

Melanoma malignumos betegek sentinel nyirokcsomóinak patológiai vizsgálata

Cserni Gábor

Bács-Kiskun Megyei Önkormányzat Kórháza, Patológia, Kecskemét

A jelen közleményben a szerző a melanoma malignumos betegek őrszem nyirokcsomóinak patológiai vizsgálatára és értékelésére vonatkozó adatokat foglalja össze. A melanoma nodalis stádiuma vizsgálatának rövid általános áttekintését követően az őrszem nyirokcsomók részletes szövettani vizsgálata, a molekuláris vizsgálatok jelentősége, az intraoperatív vizsgálatok lehetőségei és korlátai, és ezen vizsgálatok esetleges buktatói kerülnek tárgyalásra. A közlemény végén helyet kapnak az őrszem nyirokcsomókkal kapcsolatos kutatási területek is. *Magyar Onkológia* 47:51–57, 2003

This review summarizes data related to the pathological assessment and interpretation issues of sentinel lymph nodes in melanoma patients. After a short description of conventional nodal staging of melanoma, separate sections deal with detailed analysis of sentinel nodes, the use of immunohistochemistry, molecular analysis of occult metastases and the possibilities and limitations of intraoperative assessment. Possible pitfalls of each method are also discussed. Finally, research areas related to sentinel nodes are highlighted, too. *Cserni G. Pathological work-up and assessment of sentinel lymph nodes in melanoma patients. Hungarian Oncology* 47:51–57, 2003



A melanoma nodalis statusának hagyományos megítélése

A melanoma malignumról már a szakvizsgálókra készülő patológusok is megtanulják, hogy szinte mindent utánozhat, és egyes esetekben a diagnózis rendkívül nehéz lehet (48), alkalmanként még bőrpatólógiaiával foglalkozó patológusok közt sem teljesen reprodukálható (1).

A melanoma malignum klasszikus prognosztikai faktora a tumornagyság, és mivel nem a daganat felszíni dimenziói, hanem a mélységi terjedése az, amely a kórjólattal összefüggésben van, a tumorok alapos hisztológiai vizsgálata eleve elengedhetetlen, hiszen a harmadik dimenzió csak a szövettani vizsgálat kapcsán elemezhető. Ezt a prognosztikai paramétert tükrözi mind a Clark-féle (13), mind pedig a Breslow-féle beosztás (9), és ezt a megközelítést vette figyelembe a TNM besorolás 5. kiadásában a pT kategóriák kialakítása (54). Viszonylag régóta ismert, hogy a nyirokcsomóáttétes melanomás betegek túlélése rossz-

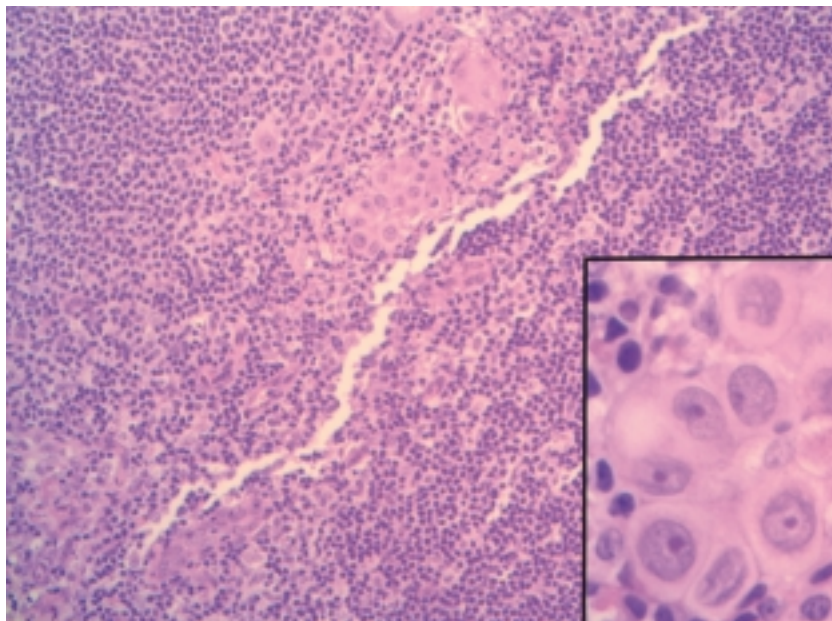
szabb, mint a nyirokcsomóáttét-mentes betegeké (4), de a nyirokcsomóstatus megítélése gyakran csak klinikai vizsgálattal történt, és metastasisra gyanús lymphadenomegalia esetén a primer tumor eltávolítására irányuló műtéteket terápiás célú regionális nyirokcsomó-disszekcióval egészítették ki. A klinikailag negatív nyirokcsomóstatusú melanomás betegek azonnali regionális disszekciója, az elektív blokkdisszekció ellentmondásos megítélése miatt a nyirokcsomók primer szövettani vizsgálata sok esetben elmaradt. Ezt valamelyest tükrözi a stádiumok besorolása is az American Joint Committee on Cancer daganatstádium-meghatározó kézikönyvének 5. kiadásában (27), amelyben a pN kategóriák helyett csak N kategóriák szerepelnek a pT kategóriák mellett. Minthogy néhány nagyobb tanulmány szerint a szövettanilag nyirokcsomó-pozitív melanomás betegeknél a korai (elektív) regionális blokkdisszekció javíthatja a túlélést (3, 11), nyilvánvalóvá vált, hogy a kevésbé megbízható klinikai vizsgálattal negatív regionális nyirokcsomók szövettani vizsgálata lényeges prognosztikai paramétert határozhat meg (51). Bár egyes esetekben eléggé egyértelműnek tűnik a nyirokelvezetés iránya, egyes területeken, például a törzsön lévő és a háti melanomák esetén, a hagyományos felfogásnak, a Sappey-féle sémának ellentmondó nyirokdrainage is gyakran adódhat (62). Ez, akár-

Közlésre érkezett: 2003. január 10.
Elfogadva: 2003. március 1.

Levelezési cím: Dr. Cserni Gábor,
Bács-Kiskun Megyei Önkormányzat Kórháza, Patológia,
6000 Kecskemét, Nyíri út 38., Tel.: (76) 516-700;
Fax: (76) 481-219; e-mail: cserni@freemail.hu

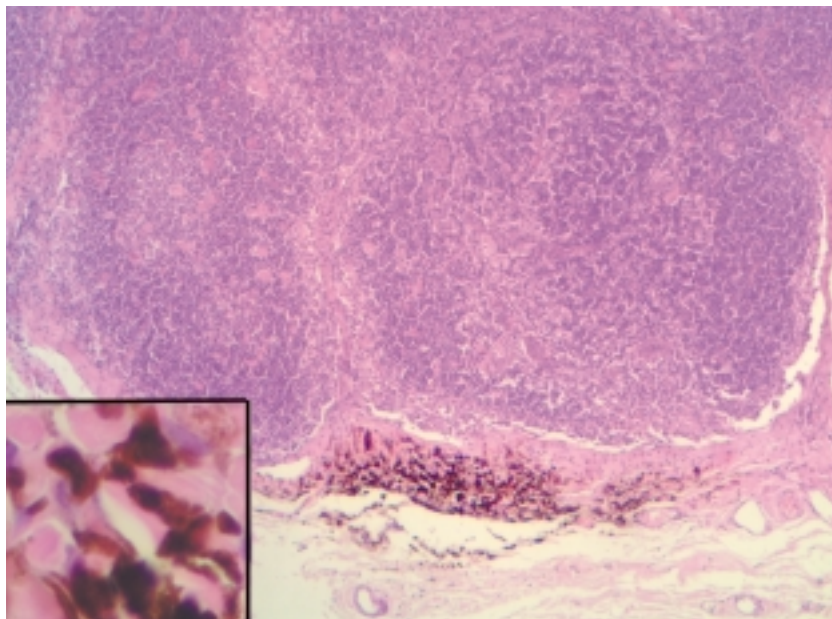
1. ábra.

Amelanotikus melanomasejtek nyirokcsomóban. Kis nagytájjal a nyirokcsomó művi hasadása mellett lévő sejtek nem szembeutánozók, bár nagyobb nagyítással a metastasis egyértelmű. (HE, közepes nagyítás – $\times 100$; betét: $\times 400$)



2. ábra. Capsularis neavussejtek jelentős pigmenttartalommal.

Az elváltozás szinte mindig, legalább részben, a nyirokcsomó tokjában lokalizált. (HE, $\times 100$; betét: $\times 400$)



csak a minimális morbiditással járó patológiai nyirokcsomó-vizsgálatra irányuló törekvés, nagy jelentőséget adott a Morton és munkatársai által leírt (45), és hazánkban is viszonylag gyorsan meghonosított (26, 39, 47, 52, 59, 61) nyiroktérképezésnek és őrszem nyirokcsomó- (sentinel nyirokcsomó, SN) biopsziának. A módszer gyors befogadását tükrözi, hogy a TNM besorolás 6. kiadása (46, 55), azon kívül, hogy a tumorra vonatkozó pT kategóriák definíciójába a mélységi terjedést új kategóriákba sorolta, és a kifehélyesedést is felvette, a nyirokcsomóstatus megítélésben a patológiai pN statust előtérbe helyezi (55), és ennek meghatározásánál az SN-biopsziát feltünteteti. Lényeges megemlíteni azt is, hogy az SN-ek áttétes vagy áttétmentes volta tűnik jelenleg a melanoma leglényegesebb prognosztikai faktorának,

megelőzve a primer tumor vastagságát és az ulcerációt is (31). A patológiai nyirokcsomóstaging egyre inkább elengedhetetlen feltételévé válik a melanoma malignum kezelésére irányuló klinikai vizsgálatok besorolásának és az eredmények értékelésének (22, 23). Úgy tűnik tehát, hogy az SN-biopszia a cutan melanoma malignum (és az emlőrák) esetén elfogadott staging eljárás lett (67), és a gyarapodó tapasztalat alapján szinte minden lokalizációjú tumor esetén leírnak váratlan vagy szokatlan nyirokdrainage-t (37, 60).

Az SN eltávolításának közepes és magas rizikójú melanomák esetén az indikációja adott, a patológiai vizsgálatra irányuló igény is megalapozott, de az eltávolított SN-ek komoly kihívást jelentenek a patológusok számára. Bizonytalan az optimális patológiai vizsgálat mibenléte, és sajnos a vizsgálatnak buktatói is vannak.

Az őrszem nyirokcsomók részletes szövettani vizsgálata

A nyirokcsomók daganatos áttétekre irányuló vizsgálata hagyományosan egy, általában a legnagyobb felszínű metszési sík szövettani vizsgálatával történik haematoxylin és eosin festéssel. Ez makroszkóposan érintett nyirokcsomók esetén elegendő is az áttét megerősítésére, de kisebb metastasisokat gyakrabban nem tár fel. Minél kisebb a metastasis, annál kisebb az esély arra, hogy egyetlen metszési síkban történő metszés esetén mikroszkóposan azonosítható legyen (19).

Matematikai és geometriai becslés szerint 2 mm-enként szeletelve a nyirokcsomókat, és a szövettani blokkokat így kialakítva, valamint az egyes blokkokat 250 mikrononként lépcsőzetesen metszve egy 250 mikron átmérőjű gömb alakú metastasist 100%-os, egy 100 mikron átmérőjű metastasist azonban már csak 46%-os valószínűséggel lehet azonosítani (42). A fenti becslés hibája az, hogy a metastasisok a legtrikább esetben gömb alakúak, és nem teljesen random módon helyezkednek el a nyirokcsomókban, hanem predilekciós helyük a tumort draináló nyirokér beömlési pontja (20). Ezt támasztja alá az a megfigyelés is, hogy amikor a nyiroktérképezést szénszemcséket tartalmazó tustintával (India ink) is kiegészítették, a szén szemcséi nem csak az SN-ek szövettani azonosításában segítettek, hanem a tumorsejtek is gyakran ezekkel egy lokalizációban mutatkoztak (33). A patológiai vizsgálat ezek szerint valamelyest orientálható lehet, de mindenképp több szint vizsgálata szükséges ahhoz, hogy nagyobb arányban lehessen kimutatni a nyirokcsomók érintettségét, ha az fennáll. A metszetek mélységének és számának függvényében a tumorsejtek SN-ben való detektálásának aránya nőhet, de a vizsgálat idő- és költségvonzatai is ezzel párhuzamosan emelkednek, ami egy bölcs kompromisszum keresésének fontosságára hívja fel a figyelmet (63). A College of American Pathologists részéről megfogalmazott és minimum követelményként javasolt legalább 3 távoli szintet elemző szövettani vizsgálat (12) azonban

elégtelennek tűnik, és a cutan rosszindulatú daganatok SN-biopsziájával kapcsolatos augsburgi konszenzus is ennél több metszési sík vizsgálatát rögzíti ajánlásként (15).

Mivel a melanoma a melanocyták rosszindulatú daganata, a tumorsejtek pigmenttartalma segíthet a metastasisok felfedezésében. Ugyanakkor az a tény, hogy a melanomák egy része amelanotikus (nem tartalmaz pigmentet) (1. ábra), és más pigmentált elváltozások is léteznek a nyirokcsomókban, megnehezíthetik a helyes diagnózis felállítását.

Melanocyták előfordulhatnak a nyirokcsomók tokjában, kötőszöveti trabeculáiban és ritkábban a széli sinusokra is ráterjedhet az elváltozás, amelyet capsularis naevussejtek összefoglaló névvel illetünk (2. ábra). Ezen capsularis naevussejtek gyakoribbak az axillában és fej-nyaktájéki nyirokcsomókban, ahol előfordulásuk a 7%-ot is elérheti, ha immunhisztokémiával is keressük őket (5). A capsularis naevocytákat melanoma áttétes sejtjeitől elsősorban lokalizációjuk (nyirokcsomó tokja és nem a parenchymája), a desmoplasia és az atypia hiánya segíthet elkülöníteni. Érdekes megfigyelés, hogy capsularis naevussejtek gyakrabban fordulnak elő melanomás betegek SN-jeiben, illetve asszociációt mutatnak congenitalis cutan naevusokkal (10, 28), ami még inkább meggyőző lehet egyes esetekben, különösen akkor, ha bizonytalan biológiai viselkedésű melanocytás laesiók esetén kiegészítő vizsgálatként végzik az SN-biopsziát (35, 40).

Ugyancsak pigmentáció jelentkezhet a hónalj vagy fej-nyaktájéki nyirokcsomókban a tüdő anthracosisa kapcsán, ha a normálisan centripetális nyirokelvezetés megváltozik, és pleurális adheziók miatt a mellkason keresztül is létrejön (3. ábra) (21). További pigmentációt okozhat tetoválás (44) vagy tustinta (33), illetve mikroszkóposan kimutatható melanin pigment található még dermatopathiás lymphadenopathiában. Vérzést követően, például aspirációs mintavétel után, haemosiderin okozhat barna elszíneződést.

Immunhisztokémiai vizsgálatok

A sorozat-, illetve lépcsőzetes metszés nagyobb felület vizsgálatával fokozhatja a metastasisok kimutatását az SN-ekben, ezzel szemben az immunhisztokémiai vizsgálatok a módszer nagyobb érzékenysége miatt lehetnek segítségünkre melanomasejtek kimutatásában, különösen amelanotikus melanomák esetén.

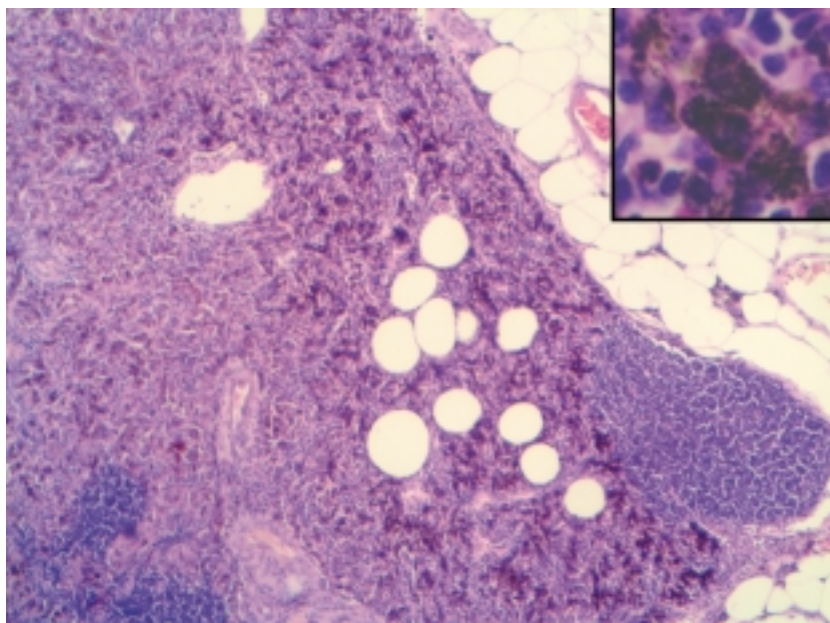
Az immunhisztokémiai vizsgálatokra a melanoma sejtjeiben pozitív, míg a nyirokszövetben negatív eredményt adó ellenanyagokkal való festési eljárások jönnek szóba. Klasszikusan az S-100 (4. ábra) és a HMB-45 (5. ábra) ellenanyagok kombinációját használják és javasolják (15, 47, 61, 64). A kettős reakcióra azért van szükség, mert az S-100 fehérje a melanomák nagy részében pozitív, ugyanakkor a környező szövetek egyes sejtjeiben (dendritikus retikulumsejtek, Schwann-sejtek) is pozitív, azaz szenzitivitása magas, de specificitása nem. Ezzel szemben a

HMB-45 meglehetősen specifikus a melanomákra (melanocytákra) (2), de mivel a melanosomákkal kapcsolatos az expressziója, ezért differenciálatlanabb tumorok esetén nem ad pozitív reakciót, azaz szenzitivitása gyengébb. Természetesen a klasszikusan alkalmazott ellenanyagok mellett vagy azok helyett más ellenanyagok is megfelelnek a rejtett áttétek kimutatására: ilyenek a Melan-A/MART-1 (49), amelyet a HMB-45 helyettesítésére általánosan alkalmasnak tartanak (53), az NKI/C3 vagy a tirozináz (1. táblázat), ezek azonban nem jelentenek lényeges előnyt a másik két markerrel szemben, és ritkábban állnak ren-

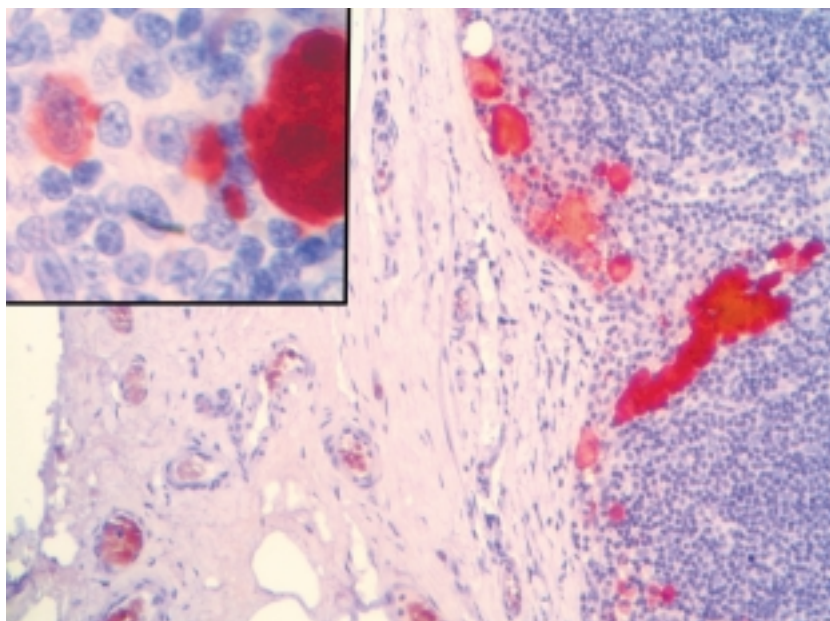
3. ábra.

Axillaris nyirokcsomó anthracosisa.

Az inkább fekete pigment a világosabb cytoplasmájú histiocytákban található. (HE, $\times 100$; betét: $\times 400$)

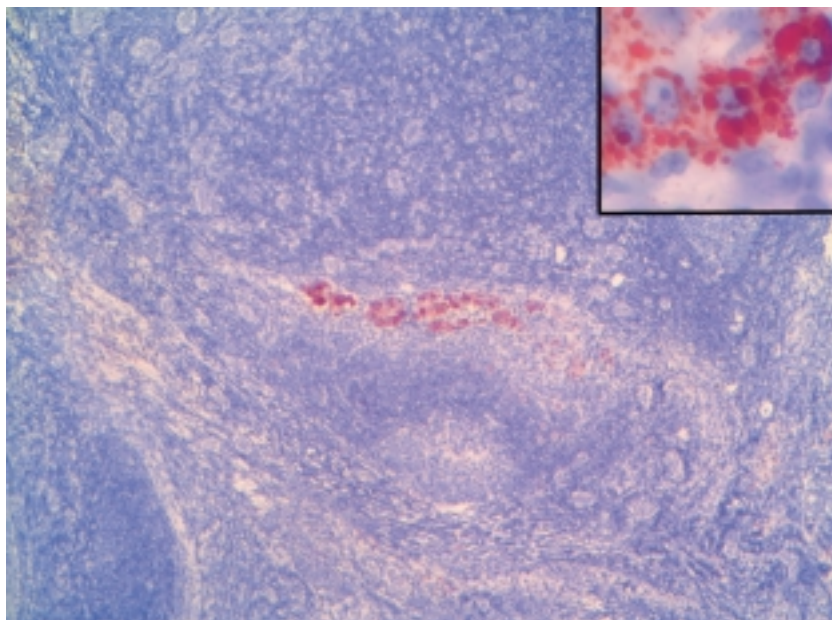


4. ábra. Metastaticus melanomasejtek órszem nyirokcsomó capsularis sinusában (S-100 immunhisztokémia, $\times 100$). Betét: a malignitás egyértelmű jegeit hordozó melanomasejtek (jobb oldal) mellett a nyirokcsomó normális populációját képező, de morfológiailag gyakran leegyszerűsödött (dendritikus jellegű nyulványait elvesztő) antigénprezentáló sejtek is pozitív reakciót adnak (bal oldal). Jellegzetes, hogy az utóbbi sejtpopuláció festődése kevésbé intenzív. (S-100 immunhisztokémia, $\times 400$)



5. ábra.

A metastaticus melanomasejteket a HMB-45 immunhisztokémiai reakció az esetek többségében kiemeli a negatív háttérből (HMB-45 immunhisztokémia, x40). Betét: Nagy nagyítással a malignus sejtpopuláció cytomorphologiai jegyei is szembetűnőek. (HMB-45 immunhisztokémia, x400)



1. táblázat. A melanoma és a desmoplasticus melanoma pozitivitása egyes immunhisztokémiai reakciókkal (29)

Melanoma	Pozitivitás %	Vizsgált esetek száma	95% CI (%)
S-100	97	224	94-99
Tirozináz	94	467	92-96
Melan-A (A103)	90	577	87-92
HMB-45	89	967	87-91
Desmoplasticus (illetve orsósejtes) melanoma			
S-100	98	197	97-100
Tirozináz	29	80	19-39
HMB-45	20	169	14-26
Melan-A (A103)	18	70	9-26

delkezésre a patológiai laboratóriumokban. A tirozináz ellenanyag esetében jelentősebb zavaró háttérreakcióról és gyengébb intenzitású pozitív festődésről is beszámoltak (34).

Amint arra már történt utalás, az S-100 reakció esetén gondot jelenthet, hogy nemcsak a melanomasejtek adnak pozitívítást (4. ábra), míg a HMB-45 esetén az jelentheti a gondot, hogy nem minden melanoma sejteket adnak pozitív reakciót. Ezért kellő körültekintést igényel az immunhisztokémiai reakciók értékelése.

Interpretációs nehézséget okozhat, hogy a capsularis naevussejtek is lehetnek amelanotikusak, ami miatt csak az immunhisztokémiai reakciók során tűnnek esetleg elő, és ezért téves metastasis-diagnózis kockázatát rejtik magukban. Több metszési sík vizsgálatát immunhisztokémiával kiegészítve, egy munkacsoport nemcsak okkult áttéteket talált az esetek 12%-ában, hanem capsularis naevussejteket is 9%-ban (66).

Az SN-biopszia számos vonatkozásában írtak le tanulási görbéket. A szövettani vizsgálat esetén

is létezik egy ilyen görbe; idővel az először vagy kizárólag immunhisztokémiával azonosított metastasisok aránya csökken, és a legtöbb intézményben 10–12% alatt van (14).

Molekuláris vizsgálatok

A melanoma korábban is említett, viszonylag specifikus markerei lehetővé teszik az SN-ek molekuláris vizsgálatát is. Ez az esetek döntő többségében reverz transzkripció polimeráz láncreakciót (RT-PCR) jelent, amely során a már átíródott gén mRNS-e alapján visszaírt cDNS-t amplifikálják és mutatják ki. Általában a tirozináz és Melan-A/MART-1 markereket alkalmazzák e célból.

Az RT-PCR az immunhisztokémiánál is érzékenyebb vizsgálat, amit az is tükröz, hogy a részletes szövettannal és immunhisztokémiával negatívnak minősített SN-ek akár 36%-a is mutathat több markerrel pozitívítást a molekuláris vizsgálattal (8). Az RT-PCR vizsgálatokat az is validálja, hogy a melanoma mélységi terjedésével a vizsgálat pozitivitása összefüggést mutat (7). Az RT-PCR segítségével kimutatott nyirokcsomó-érintettségnek melanoma esetén prognosztikai jelentősége van: a tübingeni egyetem anyagában, például, a betegség bármilyen lokalizációjú kiújulása, medián 19 hónapos követés után, szövettanilag pozitív SN-ek esetében 67%, a szövettanilag negatív, de RT-PCR-pozitív SN-ek esetében 25%, míg a mindkét módszerrel negatív SN-ek esetén csupán 6% volt (6).

Bár a paraffinba ágyazás csökkenti a vizsgálat szenzitivitását, az RT-PCR paraffinos szöveti blokkokon is kivitelezhető, és archivált, szokványosan feldolgozott SN-ek elemzésére is alkalmas lehet (50).

Lényeges itt is megjegyezni, hogy a capsularis naevussejtek bármelyik markerrel pozitív reakciót adhatnak, ezért a szövettani morfológiai kontroll minden csak RT-PCR-rel pozitív esetben kiemelt hangsúlyt kell hogy kapjon. A háttérben azonosított nyirokcsomók naevusok mellett a csak RT-PCR-pozitivitást nem szabad metastasisként értékelni, még akkor sem, ha ez a stratégia az esetek egy kis részében (naevussejteket és okkult áttéteket egyaránt tartalmazó SN-ek) hibalehetőséget képvisel. A morfológiai kontroll egyik elméleti lehetősége az in situ RT-PCR, ahol metszetekben mutatják ki a kérdéses mRNS-szekvenciát. Ez azonban egy technikailag nehezen kivitelezhető reakció, amely aligha válik rutin eljárássá a közeljövőben.

Mivel az RT-PCR érzékenyebb vizsgálat, a nem őrszem nyirokcsomók (nSN) ilyen jellegű vizsgálata az SN-biopszia hamis negativitási arányát is emelheti, azaz néhány esetben pozitív lehet nSN-ekben negatív SN-ek mellett (41). Továbbá megállapítást nyert az is, hogy a pozitív SN miatt az elektív blokkdiszekció során eltávolított, szövettanilag negatív nSN-ek is nagyobb arányban minősülhetnek pozitívnak molekuláris vizsgálattal (65). Hogy ezek a csak RT-PCR-rel pozitív nSN-ek milyen arányban lehetnek felelősek a betegség kiújulásáért, egyelőre bizonytalan.

Intraoperatív vizsgálatok

A pozitív SN-eknek az az egyik következménye, hogy az adott régióban blokkdiszekciót végeznek. Ezért többen megvizsgálták annak a lehetőségét, hogy intraoperatív vizsgálattal a betegek egy részénél a regionális disszekciót egy lépésben lehet-e elvégezni az SN-biopsziával.

Több tanulmány alapján is úgy tűnik, hogy melanoma esetén a kis méretű, hagyományos vizsgálattal rejtve maradó áttétek is prognosztikai jelentőségűek (6, 30), szemben például az emlőrákkal, ahol az egy vagy néhány sejtből álló, gyakran csak citokeratin-immunhisztokémia által kimutatott „áttét” értelmezése komoly problémákat vet fel. Többségi vélemény szerint ezeket az izolált tumorsejteket emlőráknál nem célszerű valódi áttétnek minősíteni; az új TNM besorolás is pN0 kategóriaként értelmezi a jelenséget általában, tumortípustól függetlenül (55). A különbség hátterében az állhat, hogy a melanomát kevésbé szokták manipulálni, mint az emlőtumorokat, amelyeket vékony- vagy vastagtű-biopsziának vetnek alá, illetve dróttal jelölhetnek. Az utóbbi beavatkozások bármelyike egy iatrogen sejtkimozdítást okozhat (24), és bár az így kimozdított sejtek többsége, akárcsak a keringő tumorsejtek java része, életképtelen (43), a rutin szövettani vizsgálat gyakran nem tud állást foglalni a nyirokcsomóban adott pillanatban talált sejtek további sorsával kapcsolatban (áttété nő-e vagy elpusztul?). Ezzel szemben melanoma esetén valószínűbb, hogy a SN-ekben talált izolált tumorsejtek valódi szóródás következményei, ezért kimutatásukra nagyobb hangsúlyt célszerű helyezni, és erre az intraoperatív vizsgálatok egyike sem képes kellő mértékben.

Több tanulmány is elemezte, hogy milyen eredmények érhetőek el műtét közbeni vizsgálatokkal. A fagyasztásos vizsgálatok szenzitivitása 33 és 59% között mozog, hamis negativitási aránya pedig 41 és 67% között (32, 36, 58). A lenyomat-citológiával hasonló eredményekről számoltak be: 38%-os szenzitivitás mellett 62%-os volt a fals negativitási arány (18).

Az eredmények és állásfoglalások egységesek abban, hogy az SN-érintettség viszonylag ritka, kb. 20%-os, az intraoperatív vizsgálatok szenzitivitása – legyen szó akár lenyomat-citológiáról vagy fagyasztásos vizsgálatokról – alacsony, és ennek a két tényezőnek az együttese miatt az intraoperatív vizsgálatok rutinszerű alkalmazása nem indokolt.

További érv lehet az intraoperatív vizsgálatokkal szemben a korábban említett buktatók sora (capsularis naevussejtek, dermatopathiás lymphadenopathia, haemosiderin, immunhisztokémiai markerek specifikitási problémái). Emellett a fagyasztásos vizsgálat a szöveti struktúra torzulását okozza, valamint szövetvesztéssel jár.

A fentieket összegezve, melanoma malignum esetén az őrszem nyirokcsomók rutinszerű intraoperatív vizsgálata nem javasolható, és ezzel összhangban a közlemények és a nemzetközi ajánlások is erélyesen ellene foglalnak állást (14, 15, 64).

Kutatási területek

Mivel az SN pozitivitása miatt elvégzett elektív blokkdiszekció során eltávolított nyirokcsomók gyakran negatívak, felmerül a kérdés, hogy a további nyirokcsomók áttétes volta a tumor és az SN ismert paraméterei alapján megjósolható-e. Előremutató kezdeményezés az Augsburgban bevezetett S klasszifikáció, amely morfometriai mérésekkel hozza összefüggésbe további nyirokcsomók áttétének kockázatát (57). A beosztás két paramétert vesz figyelembe: a tumorsejteket tartalmazó metszetek számát (n), és a nyirokcsomó tokjától mért legnagyobb távolságukat (d). A négy lehetséges kategóriát a következőképp definiálták: S0, ha $n=0$; S1, ha $1 \leq n \leq 2$ és $d \leq 1$ mm; S2, ha $n > 2$ és $d \leq 1$ mm; S3, ha $d > 1$ mm. S3 esetén a további nyirokcsomók áttétének esélye 50% felett van, míg S2 esetén ez 20% körül, S1 és S0 esetén pedig 0% körül van az nSN-ek hagyományos szövettani feldolgozása mellett (57). Tekintettel arra, hogy a szövettani feldolgozás nem egységes a különböző intézményekben, és a szerzők általános érvényű megállapításokra törekedtek, az S kategóriák eredeti több dimenziós változatát módosítani kényszerültek, ami az eredményeket lényegesen nem befolyásolta (Starz H, személyes közlés, Sentinel Node 2002, Yokohama, 2002. november 16-18.). Az új beosztásban S0, ha $d=0$; SI, ha $d \leq 0,3$ mm; SII, ha $0,3 \text{ mm} < d \leq 1$ mm; SIII, ha $d > 1$ mm. Az S beosztás, azon kívül, hogy a nSN-ek áttéteinek prediktora, egyben a távoli áttéteket és a túlélést is elövetíti (56).

Lényeges kutatási irány az SN-ek immunstatusának vizsgálata. Szövettani vizsgálatokkal kimutatták, hogy a melanomás betegek SN-jei immunosuppresszió alatt állnak. Az SN-ekben a paracorticalis régió egésze, valamint az ebben a régióban lévő, az antigénprezentációban érintett interdigitáló dendritikus retikulum (IDR) sejtek száma jelentősen csökkent az nSN-ekhez képest, és a megmaradt IDR sejteken az antigénprezentációhoz szükséges komplex dendritikus rendszer eltűnt vagy jelentősen leegyszerűsödött (4. ábra) (17, 25). Az IDR sejtek maturációját és aktivációját jelző markerek (CD80, CD86, CD40), akárcsak a nekik megfelelő T-sejt-receptorok (CTLA-4, CD28) szintén csökkent expressziót mutattak SN-ekben, nSN-ekhez képest (25). A jelenség hátterében feltételezhető, hogy a primer tumor által termelt citokinek az SN immunparalíziséhez vezetnek metastasis hiányában is, és ezért az SN képtelen felismerni az egyébként immunogén melanomasejteket a metastasis kialakulásakor. Staphylococcus enterotoxin A kiváltotta aspecifikus aktivációval az áttétmentes SN-ekben mind a Th1 és a Th2 típusú T-helper sejtek heterogén, de jelentősebb aktivációját (interferon-gamma-, interleukin-2-, granulocita-macrophag kolóniastimuláló faktor- és interleukin-10-szekréció) mutatták ki, mint az nSN-ekben. A különbség micrometastasiszt tartalmazó SN-ek esetében megszűnt, ami arra utalhat, hogy a micrometastasisz alulregulálhatja a citotoxikus T-sejtek képzésében szereplő helper T-sejt-funkciót (cito-

kintermelést) (38). Az SN-ek más nyirokcsomóktól eltérő immunológiai viselkedése, illetve ennek immunmodulátorokkal történő esetleges befolyásolása ugyancsak jelentős kutatási területet jelöl ki.

Javaslat a melanoma malignus betegek SN-jeinek feldolgozására

A közleményben összefoglalt jelenségek, tapasztalatok és nemzetközi ajánlások alapján az SN-ek vizsgálatára a következő minimális követelményre lehet javaslatot tenni.

Az SN-eket több szinten kell vizsgálni, és a haematoxylin és eosin festést kettős immunhisztokémiai vizsgálattal kell kiegészíteni: vagy S-100 és HMB-45, vagy pedig S-100 és Melan-A ellenanyagok egymás melletti alkalmazásával. Az immunhisztokémiai reakciókat célszerű mindig közel eső, haematoxylin-eosinnal festett metszetek kontrollja mellett végezni, és az immunhisztokémiai reakciók pozitivitása esetén ezeket a hagyományosan festett metszeteket is visszanezni. Az értékelésnél a pozitívan festődő sejtek morfológiájára és lokalizációjára is figyelemmel kell lenni, és nem szabad csupán a reakció pozitivitása alapján áttétesnek minősíteni az SN-t. Elterjedt ajánlás az Augsburg konszenzus ajánlása, mely szerint az 1., 3., 5. és 10. leghúzás hagyományos haematoxylin-eosin-festése mellett a 2. szint és a 4. szint immunhisztokémiai, S-100-, illetve HMB-45- (vagy Melan-A-) vizsgálatát javasolják a megfelezt SN mindkét feléből (15).

Az intraoperatív vizsgálatok rutinszerű alkalmazása nem javasolható. A fagyasztásos vizsgálatokat kerülni kell, válogatott esetekben, makroszkóposan gyanús SN esetén a lenyomat-citológia lehetővé teheti az egy lépésben végzett blokkdisszekciót.

Az SN-ek radioaktivitása külön problémakört vethet fel. A radiokolloidok jelölésekor használt ^{99m}Tc rövid féléletű, és viszonylag kis dózisban jut el az SN-ekbe; egyes közlemények a minta 24 óra elteltével való feldolgozását javasolták, de újabban ezt sem tartják szükséges óvintézkedésnek, a kisfokú sugárexpozíció miatt (16).

A fenti protokolljavaslat mellett megjegyzendő, hogy molekuláris vizsgálatokkal további „okult metastasisok” kerülhetnek észlelésre, de a jelenleg korlátozottan rendelkezésre álló adatok alapján a molekuláris staging még nem ajánlható rutin eljárásként.

Köszönetnyilvánítás

A szerző ezúton mond köszönetet Török László professzornak és Kirschner Ágnes doktornak, hogy rendelkezésére bocsátottak fotogén melanoma-micrometastasisokat tartalmazó őrszem nyirokcsomó-metszeteket.

A jelen munka az ETT 176/01 pályázatának támogatásával készült. A szerző részvételét a Sentinel Node 2002 kongresszuson az ETT 176/01 pályázata mellett a Magyar Onkológusok

Társasága is támogatta, és így nyílt lehetőség a kongresszuson elhangzott legfrissebb adatok megismerésére, valamint magyar nyelvű közzétételére. Az említett támogatásokért a szerző itt fejezi ki köszönetét.

Irodalom

1. Ackerman AB. Discordance among expert pathologists in diagnosis of melanocytic neoplasms. *Hum Pathol* 27:1115-1116, 1996
2. Baisden BL, Askin FB, Lange JR, et al. HMB-45 immunohistochemical staining of sentinel lymph nodes: a specific method for enhancing detection of micrometastases in patients with melanoma. *Am J Surg Pathol* 24:1140-1146, 2000
3. Balch CM, Soong SJ, Bartolucci AA, et al. Efficacy of an elective regional lymph node dissection of 1 to 4 mm thick melanomas for patients 60 years of age and younger. *Ann Surg* 224:255-266, 1996
4. Balch CM, Soong SJ, Murad TM, et al. A multifactorial analysis of melanoma: III Prognostic factors in melanoma patients with lymph node metastases (stage II). *Ann Surg* 193:377-388, 1981
5. Bautista NC, Cohen S, Anders KH. Benign melanocytic nevus cells in axillary lymph nodes. A prospective incidence and immunohistochemical study with literature review. *Am J Clin Pathol* 102:102-108, 1994
6. Blaheta HJ, Ellwanger U, Schitteck B, 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* 114:637-642, 2000
7. Blaheta HJ, Paul T, Sotlar K, et al. Detection of melanoma cells in sentinel lymph nodes, bone marrow and peripheral blood by a reverse transcription-polymerase chain reaction assay in patients with primary cutaneous melanoma: association with Breslow's tumour thickness. *Br J Dermatol* 145:195-202, 2001
8. Bostick PJ, Morton DL, Turner RR, 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* 17:3238-3244, 1999
9. Breslow A. Thickness, cross sectional areas, and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg* 172:902-908, 1970
10. Carson KF, Wen DR, Li PX, et al. Nodal nevi and cutaneous melanoma. *Am J Surg Pathol* 20:834-840, 1996
11. Cascinelli N, Morabito A, Santinami M, et al. Immediate or delayed dissection of regional nodes in patients with melanoma of the trunk: a randomised trial. *Lancet* 351:793-796, 1998
12. Cibull ML. Handling sentinel lymph node biopsy specimens. A work in progress. *Arch Pathol Lab Med* 123:620-621, 1999
13. Clark WH Jr, From L, Bernardino E, et al. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res* 29:705-726, 1969
14. Cochran AJ. Surgical pathology remains pivotal in the evaluation of sentinel lymph nodes. *Am J Surg Pathol* 23:1169-1172, 1999
15. Cochran AJ, Balda BR, Starz H, et al. The Augsburg Consensus. Techniques of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy, and completion lymphadenectomy in cutaneous malignancies. *Cancer* 89:236-241, 2000
16. Cochran AJ, Huang RR, Guo J, et al. Current practice and future directions in pathology and laboratory evaluation of the sentinel node. *Ann Surg Oncol* 8(Suppl 9):13S-17S, 2001
17. Cochran AJ, Morton DL, Stern S, et al. Sentinel lymph nodes show profound downregulation of antigen-presenting cells of the paracortex: implications for tumor biology and treatment. *Mod Pathol* 14:604-608, 2001
18. Creager AJ, Shiver SA, Shen P, et al. Intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes for metastatic melanoma by imprint cytology. *Cancer* 94:3016-3022, 2002

19. Cserni G. Complete step sectioning of axillary sentinel lymph nodes in patients with breast cancer. Analysis of two different step sectioning and immunohistochemistry protocols in 246 patients. *J Clin Pathol*, in press.
20. Cserni G. Mapping metastases in sentinel lymph nodes of breast cancer. *Am J Clin Pathol* 113:351-354, 2000
21. Cserni G. Misidentification of an axillary sentinel lymph node due to anthracosis. *Eur J Surg Oncol* 24:168, 1998
22. Cserni G, Péley G, Dubecz S. Sentinel Node 2000 (2nd International Sentinel Node Congress), Santa Monica, CA, USA, 2000. december 1-4. *Magyar Onkológia* 45:443-444, 2001
23. Cserni G, Péley G, Dubecz S. Sentinel Node 2000 (2nd International Sentinel Node Congress), Santa Monica, CA, USA, 2000. december 1-4. *Orv Hetil* 142:540-541, 2001
24. Diaz LK, Wiley EL, Venta LA. Are malignant cells displaced by large-gauge needle core biopsy of the breast. *AJR* 173:1303-1313, 1999
25. Essner R, Kojima M. Surgical and molecular approaches to the sentinel lymph nodes. *Ann Surg Oncol* 8(9 Suppl):31S-34S, 2001
26. Farkas E, Liskay G, Péley G, et al. Melanoma malignum sentinel nyirokcsomójának eltávolításában szerzett kezdeti tapasztalataink. *Magyar Sebészet* 53:61-66, 2000
27. Fleming ID, Cooper JS, Henson DE, et al, eds. *AJCC cancer staging manual*, 5. kiadás, Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997
28. Fontaine D, Parkhill W, Greer W, et al. Nevus cells in lymph nodes: an association with congenital cutaneous nevi. *Am J Dermatopathol* 24:1-5, 2002
29. Frisman D. *ImmunoQuery* 2002. 10. 22.
30. Gershenwald JE, Colome MI, Lee JE, et al. Patterns of recurrence following a negative sentinel lymph node biopsy in 243 patients with stage I or II melanoma. *J Clin Oncol* 16:2253-2260, 1998
31. Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, 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* 17:676-683, 1999
32. Gibbs JF, Huang PP, Zhang PJ, et al. Accuracy of pathologic techniques for the diagnosis of metastatic melanoma in sentinel lymph nodes. *Ann Surg Oncol* 6:699-704, 1999
33. Haigh PI, Lucci A, Turner RR, et al. Carbon dye histologically confirms the identity of sentinel nodes in cutaneous melanoma. *Cancer* 92:535-541, 2001
34. Jarrett P, Thomson W, MacKie RM. Immunohistochemistry and sentinel node biopsy in melanoma: the use of tyrosinase and Melan-A. *Br J Dermatol* 141:361-362, 1999
35. Kelley SW, Cockerell CJ. Sentinel lymph node biopsy as an adjunct to management of histologically difficult to diagnose melanocytic lesions: a proposal. *J Am Acad Dermatol* 42:527-530, 2000
36. Koopal SA, Tiebosch ATMG, Albertus Piers DA, et al. Frozen section analysis of sentinel lymph nodes in melanoma patients. *Cancer* 89:1720-1725, 2000
37. Leong SPL, Achtem TA, Habib FA, et al. Discordancy between clinical predictions vs lymphoscintigraphic and intraoperative mapping of sentinel lymph node drainage of primary melanoma. *Arch Dermatol* 135:1472-1476, 1999
38. Leong SP, Peng M, Zhou YM, et al. Cytokine profiles of sentinel lymph nodes draining the primary melanoma. *Ann Surg Oncol* 9:82-87, 2002
39. Liskay G, Farkas E, Péley G, et al. Preoperatív limfoszcintigráfiával végrehajtott sentinel nyirokcsomó műtétek melanoma malignumban. *Magyar Onkológia* 44:141-143, 2000
40. Lohmann CM, Coit DG, Brady MS, et al. Sentinel lymph node biopsy in patients with diagnostically controversial spitzoid melanocytic tumors. *Am J Surg Pathol* 26:47-55, 2002
41. Lukowsky A, Bellmann B, Ringk A, et al. Detection of melanoma micrometastases in the sentinel lymph node and in nonsentinel nodes by tyrosinase polymerase chain reaction. *J Invest Dermatol* 113:554-559, 1999
42. Meyer JS. Sentinel lymph node biopsy: strategies for pathologic examination of the specimen. *J Surg Oncol* 69:212-218, 1998
43. Méhes G, Witt A, Kubista E, et al. Circulating breast cancer cells are frequently apoptotic. *Am J Pathol* 159:17-20, 2001
44. Moehrl MW, Blaheta HJ, Ruck P. Tattoo pigment mimics positive sentinel lymph node in melanoma. *Dermatology* 203:342-344, 2001
45. Morton DL, Wen DR, Wong J, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 127:392-399, 1992
46. Oláh J, Dobozy A. A melanoma malignum új TNM beosztása. *Bőrgyógy Venerol Szle* 78:49-50, 2002
47. Oláh J, Gyulai R, Varga J, et al. Órszemnyirokcsomóbiopsziával szerzett tapasztalataink melanoma malignumban. *LAM* 11:536-541, 2001
48. Orosz Zs. A melanoma malignum pathológiai diagnózisának buktatói. *Magyar Onkológia* 47:27-39, 2003
49. Orosz Zs. Melan-A / Mart-1 expression in various melanocytic lesions and in non-melanocytic soft tissue tumours. *Histopathology* 34:517-525, 1999
50. Palmieri G, Ascierto PA, Cossu A, et al. Detection of occult melanoma cells in paraffin-embedded histologically negative sentinel lymph nodes using a reverse transcriptase polymerase chain reaction assay. *J Clin Oncol* 19:1437-1443, 2001
51. Péley G, Farkas E, Mátrai Z, et al. A sebészet szerepe a melanoma malignum kezelésében. *Magyar Onkológia* 47:69-77, 2003
52. Péley G, Sinkovics I, Liskay G, et al. Az intraoperatív gamma-próba által vezérelt órszem nyirokcsomóbiopszia jelentősége a melanoma malignum és az emlőrák kezelésében. *Orv Hetil* 140:2331-2338, 1999
53. Shidham VB, Qi DY, Acker S, et al. Evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma: higher diagnostic accuracy with Melan-A and MART-1 compared with S-100 protein and HMB-45. *Am J Surg Pathol* 25:1039-1046, 2001
54. Sobin LH, Wittekind Ch, eds. *UICC TNM classification of malignant tumours*, 5. kiadás, New York: John Wiley and Sons, 1997
55. Sobin LH, Wittekind Ch, eds. *UICC TNM classification of malignant tumours*, 6. kiadás, New York: John Wiley and Sons, 2002
56. Starz H, De Donno A, Balda BR. The Augsburg experience: histological aspects and patient outcomes. *Ann Surg Oncol* 8(Suppl 9):48S-51S, 2001
57. Starz H, Gerstel C, Bachter D, et al. Two simple morphometric parameters permit a clinically relevant staging of the sentinel node metastases in malignant melanoma and merkel cell carcinoma. *Eur J Nucl Med* 26(Suppl):S68, 1998
58. Stojadinovic A, Allen PJ, Clary BM, et al. Value of frozen-section analysis of sentinel lymph nodes for primary cutaneous malignant melanoma. *Ann Surg* 235:92-98, 2002
59. Tarján M. Órszem nyirokcsomóbiopszia Magyarországon. A sebészeti onkológia forradalmi újításának hazai eredményei. *Magyar Onkológia* 46:315-321, 2002
60. Thompson JF, Uren RF, Shaw HM, et al. Location of sentinel lymph nodes in patients with cutaneous melanoma: new insights into lymphatic anatomy. *J Am Coll Surg* 189:195-204, 1999
61. Török L, Mari B, Fórizs A, et al. A szentinel nyirokcsomó vizsgálatának jelentősége melanoma malignumban. Első tapasztalatok. *Orv Hetil* 139:1339-1341, 1998
62. Török L, Károlyi Z, Kádár L, et al. A peritumorális nyirokcsomó-szcintigráfia jelentősége melanoma malignumban szenvedő betegeken. *Orv Hetil* 128:1631-1635, 1987
63. van Diest PJ. Histopathological workup of sentinel lymph nodes: how much is enough? *J Clin Pathol* 52:871-873, 1999
64. van Diest P, Peterse HL, Borgstein PJ, et al. Pathological investigation of sentinel lymph nodes. *Eur J Nucl Med* 26(Suppl):S43-49, 1999
65. Wrightson WR, Wong SL, Edwards MJ, et al. Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis of nonsentinel nodes following completion lymphadenectomy for melanoma. *J Surg Res* 98:47-51, 2001
66. Yu LL, Flotte TJ, Tanabe KK, et al. Detection of microscopic melanoma metastases in sentinel lymph nodes. *Cancer* 86:617-627, 1999
67. Zervos EE, Burak WE Jr. Lymphatic mapping in solid neoplasms: state of the art. *Cancer Control* 9:189-202, 2002