

**Univerzita Karlova**  
**1. lékařská fakulta**  
Autoreferát disertační práce



**UNIVERZITA KARLOVA**  
**1. lékařská fakulta**

Morfologická a imunohistochemická analýza melanocytárních lézí

MUDr. Bc. Miroslav Důra

2021

**Doktorské studijní programy v biomedicině**  
*Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky*

Obor: Biologie a patologie buňky

Předseda oborové rady: prof. RNDr. Ivan Raška, DrSc.

Školící pracoviště: Ústav patologie 1. LF UK a VFN

Školitel: prof. MUDr. Pavel Dunder, Ph.D.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

## Obsah

<b>1. Abstrakt</b> .....	4
<b>2. Abstract</b> .....	5
<b>3. Úvod</b> .....	6
<b>4. Analýza exprese GLUT-1 u melanocytárních lézí</b> .....	8
4.1. <i>Hypotézy a cíle práce</i> .....	8
4.2. <i>Materiál a metodika</i> .....	8
4.3. <i>Výsledky a diskuse</i> .....	10
<b>5. Porovnání 5 různých skórovacích systémů hodnocení TIL u melanomu</b> .....	12
5.1. <i>Hypotézy a cíle práce</i> .....	12
5.2. <i>Materiál a metodika</i> .....	12
5.3. <i>Výsledky a diskuse</i> .....	13
<b>6. Závěry</b> .....	15
<b>7. Použitá literatura</b> .....	17
7.1. <i>Odborné články</i> .....	17
7.2. <i>Knihy</i> .....	21
7.3. <i>Internetové zdroje</i> .....	21
<b>8. Seznam publikací doktoranda</b> .....	22
8.1. <i>Publikace s IF, které jsou podkladem disertace</i> .....	22
8.2. <i>Publikace s IF bez vztahu k tématu disertace</i> .....	22
8.3. <i>Publikace bez IF bez vztahu k tématu disertace</i> .....	22

## 1. Abstrakt

Tématem této disertační práce je morfologická a imunohistochemická analýza melanocytárních lézí. Melanom je nejnebezpečnějším maligním kožním nádorem s možným výskytem i mimo kůži. Jeho včasná diagnostika je zásadním aspektem dobré prognózy onemocnění. Melanom je typický zakládáním vzdálených metastáz v horizontu mnoha let po iniciální diagnóze.

Rozmanitost melanocytárních lézí činí jejich histopatologickou diferenciální diagnostiku extrémně složitou. Úsilím současného výzkumu je identifikace surogátních imunohistochemických či molekulárně-genetických markerů, které by byly schopny odhalit biologickou povahu dané léze a tím vnést světlo do šedé zóny melanocytárních lézí nejisté biologické povahy.

Tato disertační práce se zabývá imunohistochemickou analýzou exprese proteinu GLUT-1 u 400 případů benigních a maligních melanocytárních lézí. Bylo zjištěno, že tento marker byl exprimován u signifikantní skupiny melanomů, avšak prakticky v žádném případě melanocytárního névu. Expres GLUT-1 byla též spojena s horší prognózou onemocnění.

Disertační práce se dále zabývá problematikou TIL u melanomu. Analýza TIL (tumor infiltrujících lymfocytů) na 213 melanomech srovnávala prognostický význam 5 různých skórovacích systémů. V základním barvení HE hodnotila rozložení a denzitu zánětlivé celulizace. Pouze u třech z pěti skórovacích systémů byl zjištěn signifikantní význam jakožto prognostického ukazatele.

**Klíčová slova:** melanocytární léze, melanom, imunohistochemie, tumor infiltrující lymfocyty, GLUT-1, prognóza

## 2. Abstract

This doctoral thesis deals with morphological and immunohistochemical analysis of melanocytic lesions. Melanoma is the most dangerous malignant skin tumor with its potential occurrence outside the skin. Its early diagnosis is the basic aspect of a favorable disease prognosis. Distant metastases development occurring several years after the initial diagnosis is a typical feature of melanoma.

Histopathological differential diagnostics of melanocytic lesions is extremely difficult because of the diversity of melanocytic lesions. Contemporary research is focused on the identification of new surrogate markers based on immunohistochemistry or molecular genetics, which would be able to estimate the behavior of a certain lesion and clarify the gray zone of melanocytic lesions of uncertain biological behavior.

The doctoral thesis is focused on the immunohistochemical analysis of GLUT-1 protein expression in 400 cases of benign and malignant melanocytic lesions. Significant expression of this marker was identified in the group of melanomas, it was not identified in melanocytic nevi. Expression of GLUT-1 corresponded to the worse prognosis of the disease.

The doctoral thesis also deals with the issue of TILs. The analysis of TILs (tumor infiltrating lymphocytes) in 213 melanomas compared the prognostic significance of 5 different scoring systems. The distribution and the density of the inflammatory infiltration were assessed in HE staining. Statistical significance regarding its prognostic value was identified in three from five scoring systems.

**Key words:** melanocytic lesion, melanoma, immunohistochemistry, tumor infiltrating lymphocytes, GLUT-1, prognosis

### 3. Úvod

Melanom je obávaným zhoubným nádorem kůže, který se může vyskytnout i mimo kůži, výjimečně se objevuje metastazující melanom bez známého origa. Melanom je znám svým agresivním biologickým chováním a jeho potenciálem zakládat vzdálené metastázy v horizontu řady let od iniciální diagnózy. Incidence melanomu stoupá meziročně nejen v České republice, tento trend je možno pozorovat prakticky po celém světě. Melanom se stále častěji vyskytuje i u mladších věkových skupin pacientů.

Melanom je zároveň preventabilním nádorem díky možnosti preventivních kontrol kožního krytu a samovyšetřování.

Rok 2011 byl přelomovým rokem v terapii melanomu, jelikož byl do klinické praxe zaveden první lék ze skupiny imunoterapeutik – ipilimumab. V dalších letech se objevily další imunoterapeutika a cílené léky namířené proti mutované kináze BRAF a kináze MEK. Tyto léky výrazně prodlužují celkové přežití a prodlužují dobu do progresu. Zároveň dochází k signifikantnímu zlepšení kvality života s metastazujícím nádorem.

Vývoj v léčbě metastazujícího melanomu postupuje dále a trend zvyšující se úspěšnosti léčby bude jistě pokračovat. Cílem je elevace Kaplan-Meierových křivek a dosažení jejich plateau.

Obrovská plasticita melanocytů a rozmanitost benigních a maligních nádorů pocházejících z melanocytů činí jejich histopatologickou diagnostikou extrémně složitou, v dermatohistopatologii patří patologie melanocytů mezi nejkomplicovanější problematiku.

Jedním z cílů současného výzkumu je nalézt surogátní imunohistochemické či molekulárně-genetické markery, které by umožnily zpřesnit odhad biologické povahy hodnocené léze.

Každý z těchto markerů s jistou vahou „přihazuje“ na pomyslné misky vah, avšak nejzásadnějším a dosud základním histologickým barvením je barvení v hematoxylinu-eozinu. Výsledná diagnóza je postavena na kombinaci klinického obrazu, anamnézy, dermatoskopického obrazu a obrazu histopatologického za případného použití pomocných analýz.

Tato disertační práce se zaměřuje na problematiku imunohistochemické exprese GLUT-1 (glukózového transportéru 1) u benigních a maligních melanocytárních lézí. Bylo zjištěno, že protein GLUT-1 je exprimován u signifikantní skupiny melanomů, avšak v žádném případě benigního melanocytárního névu. U části melanomů byl zachycen zonální efekt exprese v závislosti na vzrůstající vzdálenosti od nádorového stromatu. Exprese proteinu GLUT-1 byla zároveň spojena se signifikantně horší prognózou onemocnění.

Tato disertační práce se zároveň zabývá problematikou TIL (tumor infiltrujících lymfocytů) u melanomu. TIL byly dosud intenzivně studovány zejména u karcinomu prsu a kolorektálního karcinomu. Studován je jejich prognostický a prediktivní význam.

Analýza srovnávala 5 různých skórovacích systémů ve vztahu k jejich prognostickému významu. Studie hodnotila rozložení a denzitu zánětlivé celulizace v základním barvení HE. Pouze u třech z pěti těchto systémů byl zjištěn signifikantní význam jakožto prognostického ukazatele.

## 4. Analýza exprese GLUT-1 u melanocytárních lézí

### 4.1. Hypotézy a cíle práce

Cílem této studie byla imunohistochemická analýza exprese proteinu GLUT-1 u benigních a maligních melanocytárních lézí a její korelace s prognózou onemocnění. Cílem bylo provést analýzu na 400 vzorcích, čímž se jedná o dosud největší imunohistochemickou analýzu proteinu GLUT-1 u melanocytárních lézí.

Prognóza melanomu byla u každého pacienta hodnocena třemi ukazateli – specifické přežití (DSS), přežití bez lokálního relapsu (RFS) a přežití bez vzdálených metastáz (MFS).

Byly vysloveny 2 hypotézy:

- **Expese proteinu GLUT-1 se liší u benigních a maligních melanocytárních lézí.**
- **Expese proteinu GLUT-1 koreluje s prognózou kožního melanomu.**

### 4.2. Materiál a metodika

Pro analýzu bylo vybráno celkově 400 FFPE (formalin-fixed paraffin-embedded) melanocytárních lézí, z nichž bylo 225 primárních kožních melanomů všech stádií (viz dále). Zbytek (175) vzorků byl tvořen melanocytárními névy, z nichž 89 bylo smíšených, 83 intradermálních, 3 byly jiného typu (junkční, modrý, kombinovaný). Jiné typy melanocytárních névů (dysplastické, DPN, kongenitální atd.) a melanocytární léze nejisté biologické povahy do studie nebyly zařazeny.

Melanomy byly excidovány na I. chirurgické klinice VFN a 1. LF UK a jejich zpracování proběhlo na Ústavu patologie VFN a 1. LF UK v období let 2006 až 2010.

Melanocytární névy byly excidovány na Dermatovenerologické klinice VFN a 1. LF UK v období let 2012-2014, zpracovány byly v tamní dermatohistopatologické laboratoři.

Melanomy byly rozděleny do 4 skupin dle (v průběhu studie platné) TNM klasifikace 7. vydání dle AJCC (pT1  $\leq$  1 mm, pT2 > 1–2 mm, pT3 > 2–4 mm, pT4 > 4 mm). Dále byly rozděleny dle jejich lokality na 4 skupiny – hlava a krk (35 případů, z toho jeden byl konjunktivální melanom, 2 případy pocházely z krku, 2 případy pocházely z ušního boltce), horní končetina včetně ramene (42 případů), dolní končetina včetně kyčle (37 případů) a 111 případů bylo lokalizováno na trupu. U všech melanomů byla evidována přítomnost ulcerace (přítomna vs. nepřítomna).



U všech pacientů s excidovaným melanomem zařazených do studie byl sledován follow-up. Zjišťováno bylo specifické přežití (DSS), přežití bez lokálního relapsu (RFS) a přežití bez vzdálených metastáz (MFS). Tyto informace byly zjištěny z dokumentace Dermatovenerologické kliniky I.LF a UK, kam pacienti docházeli na další kontroly.

Průměrný věk pacientů s melanomem byl 63 let (medián 65 let, od 15 do 93 let). Průměrný věk pacientů s excidovanými névy byl 36 let (medián 35 let, od 5 do 79 let). Ve skupině melanomů bylo zastoupeno 134 mužů a 91 žen, ve skupině névů bylo zastoupeno 50 mužů a 125 žen.

Výzkum probíhal v souladu s Helsinskou deklarací a výzkum byl schválen Etickou komisí VFN.

K manuální imunohistochemické analýze metodou ABC (avidin-biotin complex) byla použita validovaná protilátka Glut-1 (polyklonální, 1:100, Cell Marque, Rocklin, California). Odhalení antigenu byl provedeno užitím 0,01 molárního citrátového pufru (pH 9,0) po 40 min. ve vodní lázni při 98°C.

Pro imunohistochemickou vizualizaci byla využita reakce za vniku DAB (diaminobenzidin), čili hnědé koncovky, jejíž imunohistochemická pozitivita má srovnatelný odstín hnědé jako intracelulární pigment nádorových buněk. Jejich rozložení však není zcela identické. IHC pozitivita je difuzní či jemně granulární, melanozomy a hrudky pigmentu tvoří objemná hrubá granula.

Vyřazeny však přes to byly vysoce pigmentované melanomy včetně tzv. „animal type“ melanomů, které by mohly znemožnit validní imunohistochemické vyšetření s použitím klasického imunohistochemického vizualizování využívající reakci DAB.

Pozitivní vnitřní kontrolou byly erytrocyty, perineurium a keratinocyty bazální epidermis, které byly hodnoceny u každého jednotlivého případu. Vnitřní negativní kontrolou byly kolagenní snopce, tuková tkáň, buňky hladkého svalů.

Vzhledem k pozitivitě exprese GLUT-1 střední až silné intenzity v bazálních buňkách epidermis bylo hodnocení lentiginózně a pagetoidně rozmístěných melanocytů ztíženo. Pozitivitu GLUT-1 bylo však možno hodnotit v junkčních melanocytárních hnízdech.

Nehodnotitelné byly nekrotické oblasti tumoru, v těchto lokalitách dochází k falešné pozitivitě nádorových buněk.

Odečet byl proveden dvěma nezávislými hodnotiteli, sporné a nejednoznačné případy byly diskutovány s třetím patologem. Hodnocena byla pouze membránová pozitivita.

K semikvantitativnímu zhodnocení bylo využito H-skóre. *H-skóre* hodnotí imunohistochemickou pozitivitu na 4-stupňové škále (0 – žádná, 1 – slabá, 2 – střední, 3 – silná) a zároveň

procento pozitivních buněk (0-100 %). Výsledné H-skóre je výsledkem následující formule a nabývá hodnot 0 až 300.

$$\text{H skóre} = [1 \times (\% \text{ buněk } 1+) + 2 \times (\% \text{ buněk } 2+) + 3 \times (\% \text{ buněk } 3+)].$$

Za pozitivní byl vzorek považován tehdy, bylo-li H-skóre membránové imunohistochemické positivity minimálně 15. Při této hodnotě byla nalezena nejvyšší specificita a sensitivita.

### 4.3. Výsledky a diskuse

Membránová pozitivita GLUT-1 byla nalezena v 69 z 225 případů (30,7 %) melanomů. Expres GLUT-1 se zvyšovala se zvyšující se hodnotou dle Breslowa ( $p < 0,00001$ ). Pozitivita GLUT-1 byla pozorována u 10 ze 101 melanomů stádia pT1 (10 %, medián H-skóre pro pozitivní případy byl 30,5; průměr 47); u 17 z 47 melanomů stádia pT2 (36 %, medián H-skóre pro pozitivní případy byl 48; průměr 53,2); u 16 z 44 melanomů stádia pT3 (36,4 %, medián H-skóre pro pozitivní případy byl 34,5; průměr 41,5) a u 26 z 33 melanomů stádia pT4 (78,8 %, medián H-skóre pro pozitivní případy byl 67,5; průměr 82,9).

V některých případech byl u melanomů (zejména pokročilých, stádia pT4) pozorován vyjádřený zonální efekt, kdy se síla exprese zvyšovala se vzdáleností od nádorového stromatu (ať už od neovaskularizovaného nádorového stromatu či od invazivního marginálního stromatu). Ve velké části případů byla však exprese rozložena heterogenně, bez viditelné závislosti na vzdálenosti od stromatu či od okrsků nekrózy (**příloha 4**).

Ve skupině melanocytárních névů vykazovalo všech 175 případů negativní membránovou expresi GLUT-1 (expres GLUT-1 s mediánem H-skóre pouze 2 byla nalezena u 24 z 175 případů melanocytárních névů, tzn. 13,7 %).

Ve studii nebyla nalezena signifikantní souvislost mezi silou exprese GLUT-1 a pohlavím, věkem pacientů a lokalitou tumoru ( $p > 0,05$ ).

U pacientů byla též hodnocena závislost exprese GLUT-1 na prognóze onemocnění. Na základě multivariantní analýzy bylo potvrzeno, že šíře tumoru dle Breslowa je nejsilnějším prognostickým faktorem.

H-skóre exprese GLUT-1 se ukázalo být statisticky signifikantním markerem v univariantní analýze, v níž zvýšená membránová exprese GLUT-1 koreluje s horším desetiletým specifickým přežitím pacientů (DSS,  $p = 0,00734$ ; 24 pacientů zemřelo z důvodu progresse melanomu); koreluje s horším desetiletým přežíváním bez lokálního relapsu (RFS,  $p = 0,00003$ ;

36 pacientů vyvinulo lokální recidivu) a též koreluje s kratším přežitím bez vzdálených metastáz (MFS,  $p = 0.00050$ ; 41 pacientů vyvinulo vzdálené metastázy) (**příloha 5**).

Na základě výše popsaného byly potvrzeny obě hypotézy. Byl potvrzen signifikantní rozdíl v expresi GLUT-1 u benigních a maligních melanocytárních lézí, přičemž dle našich výsledků prakticky není GLUT-1 u benigních lézí imunohistochemicky detekovatelný. Exprese proteinu GLUT-1 signifikantně koreluje s prognózou onemocnění, přičemž vyšší exprese GLUT-1 koreluje s horší prognózou kožního melanomu.

## 5. Porovnání 5 různých skórovacích systémů hodnocení TIL u melanomu

### 5.1. Hypotézy a cíle práce

Cílem této studie bylo porovnání pěti různých skórovacích systémů hodnocení TIL u kožního melanomu a jeho korelace s prognózou onemocnění. Jednalo se o následující skórovací systémy:

- hodnocení dle Clarka (Clark WH. Jr. et al., 1989)
- hodnocení dle Melanoma Institute Australia (MIA) (Azimi F. et al., 2012)
- hodnocení dle Saldanhy (Saldanha G. et al., 2017)
- hodnocení dle Parka ze studie TCGA (Park CK. et al., 2017)
- hodnocení dle International Immuno-Oncology Biomarker Working Group (IIOBWG) (Hendry S. et al., 2017).

V této studii byla vyslovena následující hypotéza:

- **Výsledek výše jmenovaných skórovacích systémů hodnocení TIL u kožního melanomu koreluje s jeho prognózou.**

### 5.2. Materiál a metodika

K analýze bylo použito celkově 213 FFPE (formalin-fixed paraffin-embedded) vzorků kožních melanomů, zahrnuty byly superficiálně se šířící a nodulární melanomy.

Veškerý bioptický materiál byl získán z archivu Ústavu patologie 1. LF UK a VFN. Pro samotné hodnocení bylo použito základní barvení HE. Vzácnější typy melanomů (např. akrolentiginózní či desmoplastické melanomy) byly ze souboru vyloučeny. U všech pacientů byly sledovány prognostické faktory (viz dále).

Výzkum probíhal v souladu s Helsinskou deklarací a byl schválen Etickou komisí VFN.

Tumor infiltrující lymfocyty byly hodnoceny dvěma nezávislými zkušenými patology. Nejednoznačné vzorky byly reevaluovány, aby bylo dosaženo konsenzu.

Použito bylo 5 různých skórovacích systémů: hodnocení dle Clarka (Clark WH. Jr. et al., 1989), hodnocení dle Melanoma Institute Australia (MIA) (Azimi F. et al., 2012), hodnocení dle

Saldanhy (Saldanha G. et al., 2017), hodnocení dle Parka ze studie TCGA (Park CK. et al., 2017) a hodnocení dle International Immuno-Oncology Biomarker Working Group (IIOBWG) (Hendry S. et al., 2017).

Pro hodnocení bylo stanoveno několik premis. Hodnoceny byly pouze kulatobuněčné zánětlivé elementy, nebyly hodnoceny polymorfonukleární leukocyty. Byla hodnocena pouze zánětlivá lymfocytární celulizace, která přímo infiltrovala hnízda nádorových buněk či byla v jejich bezprostředním kontaktu, nebyla hodnocena infiltrace v okolí nádorových buněk či v nádorovém stromatu. Hodnocena byla pouze oblast vertikální růstové fáze nádoru, nikoli horizontální růstové fáze (**příloha 6**).

Z prognostických ukazatelů byly hodnoceny tři parametry – DFS (disease free survival), LFS (local recurrence free survival), DMFS (distant metastasis free survival).

Ke statistickému hodnocení byl použit software Statistica 10 (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA) za využití univariální analýzy a konstrukce Kaplan-Meierových křivek. Statistické zhodnocení bylo provedeno pro každý skórovací systém zvlášť.

Kromě algoritmu IIOBWG byly ostatní 4 skórovací systémy hodnoceny u všech 213 případů primárních kožních melanomů. Algoritmus IIOBWG mohl být hodnocen pouze u 156 melanomů, jelikož pouze u 156 melanomů byla šíře dle Breslowa dostatečná k validnímu odečtu.

### *5.3. Výsledky a diskuse*

Medián šíře melanomu dle Breslowa byl 2,05 mm a jeho střední hodnota činila 2,94 mm. Regresivní změny byly přítomny u 59 melanomů (27 %).

Statistická signifikance byla nalezena u skórovacího systému dle Clarka (Kappa index = 0.98;  $p < 0.001$ ), dle Saldanhy (Kappa index = 0.99;  $p < 0.001$ ), dle Parka (Kappa index = 0.97 pro peritumorální celulizaci a 1,00 pro intratumorální celulizaci;  $p < 0.001$ ), dle IIOBWG (Kappa index = 0.88 v hodnocení infiltrace invazivního okraje;  $p < 0.001$ ). Dobrá shoda byla nalezena i u hodnocení dle IIOBWG pro hodnocení infiltrace invazivního stromatu (Kappa index = 0.76;  $p < 0.001$ ) a infiltrace invazivních nádorových buněk (Kappa index = 0.69;  $p < 0.001$ ).

Prognostický význam v hodnocení TIL dle Clarka (skóre 0 + 1, vs. 2), hodnocení dle MIA (skupiny 0, 1, 2, 3) a IIOBWG (hodnocení infiltrace stromální komponenty ve skupinách 0, 1, 2) byl v těchto algoritmech statisticky signifikantní v univariální analýze ve všech třech sledovaných prognostických faktorech (DFS, LFS, DMFS) (**příloha 7**).

V analýze hodnocení dle Saldanhy (pro skupiny 0, 1, 2) a hodnocení dle Parka (s hodnocením intratumorální a peritumorální infiltrace) nebyla nalezena žádná statistická signifikance pro žádný z prognostických faktorů (DFS, LFS, DMFS).

Skórovací systém IIOBWG v hodnocení intratumorální komponenty a invazivních okrajů taktéž nebyl statisticky signifikantní.

Závěrem shrnuto, prognostický význam byl statisticky signifikantní u některých proměnných u hodnocení dle Clarka, hodnocení dle MIA a hodnocení dle International Immuno-Oncology Biomarker Working Group (IIOBWG). Ve zbylých skórovacích systémech nebyl nalezen statisticky signifikantní význam ve vztahu k prognóze onemocnění. Tímto faktem byla částečně potvrzena úvodem vyslovená hypotéza.

## 6. Závěry

Cílem této disertační práce bylo v obecné rovině shrnout současný pohled na problematiku epidemiologie, diagnostiky, prevence a terapie časných a pozdních stádií melanomu s důrazem na moderní nechirurgické modalitiny léčby. Zároveň měla práce za cíl stručně shrnout úskalí histopatologické diagnostiky melanocytárních lézí s přihlédnutím k pomocným imunohistochemickým a molekulárně-genetickým markerům.

V souvislosti s výzkumnou částí byla shrnuta struktura a funkce proteinu GLUT-1 a jeho role v imunohistochemii, dále pak problematika tumor infiltrujících lymfocytů u melanomu včetně přehledu skórovacích systémů.

Výzkumná část byla zaměřena na imunohistochemickou analýzu proteinu GLUT-1 u benigních a maligních melanocytárních lézí a na porovnání 5 různých skórovacích systémů TIL u melanomu jakožto potenciálního prognostického markeru.

Zjištěna byla statisticky signifikantní exprese GLUT-1 u melanomu, exprese nebyla detekována u žádného melanocytárního névu. Exprese GLUT-1 u melanomu se též ukázala být statisticky signifikantním prognostickým markerem. U některých melanomů vyšší hodnoty dle Breslowa byl identifikován známý zonální efekt exprese se vzrůstající vzdáleností od nádorového stromatu.

Analýza porovnání různých skórovacích systémů pro hodnocení TIL vykazala statistickou signifikanci jakožto prognostického markeru pouze u 3 z 5 hodnocených skórovacích systémů (dle Clarka, dle MIA a dle International Immuno-Oncology Biomarker Working Group – IIOBWG). Hodnoceny byly tři faktory – DFS (disease free survival), LFS (local recurrence free survival), DMFS (distant metastasis free survival).

Základem histopatologického hodnocení melanocytární léze je barvení HE. Doplňující vyšetření přidávají validitu konečné histopatologické diagnózy. Finální diagnóza je stanovena na základě klinicko-patologické korelace, v níž hraje roli klinický a dermatoskopický obraz dané léze, anamnéza atd.

Léčba metastazujícího melanomu prožívá v posledních letech svůj „zlatý věk“, v němž dochází k neustálému prodlužování celkového přežití. Do klinické praxe přichází řada nových léčiv na bázi protinádorové imunoterapie či malých molekul inhibujících signální kaskádu Ras. Léčba s sebou přináší nebývalé léčebné odpovědi, které byly v éře chemoterapie jen těžko představitelné. Léčba s sebou přináší i zcela nové obzory nepoznaných nežádoucích účinnů.

Současná doba zlepšující se včasné diagnostiky melanomu včetně dermatoskopie, současný rozvoj účinné protinádorové terapie v kombinaci se zpřesňující se histopatologickou diagnostikou otevírá nevídané obzory onkologické péče.



## 7. Použitá literatura

### 7.1. Odborné články

1. Ackerman AB. Malignant melanoma in situ: The flat, curable stage of malignant melanoma. *Pathology*. 1985;17(2):298-300.
2. Ahrens WA, Ridenour RV 3rd, Caron BL, Miller DV, Folpe AL. GLUT-1 expression in mesenchymal tumors: an immunohistochemical study of 247 soft tissue and bone neoplasms. *Hum Pathol*. 2008;39(10):1519-26.
3. Azimi F, Scolyer RA, Rumcheva P, Moncrieff M, Murali R, McCarthy SW, Saw RP, Thompson JF. Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol*. 2012;30(21):2678-83.
4. Baer SC, Casaubon L, Younes M. Expression of the human erythrocyte glucose transporter Glut1 in cutaneous neoplasia. *J Am Acad Dermatol*. 1997;37(4):575-7.
5. Barthel A, Okino ST, Liao J, Nakatani K, Li J, Whitlock JP Jr, Roth RA. Regulation of GLUT1 gene transcription by the serine/threonine kinase Akt1. *J Biol Chem*. 1999;274(29):20281-6.
6. Busam KJ, Chen YT, Old LJ, Stockert E, Iversen K, Coplan KA, Rosai J, Barnhill RL, Jungbluth AA. Expression of melan-A (MART1) in benign melanocytic nevi and primary cutaneous malignant melanoma. *Am J Surg Pathol*. 1998;22(8):976-82.
7. Carvalho KC, Cunha IW, Rocha RM, Ayala FR, Cajaíba MM, Begnami MD, Vilela RS, Paiva GR, Andrade RG, Soares FA. GLUT1 expression in malignant tumors and its use as an immunodiagnostic marker. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(6):965-72.
8. Clark WH Jr, Elder DE, Guerry D 4th, Braitman LE, Trock BJ, Schultz D, Synnestvedt M, Halpern AC. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst*. 1989;81(24):1893-904.
9. Clarkson KS, Sturdge IC, Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). *J Clin Pathol*. 2001;54:196-200.
10. Crane RK. Intestinal absorption of sugars. *Physiol Rev*. 1960;40:789-825.
11. Day CL, Sober AJ, Kopf AW, Lew RA, Mihm MC, Golomb FM, Postel A, Hennessey P, Harris MN, Gumport SL, Raker JW, Malt RA, Cosimi AB, Wood WC, Roses DF, Gorstein F, Fitzpatrick TB. A prognostic model for clinical stage I melanoma of the trunk: Location near the midline is not an independent risk factor for recurrent disease. *Am J Surg*. 1981;142(2):247-251.
12. Deng D, Xu C, Sun P, Wu J, Yan C, Hu M, Yan N. Crystal structure of the human glucose transporter GLUT1. *Nature*. 2014;510(7503):121-5.
13. Duffy K, Grossman D. The dysplastic nevus: from historical perspective to management in the modern era: part I. Historical, histologic, and clinical aspects. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67(1):1.e1-16; quiz 17-8.
14. Dunder P, Němejcová K, Bártů M, Matěj R, Rohan Z, Tichá I. Hodnocení zánětlivé celulizace (tumor infiltrujících lymfocytů) u solidních nádorů. *Klin Onkol*. 2017;30(Suppl 3):3S10-3S21.
15. Eichhoff OM, Zipser MC, Xu M, Weeraratna AT, Mihic D, Dummer R, Hoek KS. The immunohistochemistry of invasive and proliferative phenotype switching in melanoma: a case report. *Melanoma Res*. 2010;20(4):349-55.
16. El Sharouni MA, Aivazian K, Witkamp AJ, Sigurdsson V, van Gils CH, Scolyer RA, Thompson JF, van Diest PJ, Lo SN. Association of histologic regression with a favorable outcome in patients with stage 1 and stage 2 cutaneous melanoma. *JAMA Dermatol*. 2021;157(2):166-173.
17. Faries MB, Thompson JF, Cochran AJ, Andtbacka RH, Mozzillo N, Zager JS, Jahkola T, Bowles TL, Testori A, Beitsch PD, Hoekstra HJ, Moncrieff M, Ingvar C, Wouters MWJM, Sabel MS, Levine EA, Agnese D, Henderson M, Dummer R, Rossi CR, Neves RI, Trocha SD, Wright F, Byrd DR, Matter M, Hsueh E, MacKenzie-Ross A, Johnson DB, Terheyden P, Berger AC, Huston TL, Wayne JD, Smithers BM, Neuman HB, Schneebaum S, Gershenwald JE, Ariyan CE, Desai DC, Jacobs L, McMasters KM, Gesierich A, Hersey P, Bines SD, Kane JM, Barth RJ, McKinnon G, Farma JM, Schultz E, Vidal-Sicart S, Hoefler RA, Lewis JM, Scheri R, Kelley MC, Nieweg OE, Noyes RD, Hoon DSB, Wang HJ, Elashoff DA, Elashoff RM. Completion dissection or observation for sentinel-node metastasis in melanoma. *N Engl J Med*. 2017;376(23):2211-2222.
18. Fuertes L, Santonja C, Kutzner H, Requena L. Immunohistochemistry in dermatopathology: a review of the most commonly used antibodies (part I). *Actas Dermosifiliogr*. 2013;104(2):99-127.
19. Fuertes L, Santonja C, Kutzner H, Requena L. Immunohistochemistry in dermatopathology: a review of the most commonly used antibodies (part II). *Actas Dermosifiliogr*. 2013;104(3):181-203.
20. Galochkina T, Ng Fuk Chong M, Challali L, Abbar S, Etchebest C. New insights into GluT1 mechanics during glucose transfer. *Sci Rep*. 2019;9(1):998.
21. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, Tosolini M, Camus M, Berger A, Wind P, Zinzindohoué F, Bruneval P, Cugnenc PH, Trajanoski Z, Fridman WH, Pagès F. Type, density,

- and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 2006;313(5795):1960-4.
22. Galon J, Mlecnik B, Bindea G, Angell HK, Berger A, Lagorce C, Lugli A, Zlobec I, Hartmann A, Bifulco C, Nagtegaal ID, Palmqvist R, Masucci GV, Botti G, Tatangelo F, Delrio P, Maio M, Laghi L, Grizzi F, Asslaber M, D'Arrigo C, Vidal-Vanaclocha F, Zavadova E, Chouchane L, Ohashi PS, Hafezi-Bakhtiari S, Wouters BG, Roehrl M, Nguyen L, Kawakami Y, Hazama S, Okuno K, Ogino S, Gibbs P, Waring P, Sato N, Torigoe T, Itoh K, Patel PS, Shukla SN, Wang Y, Kopetz S, Sinicrope FA, Scripcariu V, Ascierto PA, Marincola FM, Fox BA, Pagès F. Towards the introduction of the 'Immunoscore' in the classification of malignant tumours. *J Pathol*. 2014;232(2):199-209.
  23. Graham C, Hewitson R, Pagliuca A, Benjamin R. Cancer immunotherapy with CAR-T cells - behold the future. *Clin Med (Lond)*. 2018;18(4):324-328.
  24. Hamilton KL, Robert K. Crane-Na(+)-glucose cotransporter to cure? *Front Physiol*. 2013;4:53.
  25. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, Christie M, van de Vijver K, Estrada MV, Gonzalez-Ericsson PI, Sanders M, Solomon B, Solinas C, Van den Eynden GGGM, Allory Y, Preusser M, Hainfellner J, Pruneri G, Vingiani A, Demaria S, Symmans F, Nuciforo P, Comerma L, Thompson EA, Lakhani S, Kim SR, Schnitt S, Colpaert C, Sotiriou C, Scherer SJ, Ignatiadis M, Badve S, Pierce RH, Viale G, Sirtaine N, Penault-Llorca F, Sugie T, Fineberg S, Paik S, Srinivasan A, Richardson A, Wang Y, Chmielik E, Brock J, Johnson DB, Balko J, Wienert S, Bossuyt V, Michiels S, Ternes N, Burchardi N, Luen SJ, Savas P, Klauschen F, Watson PH, Nelson BH, Criscitiello C, O'Toole S, Larsimont D, de Wind R, Curigliano G, André F, Lacroix-Triki M, van de Vijver M, Rojo F, Floris G, Bedri S, Sparano J, Rimm D, Nielsen T, Kos Z, Hewitt S, Singh B, Farshid G, Loibl S, Allison KH, Tung N, Adams S, Willard-Gallo K, Horlings HM, Gandhi L, Moreira A, Hirsch F, Dieci MV, Urbanowicz M, Brcic I, Korski K, Gaire F, Koeppen H, Lo A, Giltnane J, Rebelatto MC, Steele KE, Zha J, Emancipator K, Juco JW, Denkert C, Reis-Filho J, Loi S, Fox SB. Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors: A practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 1: Assessing the host immune response, TILs in invasive breast carcinoma and ductal carcinoma in situ, metastatic tumor deposits and areas for further research. *Adv Anat Pathol*. 2017;24(5):235-251.
  26. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, Christie M, van de Vijver K, Estrada MV, Gonzalez-Ericsson PI, Sanders M, Solomon B, Solinas C, Van den Eynden GGGM, Allory Y, Preusser M, Hainfellner J, Pruneri G, Vingiani A, Demaria S, Symmans F, Nuciforo P, Comerma L, Thompson EA, Lakhani S, Kim SR, Schnitt S, Colpaert C, Sotiriou C, Scherer SJ, Ignatiadis M, Badve S, Pierce RH, Viale G, Sirtaine N, Penault-Llorca F, Sugie T, Fineberg S, Paik S, Srinivasan A, Richardson A, Wang Y, Chmielik E, Brock J, Johnson DB, Balko J, Wienert S, Bossuyt V, Michiels S, Ternes N, Burchardi N, Luen SJ, Savas P, Klauschen F, Watson PH, Nelson BH, Criscitiello C, O'Toole S, Larsimont D, de Wind R, Curigliano G, André F, Lacroix-Triki M, van de Vijver M, Rojo F, Floris G, Bedri S, Sparano J, Rimm D, Nielsen T, Kos Z, Hewitt S, Singh B, Farshid G, Loibl S, Allison KH, Tung N, Adams S, Willard-Gallo K, Horlings HM, Gandhi L, Moreira A, Hirsch F, Dieci MV, Urbanowicz M, Brcic I, Korski K, Gaire F, Koeppen H, Lo A, Giltnane J, Rebelatto MC, Steele KE, Zha J, Emancipator K, Juco JW, Denkert C, Reis-Filho J, Loi S, Fox SB. Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors: A practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in melanoma, gastrointestinal tract carcinomas, non-small cell lung carcinoma and mesothelioma, endometrial and ovarian carcinomas, squamous cell carcinoma of the head and neck, genitourinary carcinomas, and primary brain tumors. *Adv Anat Pathol*. 2017;24(6):311-335.
  27. Hoek KS, Eichhoff OM, Schlegel NC, Döbbeling U, Kobert N, Schaerer L, Hemmi S, Dummer R. In vivo switching of human melanoma cells between proliferative and invasive states. *Cancer Res*. 2008;68(3):650-6.
  28. Jungbluth AA, Busam KJ, Gerald WL, Stockert E, Coplan KA, Iversen K, MacGregor DP, Old LJ, Chen YT. A103: An anti-melan-a monoclonal antibody for the detection of malignant melanoma in paraffin-embedded tissues. *Am J Surg Pathol*. 1998;22(5):595-602.
  29. Koh SS, Cassarino DS. Immunohistochemical expression of p16 in melanocytic lesions: An updated review and meta-analysis. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(7):815-828.
  30. Kos Z, Roblin E, Kim RS, Michiels S, Gallas BD, Chen W, van de Vijver KK, Goel S, Adams S, Demaria S, Viale G, Nielsen TO, Badve SS, Symmans WF, Sotiriou C, Rimm DL, Hewitt S, Denkert C, Loibl S, Luen SJ, Bartlett JMS, Savas P, Pruneri G, Dillon DA, Cheang MCU, Tutt A, Hall JA, Kok M, Horlings HM, Madabhushi A, van der Laak J, Ciompi F, Laenholm AV, Bellolio E, Grusosso T, Fox SB, Araya JC, Floris G, Hudeček J, Voorwerk L, Beck AH, Kerner J, Larsimont D, Declercq S, Van den Eynden G, Pusztai L, Ehinger A, Yang W, AbdulJabbar K, Yuan Y, Singh R, Hiley C, Bakir MA, Lazar AJ, Naber S, Wienert S, Castillo M, Curigliano G, Dieci MV, André F, Swanton C, Reis-Filho J, Sparano J, Balslev E, Chen IC, Stovgaard EIS, Pogue-Geile K, Blenman KRM, Penault-Llorca F, Schnitt S, Lakhani SR, Vincent-Salomon A, Rojo F, Braybrooke JP, Hanna MG, Soler-Monsó MT, Bethmann D, Castaneda CA, Willard-Gallo K, Sharma A, Lien HC, Fineberg S, Thagaard J, Comerma L, Gonzalez-Ericsson P, Brogi E, Loi S, Saltz J, Klauschen F,

- Cooper L, Amgad M, Moore DA, Salgado R; International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. Pitfalls in assessing stromal tumor infiltrating lymphocytes (sTILs) in breast cancer. *NPJ Breast Cancer*. 2020;6:17.
31. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Rutkowski P, Lao CD, Cowey CL, Schadendorf D, Wagstaff J, Dummer R, Ferrucci PF, Smylie M, Hogg D, Hill A, Márquez-Rodas I, Haanen J, Guidoboni M, Maio M, Schöffski P, Carlino MS, Lebbé C, McArthur G, Ascierto PA, Daniels GA, Long GV, Bastholt L, Rizzo JI, Balogh A, Moshyk A, Hodi FS, Wolchok JD. Five-year survival with combined nivolumab and ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med*. 2019;381(16):1535-1546.
  32. Lee JH, Gulec SA, Kyshtoobayeva A, Sim MS, Morton DL. Biological factors, tumor growth kinetics, and survival after metastasectomy for pulmonary melanoma. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(10):2834-9.
  33. Lezcano C, Jungbluth AA, Nehal KS, Hollmann TJ, Busam KJ. PRAME expression in melanocytic tumors. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(11):1456-1465.
  34. Luo S, Sepehr A, Tsao H. Spitz nevi and other spitzoid lesions part I. Background and diagnoses. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(6):1073-84.
  35. Ma Y, Wang Q, Dong Q, Zhan L, Zhang J. How to differentiate pseudoprogression from true progression in cancer patients treated with immunotherapy. *Am J Cancer Res*. 2019;9(8):1546-1553.
  36. Mahipal A, Tijani L, Chan K, Laudadio M, Mastrangelo MJ, Sato T. A pilot study of sunitinib malate in patients with metastatic uveal melanoma. *Melanoma Res*. 2012;22(6):440-6.
  37. Maio M, Danielli R, Chiarion-Sileni V, Pigozzo J, Parmiani G, Ridolfi R, De Rosa F, Del Vecchio M, Di Guardo L, Queirolo P, Picasso V, Marchetti P, De Galitiis F, Mandalà M, Guida M, Simeone E, Ascierto PA. Efficacy and safety of ipilimumab in patients with pre-treated, uveal melanoma. *Ann Oncol*. 2013;24(11):2911-5.
  38. Martin RC 2nd, Scoggins CR, Ross MI, Reintgen DS, Noyes RD, Edwards MJ, McMasters KM. Is incisional biopsy of melanoma harmful? *Am J Surg*. 2005;190(6):913-7.
  39. Miettinen M, Fernandez M, Franssila K, Gatalica Z, Lasota J, Sarlomo-Rikala M. Microphthalmia transcription factor in the immunohistochemical diagnosis of metastatic melanoma: comparison with four other melanoma markers. *Am J Surg Pathol*. 2001;25:205-211.
  40. Mihic-Probst D, Ikenberg K, Tinguely M, Schraml P, Behnke S, Seifert B, Civenni G, Sommer L, Moch H, Dummer R. Tumor cell plasticity and angiogenesis in human melanomas. *PLoS One*. 2012;7(3):e33571.
  41. Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, Biernat W, Czapiewski P, Kopeczynski J, Thompson LD, Lasota J, Wang Z, Fetsch JF. Sox10--a marker for not only schwannian and melanocytic neoplasms but also myoepithelial cell tumors of soft tissue: a systematic analysis of 5134 tumors. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(6):826-35.
  42. Mocellin S, Lens MB, Pasquali S, Pilati P, Chiarion Sileni V. Interferon alpha for the adjuvant treatment of cutaneous melanoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;(6):CD008955.
  43. Mooy CM, Jong PTVM. Prognostic parameters in uveal melanoma: a review. *Surv Ophthalmol*. 1996;41(3):215-228.
  44. Muñoz-Couselo E, Adelantado EZ, Ortiz C, García JS, Perez-Garcia J. NRAS-mutant melanoma: current challenges and future prospect. *Onco Targets Ther*. 2017;10:3941-3947.
  45. Muntyanu A, Savin E, Ghazawi FM, Alakel A, Zubarev A, Litvinov IV. Geographic variations in cutaneous melanoma distribution in the Russian federation. *Dermatology*. 2020;236(6):500-507.
  46. Navale AM, Paranjape AN. Glucose transporters: physiological and pathological roles. *Biophys Rev*. 2016;8(1):5-9.
  47. Nedelcu RI, Zurac SA, Brînzea A, Cioplea MD, Turcu G, Popescu R, Popescu CM, Ion DA. Morphological features of melanocytic tumors with depigmented halo: review of the literature and personal results. *Rom J Morphol Embryol*. 2015;56(2 Suppl):659-63.
  48. Nemejcova K, Rosmusova J, Bartu M, Dura M, Ticha I, Dundr P. Expression of Glut-1 in normal endometrium and endometrial lesions. *Int J Surg Pathol*. 2017;25:389-396.
  49. Pardridge WM, Boado RJ, Farrell CR. Brain-type glucose transporter (GLUT-1) is selectively localized to the blood-brain barrier. Studies with quantitative western blotting and in situ hybridization. *J Biol Chem*. 1990;265:18035-18040.
  50. Parente P, Coli A, Massi G, Mangoni A, Fabrizi MM, Bigotti G. Immunohistochemical expression of the glucose transporters Glut-1 and Glut-3 in human malignant melanomas and benign melanocytic lesions. *J Exp Clin Cancer Res*. 2008;27-34.
  51. Park CK, Kim SK. Clinicopathological significance of intratumoral and peritumoral lymphocytes and lymphocyte score based on the histologic subtypes of cutaneous melanoma. *Oncotarget*. 2017;8(9):14759-14769.
  52. Park SG, Lee JH, Lee WA, Han KM. Biologic correlation between glucose transporters, hexokinase-II, Ki-67 and FDG uptake in malignant melanoma. *Nucl Med Biol*. 2012;39(8):1167-72.

53. Pisacane AM, Picciotto F, Risio M. CD31 and CD34 expression as immunohistochemical markers of endothelial transdifferentiation in human cutaneous melanoma. *Cell Oncol.* 2007;29(1):59-66.
54. Pock L. Atypické melanocytární léze. *Čes-slov Derm.* 2013;88(3):107-122.
55. Puzanov I, Diab A, Abdallah K, Bingham CO 3rd, Brogdon C, Dadu R, Hamad L, Kim S, Lacouture ME, LeBoeuf NR, Lenihan D, Onofrei C, Shannon V, Sharma R, Silk AW, Skondra D, Suarez-Almazor ME, Wang Y, Wiley K, Kaufman HL, Ernstoff MS; Society for Immunotherapy of Cancer Toxicity Management Working Group. Managing toxicities associated with immune checkpoint inhibitors: consensus recommendations from the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) Toxicity Management Working Group. *J Immunother Cancer.* 2017;5(1):95.
56. Requena C, Botella-Estrada R, Traves V, Nagore E, Almenar S, Guillén C. Problems in defining melanoma regression and prognostic implication. *Actas Dermosifiliogr.* 2009;100(9):759-66.
57. Romano RC, Carter JM, Folpe AL. Aberrant intermediate filament and synaptophysin expression is a frequent event in malignant melanoma: an immunohistochemical study of 73 cases. *Mod Pathol.* 2015;28(8):1033-42.
58. Saldanha G, Flatman K, Teo KW, Bamford M. A novel numerical scoring system for melanoma tumor-infiltrating lymphocytes has better prognostic value than standard scoring. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(7):906-914.
59. Schwartz LH, Litière S, de Vries E, Ford R, Gwyther S, Mandrekar S, Shankar L, Bogaerts J, Chen A, Dancy J, Hayes W, Hodi FS, Hoekstra OS, Huang EP, Lin N, Liu Y, Therasse P, Wolchok JD, Seymour L. RECIST 1.1-Update and clarification: From the RECIST committee. *Eur J Cancer.* 2016;62:132-7.
60. Silva Filho TJ, Oliveira DHIP, Moura IS, Medeiros LKS, Gonzaga, AKG, Brasil VLM, Queiroz LMG. Importance of GLUT1 in differential diagnosis of vascular anomalies. *Jornal Vascular Brasileiro.* 2015;14(2):168-176.
61. Sladden MJ, Nieweg OE, Howle J, Coventry BJ, Thompson JF. Updated evidence-based clinical practice guidelines for the diagnosis and management of melanoma: definitive excision margins for primary cutaneous melanoma. *Med J Aust.* 2018;208(3):137-142.
62. Slominski A, Kim TK, Brożyna AA, Janjetovic Z, Brooks DL, Schwab LP, Skobowiat C, Józwicki W, Seagroves TN. The role of melanogenesis in regulation of melanoma behavior: melanogenesis leads to stimulation of HIF-1 $\alpha$  expression and HIF-dependent attendant pathways. *Arch Biochem Biophys.* 2014;563:79-93.
63. Su J, Gao T, Jiang M, Wu L, Zeng W, Zhao S, Peng C, Chen X. CD147 silencing inhibits tumor growth by suppressing glucose transport in melanoma. *Oncotarget.* 2016;7(40):64778-64784.
64. Thomas D, Bello DM. Adjuvant immunotherapy for melanoma. *J Surg Oncol.* 2021;123:789– 797.
65. Thomas NE, Edmiston SN, Tsai YS, Parker JS, Gooze PB, Busam KJ, Scott GA, Zedek DC, Parrish EA, Hao H, Slater NA, Pearlstein MV, Frank JS, Kuan PF, Ollila DW, Conway K. Utility of TERT promoter mutations for cutaneous primary melanoma diagnosis. *Am J Dermatopathol.* 2019;41(4):264-272.
66. Toscano de Mendonça UB, Cernea CR, Matos LL, Monteiro de Araujo Lima RR. Analysis of KIT gene mutations in patients with melanoma of the head and neck mucosa: a retrospective clinical report. *Oncotarget.* 2018;9(33):22886-22894.
67. Trautmann F, Meier F, Seidler A, Schmitt J. Effects of the German skin cancer screening programme on melanoma incidence and indicators of disease severity. *Br J Dermatol.* 2016;175(5):912-919.
68. van Vugt LJ, van der Vleuten CJM, Flucke U, Blokx WAM. The utility of GLUT1 as a diagnostic marker in cutaneous vascular anomalies: A review of literature and recommendations for daily practice. *Pathol Res Pract.* 2017;213(6):591-597.
69. Wachsberger PR, Gressen EL, Bhala A, Bobyock SB, Storck C, Coss RA, Berd D, Leeper DB. Variability in glucose transporter-1 levels and hexokinase activity in human melanoma. *Melanoma Res.* 2002;12(1):35-43.
70. Widmer DS, Hoek KS, Cheng PF, Eichhoff OM, Biedermann T, Raaijmakers MIG, Hemmi S, Dummer R, Levesque MP. Hypoxia contributes to melanoma heterogeneity by triggering HIF1 $\alpha$ -dependent phenotype switching. *J Invest Dermatol.* 2013;133(10):2436-2443.
71. Wiesner T, Obenaus AC, Murali R, Fried I, Griewank KG, Ulz P, Windpassinger C, Wackernagel W, Loy S, Wolf I, Viale A, Lash AE, Pirun M, Socci ND, Rütten A, Palmedo G, Abramson D, Offit K, Ott A, Becker JC, Cerroni L, Kutzner H, Bastian BC, Speicher MR. Germline mutations in BAP1 predispose to melanocytic tumors. *Nat Genet.* 2011;43(10):1018-21.
72. von Wolff M, Ursel S, Hahn U, Steldinger R, Strowitzki T. Glucose transporter proteins (GLUT) in human endometrium: expression, regulation, and function throughout the menstrual cycle and in early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(8):3885-92.
73. Yamaguchi U, Hasegawa T, Hirose T, Fugo K, Mitsushashi T, Shimizu M, Kawai A, Ito Y, Chuman H, Beppu Y. Sclerosing perineurioma: a clinicopathological study of five cases and diagnostic utility of immunohistochemical staining for GLUT1. *Virchows Arch.* 2003;443(2):159-63.
74. Yilmaz M, Akovali B. Hyperprogression after nivolumab for melanoma: A case report. *J Oncol Pharm Pract.* 2020;26(1):244-251.

75. Zembowicz A, Carney JA, Mihm MC. Pigmented epithelioid melanocytoma: a low-grade melanocytic tumor with metastatic potential indistinguishable from animal-type melanoma and epithelioid blue nevus. *Am J Surg Pathol.* 2004;28(1):31-40.
76. Zembowicz A, Phadke PA. Blue nevi and variants: an update. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(3):327-36.

## 7.2. *Knihy*

1. Calonje E, Brenn T, Lazar AJ, Billings SD. *McKee's Pathology of the Skin.* 5th Edition. Amsterdam: Elsevier/Saunders, 2019, 2 vol., 1980 p. ISBN 978-0-7020-6983-3.
2. Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications.* 5th Edition. Philadelphia: Elsevier – Health Sciences Division, 2018, 944 p. ISBN 978-03-234-7732-1.
3. Elder DE, Massi D, Scolyer RA, Willemze R. *WHO Classification of Skin Tumours.* 4th Edition. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2018, 469 p. ISBN 978-92-832-2440-2.
4. Hosler GA. *Diagnostic Dermatopathology: A Guide to Ancillary Tests Beyond the H&E.* JP Medical Ltd, 2016, 276 p. ISBN 978-19-098-3612-9.
5. Krajsová I, Bauer J. *Melanom – imunoterapie a cílená léčba.* 1. vydání. Praha: Maxdorf, 2017, 382 s. ISBN 978-80-7345-515-6.
6. Massi G, LeBoit PE. *Histological Diagnosis of Nevi and Melanoma.* 2nd Edition. Berlin Heidelberg: Springer, 2016, 752 p. ISBN 978-3-6625-0015-6.
7. Patterson JW. *Weedon's Skin Pathology.* 4th Edition. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2015, 1262 p. ISBN 978-0-7020-5183-8.
8. Matthews NH, Li WQ, Qureshi AA, Weinstock MA, Cho E. Epidemiology of Melanoma. In: Ward WH, Farma JM, editors. *Cutaneous Melanoma: Etiology and Therapy* [Internet]. Brisbane: Codon Publications, 2017. Chapter 1. PMID: 29461782.

## 7.3. *Internetové zdroje*

<https://www.cancerstaging.org/>

<https://www.eado.org/>

<https://svod.cz/>

<https://www.themillerlab.io/>

## 8. Seznam publikací doktoranda

### 8.1. Publikace s IF, které jsou podkladem disertace

Důra M, Němejcová K, Jakša R, Bártů M, Kodet O, Tichá I, Michálková R, Dundr P. Expression of Glut-1 in malignant melanoma and melanocytic nevi: an immunohistochemical study of 400 cases. *Pathol Oncol Res.* 2019;25(1):361-368. **IF – 2,701**

Němejcová K, Tichá I, Bártů M, Kodet O, Důra M, Jakša R, Michálková R, Dundr P. Comparison of five different scoring methods in the evaluation of inflammatory infiltration (tumor-infiltrating lymphocytes) in superficial spreading and nodular melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2019;32(3):412-423. **IF – 3,704**

### 8.2. Publikace s IF bez vztahu k tématu disertace

Němejcová K, Rosmusová J, Bártů M, Důra M, Tichá I, Dundr P. Expression of Glut-1 in normal endometrium and endometrial lesions: Analysis of 336 cases. *Int J Surg Pathol.* 2017;25(5):389-396. **IF – 0,927**

Tichá I, Hojný J, Michálková R, Kodet O, Krkavcová E, Hájková N, Němejcová K, Bártů M, Jakša R, Důra M, Kanwal M, Martinikova AS, Macurek L, Zemánková P, Kleibl Z, Dundr P. A comprehensive evaluation of pathogenic mutations in primary cutaneous melanomas, including the identification of novel loss-of-function variants. *Sci Rep.* 2019;9(1):17050. **IF – 3,998**

### 8.3. Publikace bez IF bez vztahu k tématu disertace

1. Důra M, Krajsová I, Štork J, Kodet O. Puchýře a eroze na rukou. *Čes-slov Derm.* 2016;91(2):76-78.
2. Plzánková Z, Důra M, Dundr P, Štork J. Kongenitální forma dermatofibrosarcoma protuberans. *Čes-slov Derm.* 2016;91(1):18-21.
3. Důra M, Kodet O, Šlajsová M, Štork J. Sweetův syndrom při myelodysplastickém syndromu – popis případu. *Čes-slov Derm.* 2017;92(3):128-131.

4. Kodet O, Důra M, Šlajsová M, Štork J. Recidivující noduly na bércei. Čes-slov Derm. 2017;92(2):73-76.
5. Kučera J, Důra M, Petráčková M, Štork J. Klinický případ: „Eroze“ na dlani. Čes-slov Derm. 2017;92(6):280-282.
6. Štork J, Důra M, Petráčková M, Kojanová M. Prurigo pigmentosa – popis případu. Čes-slov Derm. 2018;93(3):102-106.
7. Důra M, Štork J. Biopsie v dermatologii. Čes-slov Derm. 2018;93(4):127-134.
8. Mináriková M, Důra M, Šlajsová M, Štork J. Papulonekrotický tuberkulid – popis případu. Čes-slov Derm. 2018;93(4):141-145.
9. Důra M, Lacina L, Kodet O, Horažďovský J, Štork J. Lupus miliaris disseminatus faciei. Čes-slov Derm. 2018;93(5):181-184.
10. Důra M, Polášková S, Petráčková M, Štork J. Shluk žlutavých papul u kojence. Stručný přehled. Čes-slov Derm. 2018;93(6):272-275.
11. Důra M. S kytarou a na fotbal. Onkol Revue. 2019;6(2):30-31.
12. Důra M, Plzáková Z, Polášková S, Šlajsová M, Štork J. Vrozené makulózní ložisko u kojence. Stručný přehled. Čes-slov Derm. 2019;94(2):68-70.
13. Kuklová I, Benáková N, Důra M. Co je v posledním období nového v dermatologii. Medicína po promoci. 2019;20(3):187-190. ISSN: 1212-9445.
14. Důra M, Petráčková M, Štork J. Klinický případ: Krvácející nodule na zádech. Stručný přehled. Čes-slov Derm. 2019;94(4):170-171.
15. Vojnarovičová K, Důra M, Šlajsová M, Štork J. Průsvitná papula na prstu nohy. Stručný přehled. Čes-slov Derm. 2019;94(5):210-212.
16. Důra M. Kožní toxicita imunoterapie. Onkol Revue. 2020;7(2):24-28.
17. Důra M, Šlajsová M, Štork J. Červené makulopapuly na levé straně krku. Čes-slov Derm. 2020;95(1):24-26.
18. Důra M. Kožní nežádoucí účinky protinádorové léčby. Onkologie. 2020;14(Suppl. C):30-34.
19. Důra M, Štork J. Darierova choroba: současný pohled. Část I. Čes-slov Derm. 2020;95(2):43-56.
20. Důra M, Šlajsová M, Štork J. Mnohočetné kožní noduly. Stručný přehled. Čes-slov Derm. 2020;95(2):80-82.
21. Důra M, Štork J. Darierova choroba: současný pohled. Část II. Čes-slov Derm. 2020;95(3):87-98.

22. Císařová K, Důra M, Havlínová A, Petráčková M, Štork J. Lokalizované edémy bérců. Čes-slov Derm. 2020;95(3):116-118.
23. Důra M, Petráčková M, Krajsová I, Štork J. Solitární ložisko na skrotu. Stručný přehled. Čes-slov Derm. 2020;95(5):154-156.
24. Důra M. Kožní komplikace u onkologických pacientů. Onkologie. 2021;15(1):25-29.
25. Důra M, Pánková R, Štork J. Ložisková alopecie s exkoriacemi. Stručný přehled. Čes-slov Derm, 96, 2021, No. 1, p. 23–25.
26. Důra M. Atypická melanocytární léze. In: Krajsová I. et al. Kazuistiky z dermatologických a dermatoonkologických ordinací. 1. vydání. Praha: Current Media, 2018, 300 s. ISBN 978-80-88129-32-5.
27. Důra M. Papuly obličeje a axil – případ motorkářky. In: Krajsová I. et al. Kazuistiky z dermatologických a dermatoonkologických ordinací. 1. vydání. Praha: Current Media, 2018, 300 s. ISBN 978-80-88129-32-5.
28. Důra M. Darierova choroba. In: Benáková N. et al. Moderní farmakoterapie v dermatologii. 1. vydání. Praha: Maxdorf, 2020, 664 s. ISBN 978-80-7345-653-5.
29. Důra M. Současné možnosti nechirurgické terapie melanomu v praxi. Dermatologie pro praxi – *přijato do tisku*
30. Důra M, Kodet O, Petráčková M, Štork J. Mnohočetné drsné papuly s pozitivním Auspitzovým fenoménem. Čes-slov Derm – *přijato do tisku*
31. Důra M, Štork J, Plzáková Z, Kodet O. Pustuly a krusty ve kštici. Čes-slov Derm – *přijato do tisku*
32. Šmejkalová D, Důra M, Rosmusová J, Štork J. Asymetrické zbytnění mamily. Čes-slov Derm – *přijato do tisku*
33. Kuklová I, Kojanová M, Důra M, Záveská H, Pánková R, Kreidlová M, Šmajš D, Vrbová E. Porovnání hospitalizačních záznamů pacientů se syfilis z let 2007-2009 a 2017-2019. Čes-slov Derm – *přijato do tisku*