici sa klinički pozitivnim regionalnim žlezdama imaju lošiju prognozu, kao i da disekcija klinički neotkrivenih nodusnih metastaza vodi dugotrajnijem preživljavanju (46). U ispitivanju Intergrupnog komiteta za melanom je nađeno da je u grupi bolesnika mlađih od 60 godina sa tumorom debljine 1–2 mm znatno povoljnije preživljavanje ako je izvedena ELND, nego kod starijih bolesnika (47). Naglašava se da je ovo prvo ispitivanje koje je istaklo značaj hirurškog tretmana klinički okolnih metastaza. S obzirom na potencijalni morbiditet koji ELND može doneti, ovaj postupak nije prihvaćen kao rutinska intervencija kod svih bolesnika sa melanomom (41, 48, 49).

Obeležavanje limfatika i biopsija stražarskih limfonodusa

Postalo je izvesno da je u grupi bolesnika sa rizikom bolje naći one sa okultnim metastazama u limfnim žlezdama nego kod svih vršiti ELND, kao i da treba razviti minimalno invazivan način otkrivanja okultnih metastaza u limfnim nodusima.

Sledeći ovaj koncept Donald Morton i saradnici iz Džon Vejn instituta za rak u Santa Moniki (Kalifornija, SAD) razvili su nov metod ranog otkrivanja metastaza melanoma u limfonodusima. Ovim postupkom identifikuje se put limfne drenaže sektora kože sa primarnim melanomom do prvih regionalnih limfnih žlezda koje mogu sadržati metastatske ćelije. Prve limfne žlezde u regionalnom limfnom basenu koje zadržavaju metastatske ćelije melanoma nazvane su limfnim žlezdama stražarima (*sentinel lymph node, SLN*). Selektivnom limfadenektomijom ovih nodusa i odgovarajućom histološkom obradom može se u njima otkriti prisustvo mikrometastaza. Na taj način uveden je pojam intraoperativnog obeležavanja limfatika (*intraoperative lymphatic mapping*) i selektivne limfadenektomije stražarskih limfonodusa (*Selective lymphadenectomy of sentinel draining lymph nodes*). Metod je prvi put prezentiran stručnoj javnosti na 11. godišnjem sastanku Američkog udruženja hirurga, aprila 1991. god. i iste godine publikovan (50–52).

Metod je baziran na, danas prihvaćenoj, hipotezi da limfno metastaziranje melanoma prati pravilnu progresiju kroz aferentne limfne kanale do prve žlezde u drenažnom limfnom basenu, odnosno do žlezde koja prva prima metastaze iz određene regije kože (limfatom) odakle se širi u „više“, odnosno proksimalnije limfne žlezde (4, 23, 53). Pokazano je da su stražarske limfne žlezde reprezentativne za sve noduse u basenu, posebno ako su negativne. (50, 54–57). Postotak preskačućih (*skip*) metastaza, definisanih kao metastaze u žlezdama višeg nivoa bez zahvaćenosti stražarskih limfnih žlezda, je, prema različitim podacima, manji od 2% (53). Morton i saradnici pokazali su da je SLN obično solitarna limfna žle-

zda. U 20% slučajeva moguće je identifikovati dva, a znatno ređe, u oko 8% slučajeva, tri sentinel limfonodusa. U Mortonovom ispitivanju na 223 bolesnika (237 nodusna basena) *sentinel* nodusi su identifikovani kod 82% bolesnika, dok su metastaze histološki nađene kod 18% sa 5% lažno negativnih. Kod negativnih SLN preostali LN su bili negativni u 95% slučajeva (50). Ispitivanja u drugim velikim centrima za melanom potvrdila su pravilnu progresiju metastaziranja melanoma (23, 57–60). Ovim postupkom SLN su identifikovane prilikom 92% preponskih disekcija, 82% aksilarnih, 66% cervikalnih i supraklavikularnih.

Hirurški metod selektivne limfadenektomije kod melanoma uključuje dve osnovne tehničke pretpostavke: 1. tačno određivanje drenažnog limfonodusnog basena i 2. identifikaciju i biopsiju limfonodusa stražara.

Identifikacija drenažnog limfnog basena

Najraniji rad o limfnoj drenaži kože koji potiče iz XIX veka govori o injekcionom ispitivanju na kadaverima koje je izvršio anatom Sappey. Pokazano je da se u nekim telesnim regijama putevi limfne drenaže „preklapaju“ i zbog toga se ne mogu precizno odrediti. Rezultat ovog ispitivanja više od veka je bio orijentacioni anatomski standard limfne drenaže površine tela. Definisana je Sappejeva srednja linija tela širine 2,5 cm koja okružuje trup u nivou iznad umbilikusa i oko leđa, prema drugom lumbalnom pršljenu. Područja kože iznad ove linije dreniraju se, prema ovome, u istostrane aksilarne, a ispod nje u ingvinalne noduse. Kasnije dinamičke *in vivo* studije pokazale su da su područja preklapanja mnogo veća u odnosu na Sappejev opis i da se ne može predvideti limfno dreniranje melanoma do 10 cm od vertikalne srednje linije trupa i 10 cm od Sappejeve linije. Uz to, cela glava i vrat predstavljaju regiju sa preklapanjem limfne drenaže. Dvosmerna ili višesmerna limfna drenaža je mnogo češća od klasično opisane (60–61).

Prvi *in vivo* metod za obeležavanje limfatika bila je limfangiografija. Korišćeni su razni radiofarmaci, uključujući radioaktivno zlato (Au 198), lipiodol, galijum. U praksi se bolje pokazala limfoscintigrafija zbog manje invazivnosti i potrebe za manjom količinom radioaktivnog materijala (53, 62). Kutana limfoscintigrafija kao metod identifikovanja nodusnog basena primarne drenaže melanoma uvedena je 1977. god. (63) i više puta modifikovana (64). Limfoscintigrafskim ispitivanjima su ustanovljena značajna neslaganja klasično očekivanih puteva limfne drenaže i limfoscintigrafskih *in vivo* podataka (glava i vrat 63% odnosno 36,7%, trup 32%, odnosno 25,3%) (61, 65, 66). Zaključuje se da je za svakog bolesnika neophodno učiniti preoperativnu limfoscintigrafiju.

Preoperativna limfoscintigrafija

Tehnika preoperativne limfoscintigrafije (PLS) sastoji se u intradermalnom ubrizgavanju radiofarmaka oko primarnog melanoma, mesta biopsije ili ekscizije 2–6 h pre

planirane hirurške intervencije, tako da radiofarmak ima vremena da prođe kroz aferentne limfatike i koncentriše se u SLN (62, 64, 67). Približno 10 minuta posle injiciranja moguće je dobiti preciznu informaciju u pogledu puta limfne drenaže i prepoznati potencijalno metastatsko mesto melanoma u regionalnim limfnim žlezdama. Rano dinamičko praćenje vrši se radi otkrivanja ulaska radiofarmaka u limfne kanale i registrovanje njegovog toka. Odloženim odslikavanjem evaluira se fokalna akumulacija radiofarmaka u limfonodusima. Srednje trajanje odloženog odslikavanja je oko 60 min (prosečno 10–165 min). Najčešće korišćeni radiofarmaci su koloidne smeše (dekstran, sumporkoloid, humani serum albumin, antimon trisulfid, koloidne smeše sa antimelanomskim antitelima) obeležene radioaktivnim tehnecijumom (Tc99m). Ovi radiofarmaci su gama-emiteri (50–53, 65, 68–72). Ukupna radioaktivna doza korišćenog radiofarmaka pri izvođenju ovog postupka kraće se oko 50–85 mBq (53, 65, 70).

Preoperativnom limfoscintigrafijom omogućava se:

1. utvrđivanje pravca limfne drenaže i identifikacija svih nodusnih basena sa rizikom od metastatske bolesti (73). Kutane lezije ponekad dreniraju i u duboke noduse kao što su paraaortni, medijastinumski, interni mamarni, paravertebralni (73, 74). Lezije gornjeg ekstremiteta mogu proći aksilarne noduse i drenirati se u supraklavikularne noduse. Identifikovani su limfni kanali koji spajaju desne i leve preponske noduse (53, 75);

2. identifikacija usputnih (*in transit*) nodusa. Usputni nodusi mogu biti pogrešno shvaćeni kao SLN, posebno ako su locirani neposredno uz samu granicu limfonodusnog basena. Ovi tzv. intervalni nodusi mogu se videti u ranoj fazi skeniranja kao polja fokalne akumulacije radiofarmaka koja perzistiraju i u kasnijem skeniranju (70, 76). Usputne nodusne metastaze se sreću kod oko 25% bolesnika sa melanomom centralnog dela leđa, kao i u antekubitalnoj i poplitealnoj regiji kod lokalizacija primarnog tumora u distalnim delovima ekstremiteta (53);

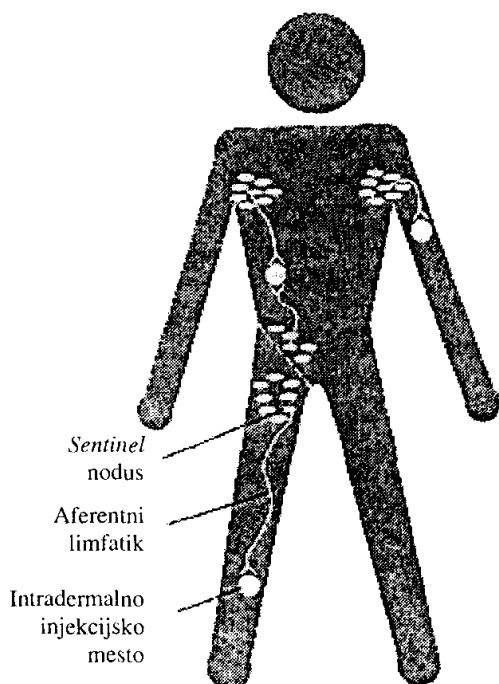
3. identifikacija lokalizacije SLN u odnosu na preostale noduse u limfonodusnom basenu. SLN jeste prvi nodus koji prima radiofarmak, ali on prostorno nije uvek i najbliži primarnom tumoru (70). Njegova lokacija varira u limfonodusnom basenu i zato se mora markirati u odnosu na ostale noduse, što PLS u dve ravni omogućava sasvim dobro. Tehnika preoperativne limfoscintigrafije je mnogo pouzdanija za identifikovanje SLN u preponama i vratu, gde su nodusi površniji, u odnosu na aksilu gde se vrlo teško može zaključiti da li su SLN napred, pozadi, više ili niže u basenu. Zbog toga je neophodno i intraoperativno obeležavanje. Teškoće u ovom predstavljaju i gojazni pacijenti.

4. Procena broja SLN u regionalnom limfonodalnom basenu.

Intraoperativno obeležavanje limfatika i biopsija SLN

Mortonova tehnika intraoperativnog obeležavanja limfatika i biopsije SLN razvijena je radi vizuelizacije i lakše identifikacije „*sentinel*“ nodusa (16, 50). Zahvat se obavlja

u oštoj anesteziji kod hospitalizovanih ili u lokalnoj anesteziji sa intravenskom sedacijom kod ambulantnih bolesnika. Izvodi se intradermalnim ubrizgavanjem minimalne količine plave boje (0,5–1 ml) u neposrednu okolnu primarnog tumora ili ekscizionog ožiljka. Boja ubrizgana u dermalni limfni pleksus dolazi aferentnim limfnim sudom do limfonodusa stražara. Neophodna je preciznost da se boja ne bi ubrizgala potkožno, što bi dovelo do njenog brzog prolaza kroz dublje limfatičke duž vena i mimoišlo SLN. Morton zbog toga predlaže obuku u tehničkoj veštini i metod preporučuje samo za iskusne (50). Plava boja u toku 10–20 min prolazi kroz limfne kanale i dolazi do SLN. Incizijom iznad nodalnog basena identifikuju se svetloplavo obojeni aferentni limfatični kanali koji vode do *sentinel* nodusa. Ako je potrebno, postupak se ponavlja svakih 10–20 min da bi se izbegao gubitak boje iz SLN. Bilo koji plavo obojeni nodus može se smatrati SLN. Ponekad je potrebno izvaditi više nodusa.



Sl. 1— Limfatičko obeležavanje i identifikacija *sentinel* limfonodusa kod melanoma ekstremiteta i trupa. Prema Johnsonu (4).

Morton i sar. su ispitivali nekoliko boja u pogledu njihove primenljivosti za obeležavanje limfatičnog sistema (metilensko plavo, izosulfan plavo, patent blue V, fluorescein) (50). Nađeno je da boje Patent blue V i 1% vodeni rastvor izosulfan plavo (Lymphasurin blue) brzo ulaze u limfne sudove sa minimalnom difuzijom u okolna tkiva. Morton preporučuje Patent blue V zbog njegovog boljeg bojenja aferentnih limfnih sudova i SLN od limfazurina, verovatno zbog postizanja veće koncentracije u SLN. Kod izvesnog broja bolesnika sa tankom kožom nakon ubrizgavanja plave boje aferentni sudovi se ocrtavaju i na površini kože. Upotreba ovih

boja izuzetno je retko praćena alergijskom reakcijom. Moćna je, međutim, retencija boje u vidu tetovaže kože oko mesta primarnog tumora (ukoliko nije širom ekscizijom uklonjeno) i više od godinu dana. Plava boja se pojavljuje u urinu u toku prvih 24 h posle injiciranja.

Pažljivom eksploracijom oko prvog uočenog obojenog nodusa identifikuje se eventualno prisustvo i drugih obojenih nodusa. SLN se markira šavom, ekscidira i šalje na *ex tempore* PH analizu. Ukoliko je rezultat PH *ex tempore* analize pozitivan, izvodi se kompletna limfonododisekcija svih regionalnih limfnih žlezda. Ukoliko je, pak, rezultat ove analize negativan, SLN se šalje na dalje permanentno PH analiziranje (H&E, IHH, RT-PCR), a eventualna limfonododisekcija se odlaže do dobijanja histopatoloških rezultata.

Obeležavanje limfatičnog sistema na navedeni način kritikovano je zbog neophodnosti velikog tehničkog iskustva za njegovo izvođenje, zbog potrebe beskrvnog polja da bi se izbeglo presecanje limfatičnog sistema i kratkog zadržavanja boje u SLN (53). Osim toga, oko 20% neuspeha u identifikovanju SLN sa oko 5% lažno pozitivnih rezultata ukazuje na nedovoljnu pouzdanost metoda.

Intraoperativna limfoscintigrafija

Radi postizanja veće uspešnosti u identifikaciji SLN učinjen je napredak uvođenjem metoda intraoperativne radio-limfoscintigrafije (77–79). Postupak je uveden prvenstveno radi prevazilaženja nedostataka limfnog obeležavanja bojom.

Ova tehnika je posebno korisna prilikom obeležavanja SLN u aksili (56, 80). Za intraoperativnu limfoscintigrafiju koristi se isti radiofarmak koji se daje radi preoperativne limfoscintigrafije.

Tehnika se može izvoditi u kombinaciji sa preoperativnom limfoscintigrafijom i obeležavanjem limfatičnog sistema bojom. Nakon preoperativnog ubrizgavanja radiokoloida i intraoperativnog injiciranja plave boje ručnom gama-sondom precizno se odredi mesto radioaktivnog (toplog) nodusa stražara. Ovo omogućava malu inciziju na koži i direktan pristup nodusu. Lakša identifikacija SLN osigurava kompletno odstranjivanje SLN i verifikuje odsustvo drugih SLN uz kraće vreme operacije. Prolongirana radioaktivnost omogućava da radiofarmak primeni specijalista nuklearne medicine i do 24h pre operacije (81).

Radioaktivnost ekscidiranog SLN se meri *ex vivo* direktnim stavljanjem nodusa na gama-sondu, a zatim upoređuje sa radioaktivnošću limfonodusnog basena da bi se utvrdilo eventualno postojanje još kojeg SLN i njegova disekcija. Inicijalno, SLN je bio definisan ukoliko ima najmanje 15 signala u 10 s i radioaktivnost najmanje 3:1 *in vivo* u poređenju sa okolinom (77–79). Kasnije je predloženo da se SLN definiše kao svaki plavo obojeni nodus i svaka *in vivo* „topla mrlja“ sa odnosom radioaktivnosti (SLN: okolina) najmanje 3:1 ili *ex vivo* (SLN: ne SLN) 10:1 (59).

Uspešnost identifikacije SLN limfoscintigrafijom prema različitim podacima je između 95% i 99% (56, 59, 77–79, 82–86).

Preoperativne limfoscintigrafija sa selektivnim intraoperativnim obeležavanjem limfnih žlezda gama-sondom i vizuelizacijom pomoću plave boje su komplementarne tehnike i treba ih primenjivati simultano radi povećanja uspešnosti lokalizacije SLN (87–89). Ako je mesto primarnog tumora blizu, iznad ili u direktnoj liniji sa regionalnim limfonodusnim basenom, ručnom gama-sondom nije moguće precizno odrediti mesto SLN zbog efekta „prosijavanja“ radioaktivnosti na čitav limfonodusni basen, pa tehnika obeležavanja bojom može dati pouzdaniji rezultat. Nasuprot ovome, kod gojaznih bolesnika (debeo sloj masnog tkiva) ili primarnog tumora lokalizovanog na koži glave i vrata (blizina brojnih vitalnih struktura) nije moguće pouzdano i brzo otkriti plavo obojene limfatike i SLN, pa je neophodno scintigrafski locirati „toplu“ mrlju na koži.

Iako se za ovaj postupak koriste male doze radiofarmaka, neophodno je usvajanje radioprotektivnog postupka radi sigurnosti svih učesnika u njemu (bolesnika i osoblja). Ovo uključuje, između ostalog, i postupak sa instrumentima i sanitetskim i biološkim materijalom (70). Neki patolozi zahtevaju i odloženu patohistološku analizu zbog radioaktivnosti nodusa, odnosno histološku preparaciju nodusa kada se ovaj „ohladi“ i izgubi radioaktivnost. U ovakvom pristupu, ukoliko je SLN pozitivan (otkrivene metastaze), kompletna limfadenektomija se odlaže za sledeći operativni akt.

Patohistološka obrada

Ekstirpirani nodus se u toku operacije šalje na *ex tempore* analizu radi brze interpretacije (50, 51). Moguće je i brzo bojenje zamrznutog materijala S-100 imunoperoxidazom radi poboljšanja tačnosti dijagnoze.

Rutinska patohistološka analiza SLN sastoji se u presecanju nodusa po uzdužnoj osovini i bojenju obe presečene površine hematoksilinom i eozinom (H&E). Osetljivost postupka omogućava otkrivanje jedne metastatske ćelije melanoma među 10 000 normalnih ćelija limfne žlezde. Ukoliko se ćelije melanoma ne otkriju H&E bojenjem, izvodi se serijsko sečenje (na 4 mikrometra) i imunohistohemijsko (IHC) bojenje upotrebom monoklonskih antitela na S-100 i HMB-45 proteine. Osetljivost ovog postupka omogućava nalazanje jedne ćelije melanoma na 100 000 normalnih ćelija žlezde (50, 53). Na ovaj način moguće je otkriti metastaze u oko 12% slučajeva neotkrivenih standardnim bojenjem (90). Metod zahteva složeniju tehnologiju i ne izvodi se rutinski u mnogim ustanovama, niti se izvodi kod svih (ne sentinel) ekstirpiranih žlezda.

Nov pristup otkrivanju submikroskopskih metastaza u SLN je otkrivanje prisustva informacione RNK za tirozinazu (*messenger RNA, mRNA*) lančanom reakcijom polimerazom (*polymerase chain reaction, PCR*). Ispitivanje se obavlja kombinacijom reverzne transkripcije i dva kruga lančane reakcije polimerazom (RT-PCR) (91–97). Tirozinaza je ključni enzim u sintezi melanina u melanocitima i melanomskim ćelijama i predstavlja prototip proteina u melano-

mu. Ukoliko se mRNA za tirozinazu nađe u SLN, može se zaključiti da su u njoj prisutne metastatske ćelije melanoma. Ovaj postupak je 2 puta osetljiviji od H&E metoda. Njime se može otkriti jedna melanomska ćelija na milion normalnih ćelija ili 3 melanomske ćelije na 10 miliona normalnih limfocita. Navodi se 25% lažno pozitivnih rezultata kod benignih kapsularnih nevusa (4). Bostic i sar. su razvili postupak RT-PCR ispitivanja sa multipnim mRNA markerima (MM) (MAGE-3, MART-1, tirozinaza mRNA) u otkrivanju okultnih melanomskih ćelija u *ex tempore* preparatu stražarskog limfonodusa sa preciznošću od 94%, uvodeći tako pojam određivanja ultrastadijuma drenažnog limfonodusnog basena (93).

Tehnika obeležavanja SLN zahteva blisku saradnju hirurga, specijaliste nuklearne medicine i histopatologa. Svaki član ovog tima ima ključnu ulogu u tehnologiji postupka. Netačno određivanje stadijuma limfonodusa može lišiti bolesnika kompletne limfadenektomije ili primene adjuvantne terapije.

Mogući uzroci neuspeha

Mogući razlozi neuspeha metoda obeležavanja limfatika i biopsije žlezda stražara mogu se grupisati u tehničke propuste i greške u izvođenju, biološke razloge i histopatološke propuste i nemogućnosti (58, 90, 98). Za tehničke propuste može biti odgovorno subdermalno ubrizgavanje boje ili radiofarmaka, zatim korišćenje obeležavanja limfatika plavom bojom bez korišćenja intraoperativne limfoscintigrafije, kao i obeležavanje limfatika posle široke lokalne ekscizije primarnog tumora, pri čemu se oštećuju limfni kanali regije pa može doći do obeležavanja alternativnih nesentinel nodusa. Do biološkog razloga neuspeha može doći zbog sekundarnog širenja metastatskog melanoma u nodusni basen sa mesta lokalnog recidiva, usputnih metastaza ili mesta sistemske bolesti. U ovoj situaciji SLN reprezentuje stanje nodusnog basena, ali kao rezultat metastaziranja iz neke druge metastaze. Neuspeh histopatološkog otkrivanja metastatskih ćelija je obično uzrokovan neadekvatnom histološkom obradom ili, pak, nemogućnošću samog histološkog postupka da okrije metastatske ćelije.

Značaj

Terapijska efikasnost obeležavanja limfatika i biopsije limfnih žlezda stražara još uvek nije pouzdano dokazana (45, 97–104). Značaj metoda oglada se u identifikovanju bolesnika sa metastazama melanoma u regionalnim limfnim žlezdama. Selektivni pristup koji omogućava SLN biopsija identifikuje bolesnike kojima je potrebna kompletna limfonododisekcija (83, 98, 99). Na taj način se izbegava morbiditet vezan za evakuaciju regionalnih limfnih žlezda kod bolesnika bez metastaza. Velika vrednost ovog postupka je i u tome što obezbeđuje kritičke i pouzdane informacije u vezi sa određivanjem stadijuma bolesti, kao i u indiciranju primene adjuvantne antitumorske terapije (94, 105–107).

Rezultati prospektivnih randomizovanih kontrolisanih kliničkih studija i ispitivanja o efektu primene interferona alfa 2-b kod bolesnika sa visokim rizikom (IIb i III AJCC stadijum) daju dodatnu motivaciju za proveru vrednosti primene obeležavanja limfatika i biopsije *sentinel* limfonodusa (108–113).

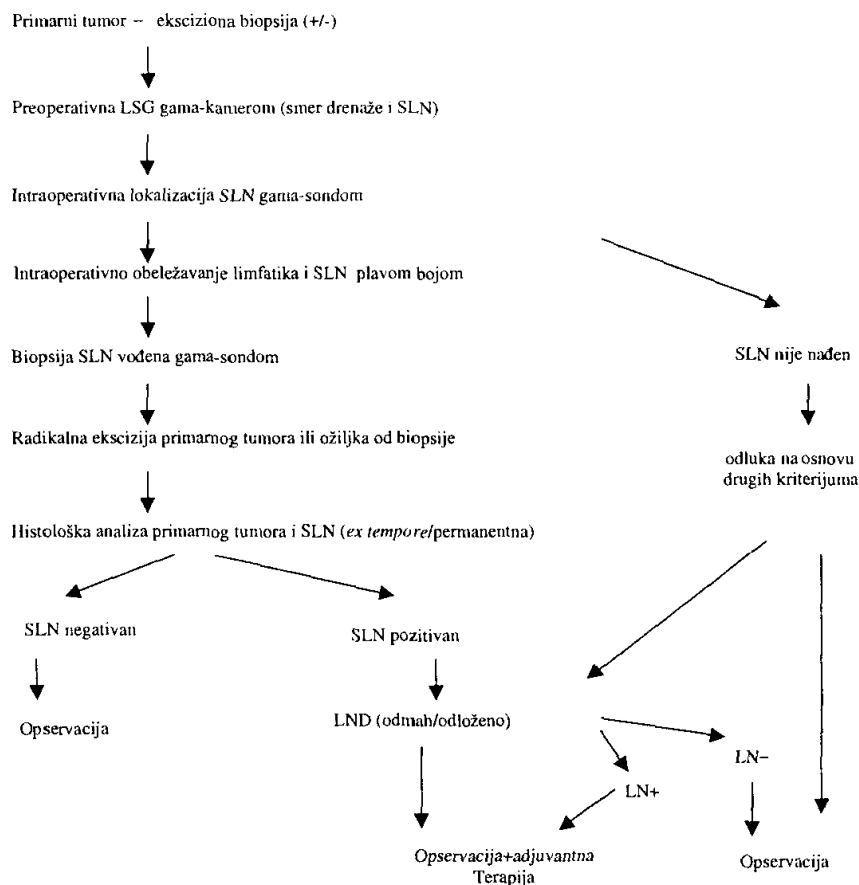
Kandidati (indikacije) za SLNB

Podaci iz studije o efikasnosti interferona sugerišu da se svim bolesnicima sa melanomom debljim od 1mm učini SLNB tako da se ova terapija primeni na selektivan način. Faktori koji povećavaju rizik od metastaziranja i kod tankih melanoma predstavljaju indikaciju za SLNB. Bolesnici muškog pola sa melanomom trupa imaju incidencu nodusnih metastaza od 9%, čak i ako je primarna lezija tanja od 0,76 mm, što navodi na zaključak o uticaju pola i anatomske lokalizacije na predviđanje postojanja okultnih metastaza u regionalnim limfnim žlezdama. Bolesnici sa primarnim melanomom debljine 0,76 do 1mm imaju 5% šanse razvijanja nodusnih metastaza i mogu biti kandidati za SLNB. Bolesnici muškog pola sa primarnim tumorom koji je Clark III-V, sa ulceracijom, znacima regresije i bolesnici sa aksijalnim melanomom imaju veliki rizik od metastaziranja i fatalnog ishoda u roku 5 godina u oko 10% slučajeva i treba ih tretirati kao da imaju deblje primarne lezije čak i kada su ove tanje od 0,76 mm. Oni su, kao i svi bolesnici sa primarnim tumorom debljim od 1mm, kandidati za određivanje nodusnog stadijuma putem SLNB i za primenu adjuvantne terapije na selektivan način (112). Bolesnici sa tumorom debljim od 4 mm imaju visok rizik od okultnog sistemskog (70%) i nodusnog metastaziranja (60–70%) i za njih u prošlosti ELND nije indicirana. Međutim, s obzirom na nizak morbiditet postupka i dragocene prognostičke informacije SLNB se preporučuje i za ove bolesnike.

Zaključak

Biopsija limfnih žlezda stražara je postupak koji, uz relativno nizak morbiditet, daje precizne podatke o stanju regionalnog limfonodalnog basena bolesnika sa melanomom kože. Stanje regionalnih limfnih žlezda je ključni progno-

stički parametar, veoma bitan za planiranje daljeg lečenja. Za uspešnu identifikaciju i histopatološku obradu SLN neophodna je saradnja hirurga, nuklearnog radiologa i histopatologa. Dijagnostikovanjem okultnih metastaza u regionalnim limfnim žlezdama identifikuju se bolesnici kojima treba učiniti kompletnu limfonododisekciju, kao i oni koji mogu imati koristi od primene adjuvantne antitumorske terapije. Uvođenjem ovog postupka dilema izvođenja ili ne ELND više ne postoji. Tehnički i kadrovski zahtevi, međutim, još uvek je ne svrstavaju u rutinske standardne postupke u lečenju melanoma. Pronalaženje mikrometastaza u regionalnim limfnim žlezdama menja stadijum bolesti u kome je bolesnik do tada bio (migracija stadijuma, Will Rogers fenomen). Novim klasifikacionim sistemom definiše se klinički i patološki stadijum bolesti (14, 114). Ukoliko su regionalni limfonodusi ispitivani kliničkim i/ili radiološkim postupcima, može se govoriti o kliničkom stadijumu bolesti. Za određivanje patološkog stadijuma neophodna je histološka evaluacija limfnih žlezda dobijenih bilo selektivnom bilo elektivnom limfadenektomijom.



SLN – stražarski limfonodus, LN – limfonodus, LSG – limfoscintigrafija, LND – limfonododisekcija.

Sl. 2 – Algoritam za postupak sa klinički nemetastatskim melanomom kože (Modifikovano prema Johnson et al. (4)).

SLNB se smatra jednim od najvećih napredaka u terapiji melanoma u zadnjoj deceniji XX veka (4, 111). Očekuje se da će postati standard u lečenju bolesnika sa klinički ne-

gativnim limfnim žlezdama (99, 111, 112), posebno sa usvajanjem novog sistema za određivanje stadijuma kože (14, 114, 115).

L I T E R A T U R A

1. *Petrazzuoli M, Lang PG, Glass LF.* Management of melanoma. Available at URL: <http://id.medscape.com/Medscape/CNO/2000/AAD/AAD-04.html>
2. *Titus-Ernstoff L.* An overview of the epidemiology of cutaneous melanoma. *Clin Plast Surg* 2000; 27(3): 305–16.
3. *Rivers JK.* Melanoma. *Lancet* 1996; 347: 803–6.
4. *Johnson TM, Yahanda AM, Chang AE, Fader DJ, Sondak VK.* Advances in melanoma therapy. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38(5 Pt 1): 731–41.
5. *Reintgen DS, Albertini J, Berman C, Cruse CW, Fenske N, Glass LF, et al.* Accurate Nodal Staging of Malignant Melanoma. *Cancer Control* 1995; 2(5): 405–14.
6. *Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, Thompson JF, Reintgen DS, Cascinelli N, et al.* 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.
7. *Buzaid AC, Ross M, Balch CM, Soong S, McCarthy WH, Tinoco L, et al.* Critical analysis of the current American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma and proposal of a new staging system. *J Clin Oncol* 1997; 15(3): 1039–51.
8. *Buttner P, Garbe C, Bertz J, Burg G, d'Hoedt B, Drepper H, et al.* Primary cutaneous melanoma: optimized cutoff points of tumor thickness and importance of Clark's level for prognostic classification. *Cancer* 1995; 75(10): 2499–506.
9. *McCarthy WH, Shaw HM, McCarthy SW, Rivers JK, Thompson JF.* Cutaneous melanoma that defy conventional prognostic indicators. *Semin Oncol* 1996; 23(6): 709–13.
10. *Ostmeier H, Fuchs B, Otto F, Mawick R, Lippold A, Krieg V, et al.* Can immunohistochemical markers and mitotic rate improve prognostic precision in patients with primary melanoma? *Cancer* 1999; 85(11): 2391–9.
11. *Keefe M, Mackie RM.* The relationship between risk of death from clinical stage I cutaneous melanoma and thickness of primary tumor: no evidence for steps in risk. *Br J Cancer* 1991; 64(3): 598–602.
12. *Karakousis CP, Emrich LJ, Rao U.* Tumor thickness and prognosis in clinical stage I malignant melanoma. *Cancer* 1989; 64(7): 1432–6.
13. *Balch CM.* Cutaneous melanoma: prognosis and treatment results worldwide. *Semin Surg Oncol* 1992; 8(6): 400–14.
14. *Balch CM, Buzaid AC, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, et al.* A New American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *Cancer* 2000; 88(6): 1484–91.
15. *Johnson TM, Smith JW, Nelson BR, Chang A.* Current therapy for cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32(5Pt1): 689–707.
16. *Morton DC, Wanek L, Nizze JA, Elashoff RM, Wong JH.* Improved long-term survival after lymphadenectomy of melanoma metastatic to regional nodes: Analysis of prognostic factors in 1134 patients from John Wayne Cancer Clinic. *Ann Surg* 1991; 214(4): 491–9.
17. *Bevilacqua RG, Coit DG, Rogatko A, Younes RN, Brennan MF.* Axillary dissection in melanoma. Prognostic variables in node-positive patients. *Ann Surg* 1990; 212(2): 125–31.
18. *Buzaid AC, Tinoco LA, Jendiroba D, Tu ZN, Lee JJ, Legha SS, et al.* Prognostic value of size of lymph node metastases in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 1995; 13(9): 2361–8.
19. *Coit DG, Rogatko A, Brennan MF.* Prognostic factors in patients with melanoma metastatic to axillary or inguinal lymph nodes. A multivariate analysis. *Ann Surg* 1991; 214(5): 627–36.
20. *Karakousis CP, Hena MA, Emrich LJ, Driscoll DL.* Axillary node dissection in malignant melanoma: results and complications. *Surgery* 1990; 108(1): 10–7.
21. *Mraz-Gernhard S, Sagebiel RW, Kashani-Sabet M, Miller JR, Leong SP.* Prediction of sentinel lymph node micrometastasis by histological features in primary cutaneous malignant melanoma. *Arch Dermatol* 1998; 134(1): 983–7.
22. *Gershenwald JE, Fisher D, Buzaid AC.* Clinical classification and staging. *Clin Plast Surg* 2000; 27(3): 361–76.
23. *Reintgen D, Cruse CW, Wells K, Fenske NA, Glass LF, Schroer K, et al.* The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg* 1994; 220(6): 759–67.
24. *Hochwald SN, Coit DG.* Role of elective lymph node dissection in melanoma. *Semin Surg Oncol* 1998; 14(4): 276–82.

25. NIH Consensus conference. Diagnosis and treatment of early melanoma. *JAMA* 1992; 268(10): 1314–19.
26. Crowley NJ, Seigler HF. The role of elective lymph node dissection in the management of patients with thick cutaneous melanoma. *Cancer* 1990; 66(12): 522–7.
27. Olson JA Jr, Jaques DP, Coit DG, Hwu WJ. Staging work-up and post-treatment surveillance of patients with melanoma. *Clin Plast Surg* 2000; 27(3): 377–90.
28. Kretschmer L, Preusser KP. Standardized axillary lymphadenectomy improves local control but not survival in patients with palpable lymph node metastases of cutaneous malignant melanoma. *Langenbecks Arch Surg* 2001; 386(6): 418–25.
29. Karakousis CP. Therapeutic node dissection in malignant melanoma. *Semin Surg Oncol* 1998; 14(4): 291–301.
30. Cole DJ, Baron PL. Surgical management of patients with intermediate thickness melanoma: current role of elective lymph node dissection. *Semin Oncol* 1996; 23(6): 719–24.
31. Balch CM. The role of elective lymph node dissection in melanoma: rationale, results and controversies. *J Clin Oncol* 1988; 6(1): 163–72.
32. Gupta TK. Results of treatment of 269 patients with primary cutaneous melanoma: a five years prospective study. *Ann Surg* 1977; 186(2): 201–9.
33. Roses DF, Provert JA, Harris MN, Gumport SL, Dublin N. Prognosis of patients with pathologic stage II cutaneous malignant melanoma. *Ann Surg* 1985; 201(1): 103–7.
34. Balch CM, Soong SJ, Murad TM, Ingalls AL, Maddox WA. A multifactorial analysis of melanoma. III. Prognostic factors in melanoma patients with lymph node metastases (stage II). *Ann Surg* 1981; 193(3): 377–88.
35. Callery C, Cochran AJ, Roe DJ, Rees W, Nathanson SD, Benedetti JK, et al. Factors prognostic for survival in patients with malignant melanoma spread to the regional lymph nodes. *Ann Surg* 1982; 196(1): 69–75.
36. Reintgen DS, Cox EB, McCarthy KS Jr, Vollmer R, Seigler HF. Efficacy of elective lymph node dissection in patients with intermediate thickness primary melanoma. *Ann Surg* 1983; 198(3): 379–85.
37. Balch CM, Soong SJ, Murad TM, Ingalls AL, Maddox WA. A multifactorial analysis of melanoma II. Prognostic factors in patients with stage I (localized) melanoma. *Surgery* 1979; 86(2): 343–51.
38. McCarthy WH, Shaw AM, Milton GW. Efficacy of elective lymph node dissection in 2347 patients with clinical stage I malignant melanoma. *Surg Gynecol Obstet* 1985; 161(6): 575–80.
39. Slingluff CL Jr, Stidham KR, Ricci WM, Stanley WE, Seigler HF. Surgical management of regional lymph nodes in patients with melanoma. *Ann Surg* 1994; 219(2): 120–30.
40. Coates AS, Ingvar CI, Petersen-Schaefer K, Shaw HM, Milton GW, O'Brien CJ, et al. Elective lymph node dissection in patients with primary melanoma of the trunk and limbs treated in the Sidney Melanoma unit from 1960 to 1991. *J Am Coll Surg* 1995; 180(4): 402–9.
41. Binder M, Pehamberger H, Steiner A, Wolf K. Elective regional lymph node dissection in malignant melanoma. *Eur J Cancer* 1990; 26(8): 871–3.
42. Lens MB, Dawes M, Goodacre T, Newton-Bishop JA. Elective lymph node dissection in patients with melanoma: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Surg* 2002; 137(4): 458–61.
43. Fisher SR. Elective, therapeutic, and delayed lymph node dissection for malignant melanoma of the head and neck: analysis of 1444 patients from 1970 to 1998. *Laryngoscope* 2002; 112(1): 99–110.
44. Veronesi U, Adamus J, Bandiera DC, Brennhova O, Caceres E, Cascinelli N, et al. Delayed regional lymph node dissection in stage I melanoma of the skin of the lower extremities. *Cancer* 1982; 49(11): 2420–30.
45. Sim FH, Taylor WF, Ivins JC, Pritchard DJ, Soule FH. A prospective randomized study of the efficacy of routine elective lymphadenectomy in management of malignant melanoma. *Cancer* 1978; 41(3): 948–56.
46. 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 randomized trial. *Lancet* 1998; 351(9105): 793–6.
47. Balch CM, Soong SJ, Bartolucci AA, Urist MM, Karakousis CP, Smith TJ, et al. Efficacy of an elective regional lymph node dissection of 1 to 4 thick melanomas for patients 60 years of age and younger. *Ann Surg* 1996; 224(3): 255–66.
48. Dropper H, Kohler CD, Bastian B, Breuninger H, Brocker EB, Gohl J, et al. Benefit of elective lymph node dissection in subgroups of melanoma patients. *Cancer* 1993; 72(3): 741–9.
49. Harris MN, Shapiro RL, Roses DF. Malignant melanoma. Primary surgical management (excision and node dissection) based on pathology and staging. *Cancer* 1995; 75(2Suppl): 715–25.
50. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FS, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127(4): 392–9.
51. Morton DL, Wen DR, Cochran AJ. Management of early stage melanoma by intraoperative lymphatic

- mapping and selective lymphadenectomy or watch and wait. *Surg Oncol Clin North Am* 1992; 1: 247–59.
52. Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, et al. 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.
53. Glass FH, Cottam JA, Reintgen DS, Frenske NA. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the management of high risk melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39(4 Pt1): 603–10.
54. White WL, Loggie BW. Sentinel lymphadenectomy in the management of primary cutaneous malignant melanoma. *Dermatol Clin* 1999; 17(3): 645–55.
55. Reintgen D. Melanoma nodal metastases. *Surg Oncol Clin* 1996; 5(1): 105–20.
56. Albertini JJ, Cruse CW, Rappaport D, Wells K, Ross M, DeConti R, et al. Intraoperative radio-lymphoscintigraphy improves sentinel lymph node identification for patients with melanoma. *Ann Surg* 1996; 223(2): 217–24.
57. Ross M, Reintgen DS, Balch CM. Selective lymphadenectomy: Emerging role of lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the management of early stage melanoma. *Semin Surg Oncol* 1993; 9(3): 219–23.
58. Ross M. Surgical management of stage I and II melanoma patients: approach to the regional lymph node basin. *Semin Surg Oncol* 1996; 12(6): 394–401.
59. Krag DN, Meijer SJ, Weaver DL, Loggie BW, Harlow SP, Tanabe KK, et al. Minimal access surgery for staging of melanoma. *Arch Surg* 1995; 130(6): 654–58.
60. O'Brien CJ, Uren RF, Thompson JF, Howman-Giles RB, Petersen-Schaefer K, Shaw HM, et al. Prediction of potential metastatic sites in cutaneous head and neck melanoma using lymphoscintigraphy. *Am J Surg* 1995; 170(5): 461–6.
61. Norman J, Wells K, Kearney R, Cruse CW, Berman C, Reintgen DS, et al. Identification of lymphatic basins in patients with cutaneous melanoma. *Semin Surg Oncol* 1993; 9(3): 224–9.
62. Kramer EL, Sanger JJ, Golomb F, Kopf AW, Postel A. The impact of intradermal lymphoscintigraphy on surgical management of clinical management of clinical stage I truncal malignant melanoma. *J Dermatol Surg Oncol* 1987; 13(5): 508–15.
63. Holmes EC, Moseley HS, Morton D, Clark W, Robinson D, Urist MM. A rational approach to the surgical management of melanoma. *Ann Surg* 1977; 186(4): 481–90.
64. Lock-Andersen J, Rossing N, Drzewiecki KT. Preoperative cutaneous lymphoscintigraphy in malignant melanoma. *Cancer* 1989; 63(1): 77–82.
65. Leong SPL, Achtem TA, Habib FA, Steinmetz I, Morita E, Allen RE, et al. Discordancy between clinical predictions vs lymphoscintigraphic and intraoperative mapping of sentinel lymph node drainage of primary melanoma. *Arch Dermatol* 1999; 135(12): 1472–6.
66. Thompson JF, Uren RF, Shaw HM, McCarthy WH, Quinn MJ, O'Brien CJ, et al. Location of sentinel lymph nodes in patients with cutaneous melanoma: new insight into lymphatic anatomy. *J Am Coll Surg* 1999; 189(2): 195–204.
67. McCready DR, Ghazarian DM, Herschkop MS, Walker JA, Ambus U, Quirt IC. Sentinel lymph-node biopsy after previous wide local excision for melanoma. *Can J Surg* 2001; 44(6): 432–4.
68. Goldfarb LR, Alazraki NP, Eshima D, Eshima LA, Herda SC, Halker RK. Lymphoscintigraphic identification of sentinel lymph nodes: clinical evaluation of 0,22 - micron filtration of Tc99m sulfur colloid. *Radiology* 1998; 208(2): 505–9.
69. Boxen I, McCready D, Ballinger JR. Sentinel node detection and definition may depend on the imaging agent and timing. *Clin Nucl Med* 1999; 24(6): 390–4.
70. Landi G, Palverelli M, Moscatelli G, Morelli R, Landi C, Fiscelli O, et al. Sentinel lymph node biopsy in patients with primary cutaneous melanoma: study of 455 cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2000; 14(1): 35–45.
71. Bartolomei M, Testori A, Chinol M, Gennary R, De Cicco C, Leonardi L, et al. Sentinel node localization in cutaneous melanoma: lymphoscintigraphy with colloids and antibody fragments versus blue dye mapping. *Eur J Nucl Med* 1998; 25(11): 1489–94.
72. Limouris GS, Voilopoulos V, Kondi-Paphiti A, Stavraka A, Vlahos L. Two phase scintigraphic mapping of lymphatic drainage in cutaneous melanoma using 99m Tc-sulfur microcolloid/99mTc antimelanoma antibody. *Anticancer Res* 1997; 17(3B): 1667–9.
73. Jacobs IA, Chevinsky AH, Swayne LC, Magidson JG, Britto EJ, Smith TJ. Gamma probe-directed lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in primary melanoma. Reliability of the procedure and analysis of failures after long-terms follow-up. *J Surg Oncol* 2001; 77(3): 157–64.
74. Uren RF, Howman-Giles RB, Thompson JF. Direct lymphatic drainage from a melanoma on the back to paravertebral lymph node in the thorax. *Clin Nucl Med* 1999; 24(6): 388–9.
75. Ege GN. Radiocolloid lymphoscintigraphy in neoplastic disease. *Cancer Res* 1980; 40(8 Pt2): 3065–71.
76. Uren RF, Howman-Giles RB, Shaw HM, Thompson JF, McCarthy WH. Lymphoscintigraphy in high risk melanoma of the trunk. *J Nucl Med* 1993; 34(9): 1435–40.

77. Alex JC, Krag DN. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. *Surg Oncol* 1993; 2(3): 137-43.
78. Alex JC, Weaver DL, Fairbank JT, Rankin BS, Krag DN. Gamma-probe guided lymph node localization in malignant melanoma. *Surg Oncol* 1993; 2(5): 303-8.
79. Leong SP, Steinmetz I, Habib FA, McMillan A, Gans JZ, Allen RE Jr, et al. Optimal selective sentinel lymph node dissection in primary malignant melanoma. *Arch Surg* 1997; 132(6): 666-73.
80. Pijpers R, Borgstein PJ, Meijer S, Hoekstra OS, van Hattum LH, Teule GJ. Sentinel node biopsy in melanoma patients: dynamic lymphoscintigraphy followed by intraoperative gamma probe and vital dye guidance. *World J Surg* 1997; 21(8): 788-93.
81. Kropp J, Stein A, Hackert I, Sebastian G, Meurer M, Gruning T, et al. Accuracy of the intra-operative radioguided localization of the sentinel lymph node (SLN) 24 hours after lymphoscintigraphy in patients with malignant melanoma. *Nuklear Medizin* 2001; 40(3): 86-90.
82. Schachter J, Laish A, Mekhmandarov S, Feinmesser M, Fenig E, Tamir G, et al. Standard and nonstandard applications of sentinel node-guided melanoma surgery. *World J Surg* 2000; 24(4): 491-4.
83. Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Colome MI, Tseng CH, et al. Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 612 stage I or II melanoma patients. *J Clin Oncol* 1999; 17(3): 976-83.
84. Glass LF, Messina JL, Cruse W, Wells K, Rappaport D, Miliotes G, et al. The use of intraoperative radiolymphoscintigraphy for sentinel node biopsy in patients with malignant melanoma. *Dermatol Surg* 1996; 22(8): 715-20.
85. Joseph E, Brobeil A, Cruse CW, Wells K, Costello R, Reintgen DS. Lymphatic mapping for melanoma of the upper extremity. *J Hand Surg* 1999; 24(4): 675-81.
86. Sugraves G, Vidal-Sicart S, Piulachs J, Bombuy E, Pons F, Castel T, et al. Gamma-detecting probe used intraoperatively to locate the sentinel lymph node in patients with malignant melanoma. *Eur J Surg* 2001; 167(8): 581-6.
87. Gershenwald JE, Tseng CH, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Bouvet M, et al. Improved sentinel lymph node localization in patients with primary melanoma with the use of radiolabelled colloid. *Surgery* 1998; 124(2): 203-10.
88. Bostick P, Essner R, Glass E, Kelley M, Sarantov T, Foshag LJ, et al. Comparison of blue dye and probe assisted intraoperative lymphatic mapping in melanoma to identify sentinel nodes in 100 lymphatic basins. *Arch Surg* 1999; 134(1): 43-9.
89. Gesuelli GC, Berbellini A, Brianzoni E, Fattori S, Simonacci M, Sigona M, et al. Sentinel lymph nodes in skin melanoma. *Ann Ital Chir* 2000; 71(2): 169-76.
90. Yu LL, Flotte TJ, Tanabe KK, Gadd MA, Cosimi AB, Sober AJ, et al. Detection of microscopic melanoma metastases in sentinel lymph nodes. *Cancer* 1999; 86(4): 617-27.
91. Wang X, Heller R, Cruse CW, VanVoorhis N, Glass LF, Fenske N, et al. Detection of submicroscopic lymph node metastasis with polymerase chain reaction in patients with malignant melanoma. *Ann Surg* 1994; 220(6): 768-74.
92. Blaheta HJ, Schitteck B, Breuninger H, Sotlar K, Ellwanger U, Thelen MH, et al. Detection of melanoma micrometastasis in sentinel nodes by reverse transcription-polymerase chain reaction correlates with tumor thickness and is predictive of micrometastatic disease in the lymph node basin. *Am J Surg Pathol* 1999; 23(7): 822-8.
93. Bostick PJ, Morton DL, Turner RR, Huynh KT, Wang HJ, Elashoff R, et al. Prognostic significance of occult metastases detected by sentinel lymphadenectomy and reverse transcriptase-polymerase chain reaction in early stage melanoma patients. *J Clin Oncol* 1999; 17(10): 3238-44.
94. Blaheta HJ, Ellwanger U, Schitteck B, Sotlar K, Mac-
tey E, Breuninger H, et al. Examination of regional lymph nodes by sentinel node biopsy and molecular analysis provides new staging facilities in primary cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol* 2000; 114(4): 637-42.
95. Goydos JS, Reintgen DS. A molecular technique useful in the detection of occult metastases in patients with melanoma. RT-PCR analysis of sentinel lymph nodes and peripheral blood. In: Niskoloff BJ, editor. *Melanoma techniques and protocols. Molecular diagnosis, treatment and monitoring*. Totowa: Humana Press Inc.; 2001. p. 301-20.
96. Sellner LN, Turbett GR. Comparison of three RT-PCR methods. *Biotechniques* 1998; 25(2): 230-4.
97. Connors J, Smoller B, Dinehart S. Sentinel node biopsy for melanoma: what is the evidence? *Arch Dermatol* 2001; 137(9): 1228-31.
98. Ramnath EM, Kamath D, Brobeil A, Rappaport D, Cruse CW, Wells K, et al. Lymphatic mapping for melanoma: long term results of regional nodal sampling with radioguided surgery. *Cancer Control* 1997; 4(6): 483-90.
99. Essner R, Conforti A, Kelley MC, Wanek L, Stern S, Glass E, et al. Efficacy of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy and selective complete lymph node dissection as therapeutic procedure for early-stage melanoma. *Ann Surg Oncol* 1999; 6(5): 442-9.

100. *Lejeune FJ*. The impact of surgery on the course of melanoma. Recent results. *Cancer Res* 2002; 160: 151–7.
101. *Kanzler MH, Mraz-Gernhard S*. Primary cutaneous malignant melanoma and its precursor lesions: diagnostic and therapeutic overview. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45(2): 260–76.
102. *Gershenwald JE, Colome MI, Lee JE, Mansfield PF, Tseng C, Lee JJ, et al*. Patterns of recurrence following a negative sentinel lymph-node biopsy in 243 patients with stage I or II melanoma. *J Clin Oncol* 1998; 16(6): 2253–60.
103. *Clary BM, Mann B, Brady MS, Lewis JJ, Coit DG*. Early recurrence after lymphatic mapping and sentinel node biopsy in patients with primary extremity melanoma: a comparison with elective lymph node dissection. *Ann Surg Oncol* 2001; 8(4): 328–37.
104. *Coverelli P, Tomassini GM, Messina S, Sindoni A, Cristofani R, Bartoli A*. Biopsy of the sentinel node in the staging of patients with malignant melanoma. *Chir Ital* 2002; 54(2): 213–8.
105. *Dessureault S, Soong SJ, Ross MI, Thompson JF, Kirkwood JM, Coit DG, et al*. Improved staging of node-negative patient with intermediate to thick melanomas (>1mm) with the use of lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg Oncol* 2001; 8(10): 766–70.
106. *Gibbs P, Robinson WA, Pearlman N, Raben D, Walsh P, Gonzalez R*. Management of primary cutaneous melanoma of the head and neck: the University of Colorado experience and a review of the literature. *J Surg Oncol* 2001; 77(3): 179–85.
107. *Jansen L, Nieweg OE, Peterse JL, Hoefnagel CA, Olmos RA, Kroon BB*. Reliability of sentinel node biopsy for staging melanoma. *Br J Surg* 2000; 87(4): 484–9.
108. *Kirkwood JM, Strawderman MH, Ernstoff MS, Smith TJ, Borden EC, Blum RH*. Interferon alfa 2b adjuvant therapy of high risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J Clin Oncol* 1996; 14(1): 7–17.
109. *Grob JJ, Dreno B, de la Salmoniere P, Delanuary M, Cupissol D, Guillot B, et al*. Randomized trial of Interferon alfa-2a as adjuvant therapy in resected primary melanoma thicker than 1,5 mm without clinically detectable node metastases. French Cooperative Group in Melanoma. *Lancet* 1998; 351(9120): 1905–10.
110. *Pehamberger H, Soyer HP, Steiner A, Kofler R, Binder M, Mischer P, et al*. Adjuvant interferon alfa-2a treatment in resected primary stage II cutaneous melanoma: Austrian Malignant Melanoma Cooperative Group. *J Clin Oncol* 1998; 16(4): 1425–9.
111. *Weber J*. Melanoma: Closing the Ring. ASCO 35th Annual Meeting 1999. Available at URL: http://www.medscape.com/medscape/cno/1999/ASCO/story.CFM?story_id=597
112. *Dubois RW, Swetter SM, Atkins M, McMasters K, Helbert R, Miller SJ, et al*. Developing indications for the use of sentinel lymph node biopsy and adjuvant high-dose interferon alfa-2b in melanoma. *Arch Dermatol* 2001; 137(9): 1217–24.
113. *Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sondak VK, Richards J, Flaherty LE, Ernstoff MS, et al*. High- and low-dose interferon alfa-2b in high-risk melanoma: first analysis of intergroup trial E 1690/S9111/C9190. *J Clin Oncol* 2000; 18(12): 2444–58.
114. *Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, et al*. Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2001; 19(16): 3635–48.
115. *Greene FL, Page DL, Fleming ID, Fritz A, Balch CM, Haller DG, et al, editors*. AJCC Cancer Staging Manual. 6th ed. New York: Springer-Verlag Inc; 2002.

Rad je primljen 26. IV 2002. god.