

## Izolirana ekstremitetna perfuzija

Isolated limb perfusion

Sandra Kuhar,<sup>1</sup> Marko Hočevar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Splošna bolnišnica  
Murska Sobota

<sup>2</sup> Onkološki Inštitut  
Ljubljana

### Korespondenca/ Correspondence:

Sandra Kuhar,  
e: kuhar.sandra@gmail.  
com

### Ključne besede:

izolirana ekstremitetna  
perfuzija; maligni  
melanom; sarkomi  
mehkih tkiv; citotoksična  
zdravila; hipertermija

### Key words:

isolated limb perfusion;  
melanoma; soft tissue  
sarcomas; cytotoxic  
agents; hyperthermia

### Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2016;  
85: 33–40

Prispelo: 20. maj 2015,  
Sprejeto: 23. nov. 2015

### Izveček

Izolirana ekstremitetna perfuzija je kirurški poseg, s katerim lahko zdravimo napredovali maligni melanom in sarkome mehkih tkiv. Metoda je na mestu pri napredovanih melanomih in sarkomih mehkih tkiv, ki so omejeni na en ud. S perfuzijo prizadetega uda s citotoksičnimi zdravili se je možno izogniti amputaciji in mutilirajočim operacijam. Ker je poseg omejen na en ud, je mogoče v tkivo infundirati veliko višje odmerke zdravil.

Kot zdravilo se v glavnem uporabljata melfalan in tumor nekrotizirajoči faktor alfa. Učinkovita se je izkazala tudi sočasna hipertermija prizadetega uda.

Pri malignem melanomu se je metoda izkazala kot uspešna pri 87,5 % bolnikov, pri sarkomih pa je bila uspešnost 75 %.

Onkološki inštitut v Ljubljani je ena od 46 bolnišnic na svetu, kjer se ta poseg izvaja.

### Abstract

Isolated limb perfusion is a surgical procedure that can be used to treat an advanced malignant melanoma and soft tissue sarcomas. The method is indicated for advanced melanoma and soft tissue sarcomas that are limited to one limb. By perfusion of the affected limb with cytotoxic agents it is possible to avoid amputation and mutilating operations. Since the procedure is isolated to a limb, it can be perfused with much higher doses of cytotoxic drugs.

Commonly used cytotoxic drugs include melphalan and tumor necrosis factor alpha. Simultaneous hyperthermia of the affected limb also proved to be efficient.

In the case of malignant melanoma, the method has proven successful in 87.5 % of patients, whereas in the case of sarcomas the effectiveness was 75 %.

The Institute of Oncology in Ljubljana is one of 46 hospitals in the world where the procedure is being performed.

---

## Uvod

Leta 1958 je Creech s kolegi predstavil novo metodo zdravljenja napredovalega raka, omejenega na ude, imenovano izolirana ekstremitetna perfuzija (*angl.* Isolated Limb Perfusion, ILP).<sup>1</sup> Pri tej tehniki so se velike žile na udih izolirale začasno perfuzijo uda z velikimi odmerki kemoterapevtikov. Na ta način bi lahko uporabili višje odmerke kemoterapevtikov z minimalno sistemsko izpostavljenostjo in zato manj stranskimi učinki. Z ugotovitvijo, da ima povišana telesna temperatura protitumorsko aktivnost, je Stehlin leta 1969 tehniki dodal hipertermijo.<sup>2</sup>

Odgovor na zdravljenje pri bolnikih z metastatskim melanomom, zdravljenih z ILP, je boljši kot pri katerem koli drugem zdravljenju. 25 % bolnikov, ki popolno odgovorijo na zdravljenje, je po 10-letih živih brez bolezni, kar je spodbudilo uporabo ILP, ki je zato postala splošno razpoznavno standardno zdravljenje napredovalega melanoma na udih.<sup>3</sup>

## Indikacije

V glavnem uporabljamo ILP pri malignem melanomu in sarkomih mehkih tkiv, omejenih na ude.

## Maligni melanom

V zadnjih dvajsetih letih incidenca narašča s podvojitvijo vsakih 6–10 let, vzporedno z njo pa tudi umrljivost. V Sloveniji incidenca po spolu narašča, pri ženskah nekoliko bolj.

Zdravljenje primarnega melanoma je kirurško: izrez celotne spremembe z varnostnim robom, ki je odvisen od debeline melanoma. Vsaj 25 % bolnikov z melanomom debeline 1–4 mm ima mikrozasevke že ob postavitvi primarne diagnoze. Odkritje le-teh nam omogoča biopsija varovalne bezgavke. Bolniki s sistemsko razširjenim melanomom ima-

jo slabo napoved izida. Standardno zdravljenje s kemoterapijo privede do popolnega odgovora pri manj kot 5 % bolnikov in delne odgovore pri 25 % bolnikov.<sup>4–6</sup>

## Sarkomi mehkih tkiv

Sarkomi mehkih tkiv (SMT) so redki in predstavljajo manj kot 1 % vseh rakov. SMT so nekoliko pogostejši pri moških kot pri ženskah. Pojavijo se lahko v kateri koli starosti, najpogosteje pa so prizadeti otroci in mlajši odrasli. Najpogostejše mesto, na katerem se pojavijo, je spodnji ud – tu zraste več kot 40 % vseh SMT. Sledijo mehka tkiva trupa in retroperitoneja, zgornji udi in področje glave in vratu. Velikost SMT je tesno povezana s prognozo – čim večji je tumor, tem večja je možnost, da bo recidiviral, metastaziral in povzročil smrt bolnika. Meja, ki jo običajno uporabljamo za ločevanje med velikimi in majhnimi tumorji, je 5 cm.<sup>7</sup>

Zdravljenje je kirurško, kar pomeni pri velikih tumorjih na udih amputacijo ali mutilirajočo operacijo, ki zmanjša funkcijo uda. ILP predstavlja možnost ohranitve tako uda kot njegove funkcije in s tem omogoča boljšo kakovost življenja.<sup>8,9</sup>

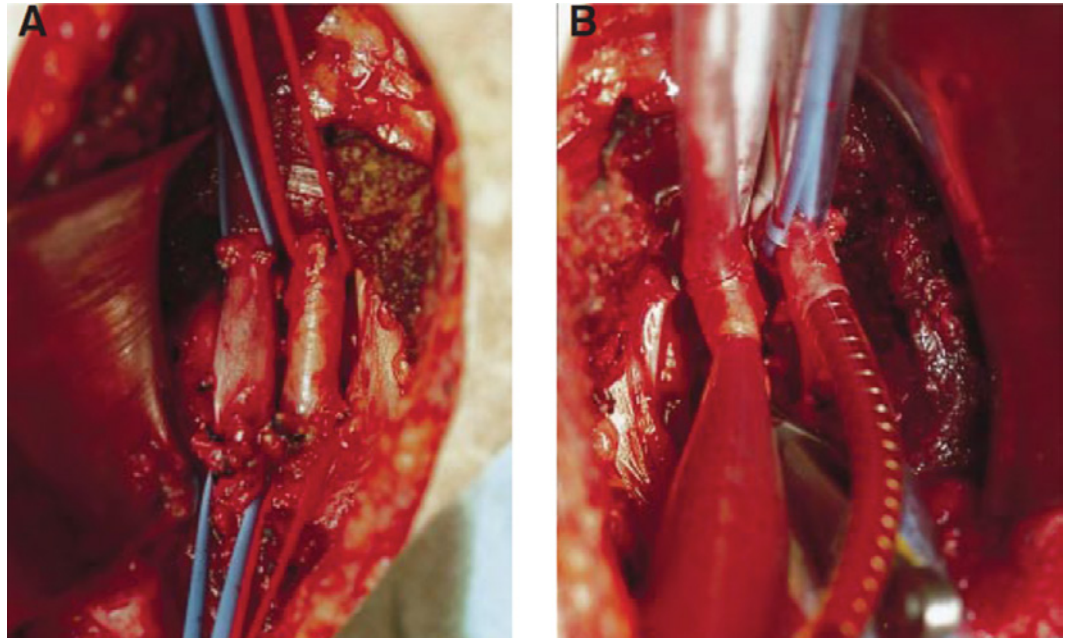
## Bolniki in metode

### Priprava

Bolniki, ki so kandidati za ILP, morajo biti skrbno ovrednoteni. Tumor se mora v celoti nahajati na določenem ud (roka ali noga), kajti dimlje, pazduhe, proksimalni del stegna, zadnjica in zgornji del roke niso v polju perfuzije in zato ILP ne bo učinkovita.

Ulcerirani ali okuženi tumorji pomenijo tveganje za sepsa. Pozorni moramo biti na pridružene bolezni. Bolniki z več boleznimi ponavadi ne pridejo v poštev za ILP. Prav tako moramo biti pozorni

**Slika 1:** Izolirane iliakalne žile z uvedenima kanilama.



na globoko vensko trombozo in stanje perifernega živčnega sistema.

Izmeriti ali izračunati moramo volumen okončine, glede na njega doziramo zdravila pri ILP.

### Izbira postopka

ILP je lahko izveden na več mestih. Za spodnji ud lahko uporabimo zunanje iliakalne, femoralne ali poplitealne žile; za zgornji ud brahialne, aksilarne ali subklavijske žile.

Ker ima večina bolnikov melanom spodnjega uda, so za ILP najpogosteje izbrane zunanje iliakalne žile (Slika 1). Za bolnike z mehkotkivnimi sarkomi lahko uporabimo bolj distalni pristop, ki je v neposredni bližini tumorja. Perfuzija po brahialni ali poplitealni žili je enostavnejša. Čeprav je njun premer manjši, pa je dostop do teh žil lažji z manj disekcije, prilagoditev zažemka pa omogoča manjše uhajanje iz izoliranega uda v sistemski obtok.

### Kirurgija

ILP je velika operacija, opravljena pod sistemsko anestezijo. Glede na to,

da je potrebno heparinizirati celotno telo, epiduralna in regionalna anestezija zaradi nevarnosti hematoma nista priporočljivi.

Med operacijo se v ud vstavijo štiri temperaturne sonde; dve v podkožje in dve v mišice, distalno in proksimalno od tumorja. Ud je ovit v ogrevalno odejo in prekrit s sterilnim pokrivalom. Koren uda prevezemo z Esmarkovo prevezo. Za distalne (poplitealne oz. brahialne) kanulacije se uporablja pnevmatska podveza.

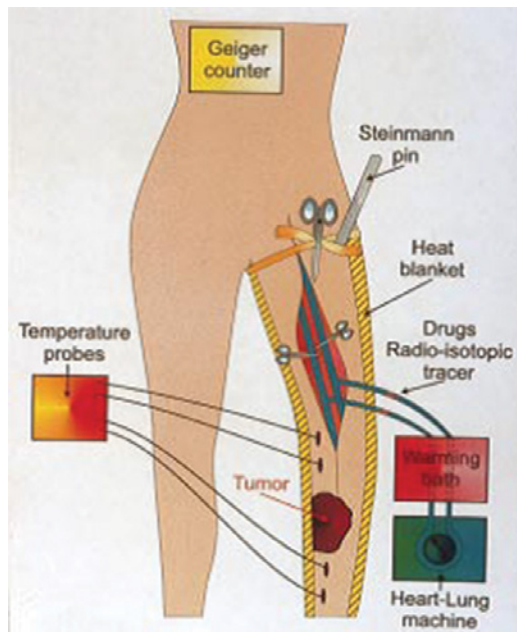
### Perfuzija udov

Izbrane žile za perfuzijo se spreparirajo v dolžini 5–10 cm. Prav tako je potrebno ligirati vse kolaterale. Na globoke kolaterale v trebuhu zunanja Esmarkova podveza ne vpliva, zato je nadzor nad njimi zelo pomemben, da ne bi prišlo do uhajanja zdravil.

### Zunajtelesni obtok

Zunajtelesni sistem sestoji iz črpalke, podobne tisti, ki se uporablja za kardio-pulmonalni obvod. Potreben je toplotni izmenjevalec, ki segreje tekočino za per-

**Slika 2:** Shematski prikaz izolirane ekstremitetne perfuzije.



fuzijo na 42 °C. Sistem se napolni s 700–1000 ml elektrolitske raztopine, lahko tudi z eno enoto rdečih krvnih celic in 1500 enotami heparina. Morda lahko namesto krvi uporabimo dekstran. Pri ILP s TNF in melfalanom uporabljamo blago hipertermijo (39–40 °C), pri ILP samo z melfalanom pa uporabljamo višje temperature (41–42 °C). Vstavljene temperaturne sonde omogočajo dober nadzor nad segrevanjem uda.

Uhajanje tekočine iz izoliranega uda je odvisno od pretoka. Izkušnje z velikimi pretoki so pokazale veliko uhajanje perfuzije v sistemski obtok ( $12,5 \pm 2,9\%$ ) in zato veliko sistemsko toksičnost. Zmanjšanje pretoka na fizioloških 40–50 ml/min/l zmanjša uhajanje tekočine in sistemsko toksičnost. Na uhajanje tekočine vpliva tudi krvni tlak, ki odpira majhne kolaterale in omogoča pretok v sistemsko ožilje (večja verjetnost pri velikih pretokih).

### Spremljanje in prilagajanje uhajanja perfuzije

Bolnika med posegom kontinuirano nadzorujemo, da tekočina in s tem toksična zdravila ne bi ušla v sistemski

obtok. Monitoriranje so začeli redno izvajati, ko so ILP dodali TNF. Pri tem uporabljamo s tehnecijem označeni albumin ali eritrocite. Za zaznavanje uhajanja uporabljamo gama kamero, postavljeno nad perikordij bolnika. Na ta način zaznamo uhajanja, manjša od 1 %, kar omogoči preprečevanje sistemskih stranskih učinkov. Drugi način nadzora je spremljanje volumna venskega rezervoarja: zmanjšanje volumna kaže uhajanje tekočine v sistemski obtok, večanje volumna pa na uhajanje krvi iz sistema v ud (zažemek ni dovolj stisnjen). Sistemsko uhajanje pod 2 % je možno doseči pri skoraj 95 % bolnikov. Z izboljšavami v izolacijskih tehnikah je ILP danes varen poseg. Bolnike zdaj rutinsko 2–3 ure po posegu premestimo nazaj na oddelek, intenzivna nega pa je potrebna le izjemoma.

### Trajanje ILP

Trajanje perfuzije okončine je odvisno od uporabljenih zdravil in stabilnosti celotnega sistema med perfuzijo. V primeru, ko nimamo uhajanja, traja perfuzija od 60–90 minut (tj. 30 min za TNF in zatem 90 min za melfalan). Po tem času obtok uda prekinemo in ud izperemo z 2–3 litri fiziološke raztopine in enim litrom dekstrana ali krvi. Nato odstranimo podveze in kanile, zašijemo veno in arterijo ter ponovno vzpostavimo sistemski krvni obtok.<sup>3</sup>

### Zdravila

#### Melfalan

Je alkilirajoče zdravilo, prvotno izbrano za perfuzijo pri melanomu, ki vsebuje fenilalanin. Ker je fenilalanin esencialni prekursor v sintezi melanina, ga največ prevzamejo melanociti. Melfalan ima kratko razpolovno dobo, majhno endoteljsko toksičnost, omejeno specifičnost

za faze celičnega ciklusa in sorazmerno linearno razmerje med odmerkom in odgovorom. Optimalni odmerek je 10 mg/L za spodnji ud in 13 mg/L za zgornjega.

### Druga citotoksična zdravila

Cisplatin bi lahko bil primeren za ILP, ker se njegova koncentracija v tkivu poveča ob blagi hipertermiji. Primarna skrb pri tem se posveča regionalni toksičnosti, predvsem pa nevrotoksičnosti. Prav tako so raziskovali učinke doksorubicina, v glavnem za neresektabilne mehkoktivne sarkome, a so ugotovili, da je neučinkovit tako sam kot v kombinaciji z melfalanom. Regionalna toksičnost je bila nesprejemljiva in stopnja amputacij visoka (40 %).

### Tumor nekrotizirajoči faktor

Tumor nekrotizirajoči faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) deluje preko treh mehanizmov:

1. Neposredno toksično delovanje na patološke žile tumorja, s čimer povzroči hemoragično nekrozo tumorja. TNF poškoduje endotelijske celice le v tumorskem ožilju, te celice imajo posebne adhezijske molekule, ki jih normalno ožilje nima.
2. Neposredno citotoksično delovanje na tumorske celice.
3. Znižanje intersticijskega pritiska v tumorju.

Zaradi okvare tumorskih žil in nižjega intersticijskega pritiska v tumorju se 4- do 6-krat zviša tudi koncentracija melfalana v tumorju, kar še dodatno stopnjuje njegovo delovanje.

Problem TNF- $\alpha$  je izredna sistemska toksičnost. Pri poskusih sistemskega zdravljenja s TNF- $\alpha$  se je v kliničnih raziskavah izkazalo, da se sistemska toksičnost doseže, še preden nastane kakršen koli učinek na sam tumor. Sistemski

neželeni učinki so septični šok, koagulopatija, trombocitopenija in presnovne okvare (zvišani bilirubin in jetrni encimi, znižan holesterol). Temu sledi večorganska odpoved. Pri uporabi rTNF- $\alpha$  pri ILP se je mogoče sistemski toksičnosti izogniti. Uporabljeni odmerek pri ILP je 1–4 mg.

### Hipertermija

Dejstvo, da je toplota učinkovita proti raku in tumorski rasti, je znano že od druge polovice 19. stoletja.

Hipertermija ( $> 41^{\circ}\text{C}$ ) zmanjša pH tkiv in aerobno glikolizo. Pospeši cikel tumorskih celic in poveča delež celic v občutljivih fazah celičnega cikla S in M. Zmanjšano je popraviljanje DNK, verjetno zaradi nastajanja prostih kisikovih radikalov, ki povzročajo zlome v vijačnici DNK.

Hipertermija pospeši protitumorsko delovanje tako TNF- $\alpha$  kot melfalana.<sup>3</sup>

### Uspešnost zdravljenja

Uspešnost zdravljenja vrednotimo po merilih SZO (WHO):

- popolni odgovor na zdravljenje, ko tumor v celoti izgine,
- delni odgovor, ko se tumor zmanjša za več kot 50 %,
- brez odgovora, ko se tumor zmanjša za manj kot 50 %,
- napredovanje bolezni, ko se tumor poveča za več kot 25 % ali pa se pojavijo novi tumorji.

### Maligni melanom

Filippo in kolegi so objavili študijo ILP s TNF- $\alpha$  pri 113 bolnikih s t.i. in-transit (IT) metastazami (mikroskopski ali makroskopski tumorski infiltrati, ki so od primarnega tumorja oddaljeni več kot 2 cm)<sup>5</sup> malignega melanoma. Popolni odgovor so dosegli pri 63 % bolnikov, delni

pri 24,5 %, kar pomeni, da je bil objektivni odgovor dosežen pri 87,5 %. Pri 12,5 % bolnikov pa ni bilo učinka. Razširjenost bolezni se je pokazala kot edini napovedni dejavnik, od katerega je odvisna uspešnost zdravljenja. Pri bolnikih z bolj razširjeno boleznijo (bulky disease) je bil objektivni odgovor prisoten pri 74,1 %, pri omejeni (manj kot 10 sprememb, vsaka manjša od 2 cm) bolezni pa 89,1 %.

5-letno preživetje pri bolnikih s popolnim odgovorom je doseglo 66,9 % bolnikov, bolnikov z delnim odgovorom pa 27,1 %. Pri stadiju IIIA je 5-letno preživetje 68,6 %, pri stadiju IIIB pa 28 %.<sup>10</sup> Druge raziskave so pokazale podobne rezultate.<sup>11</sup>

Lahko povzamemo, da je zdravljenje napredovelega malignega melanoma z IT-metastazami učinkovito. Pri omejeni bolezni uporabimo samo melfalan, pri razširjeni pa dodamo še TNF- $\alpha$ .

### Sarkomi mehkih tkiv

Eggermont in kolegi so objavili študijo ILP za sarkome mehkih tkiv pri 186 bolnikih z lokalno tako napredovalimi sarkomi, da bi bila potrebna amputacija uda. Uporabili so melfalan in TNF- $\alpha$ . Odgovor na zdravljenje z ILP so zasledili pri 82 % bolnikov. Kot prikazuje tabela, je na zdravljenje klinično odgovorilo s popolnim odgovorom 18 % bolnikov, delnim 57 %, brez odgovora 22 %, pri 3 % bolnikov pa je bolezen napredovala

kljub zdravljenju. Končni rezultat je definiran kot klinični in histološki odgovor skupaj, pri histološkem odgovoru pa ugotavljamo prisotnost nekroze in vitalnih malignih celic.

Pri kontrolnem pregledu 22 mesecev po zdravljenju z ILP je 152 bolnikov ohranilo ud, od 126 bolnikov z reseciranimi tumorji so se pojavili recidivi le pri 14. Pri ostalih 60 bolnikih z multiplimi tumorji in metastazami bolezni ni napredovala pri 33 bolnikih, pri 27 so se pojavili recidivi.

Od vseh bolnikov skupaj je bila amputacija potrebna le pri 34 (18 %).<sup>9</sup>

ILP s TNF- $\alpha$  in melfalanom (TM-ILP) ponuja odlično možnost zdravljenja in lokalni nadzor nad tumorjem tudi v primerih, ko bi edino možnost ozdravitve predstavljala amputacija.

Možni zapleti so redki in se v najslabšem primeru končajo z amputacijo, ki je brez ILP že sicer edina možnost za te bolnike.

### Zapleti izolirane ekstremitetne perfuzije

Zaplete delimo na regionalne in sistemske.

#### Regionalni zapleti

Za ocenjevanje regionalne toksičnosti uporabljamo Wieberdinkovo klasifikacijo (Tabela 2). Blag edem, eritem, bolečina

**Tabela 1:** Uspešnost zdravljenja pri 186 bolnikih.

Klinični odgovor (n = 186)	Histološki odgovor (% nekroze tumorja) (n = 148)	Končni rezultat (n = 186)
33 PO (18 %)	48 PO	54 PO (29 %)
106 DO (57 %)	73 DO	99 DO (53 %)
42 BO (22 %)	27 BO	29 BO (16 %)
5 NB (3 %)		4 NB (2 %)

PO = popoln odgovor, DO = delni odgovor, BO = brez odgovora, NB = napredovanje bolezni.

in povišana temperatura uda se pogosto pojavijo po 2–3 dneh po posegu. Srednja do huda toksičnost se pojavi pri 15–30 % bolnikov. Lahko se pojavijo mehurji na koži, še posebej na dlaneh in podplatih. Hude poškodbe uda in resni edemi se pojavijo pri manj kot 10 % bolnikov. Izguba uda se zgodi redko (0,5–1,5 %). Večina zapletov se razreši v 2–3 tednih zdravljenja.

Dodatek TNF- $\alpha$  k melfalanu ne poveča regionalne toksičnosti, vendar pa moramo v teh primerih uporabiti nižjo hipertermijo (38–39 °C) kot v primerih, ko uporabimo samo melfalan (41 °C).

Ženske so izpostavljene večji toksičnosti kot moški zaradi različnega razmerja med mišicami in maščevjem. Mišice privzamejo več melfalana kot maščevje in ker jih imajo ženske manj, se v njih nabere višja koncentracija melfalana. Enako velja za ljudi z slabšo telesno kondicijo.

Nevrotoksičnost, ki se kaže s pikajočo bolečino in parestezijami, se pojavi 2–3 tedne po posegu pri 25–40 % bolnikov. Po navadi nevropatija spontano mine po nekaj mesecih. Dlje trajajoča je redkejša (1–4 %). Prav tako se lahko pojavijo vaskularni zapleti: arterijski so redki in niso odvisni od uporabljenih zdravil, incidenca tromboze na mestu arteriotomije pa je 2,5 %.

Pomembna je incidenca globoke venske tromboze, ki znaša okoli 10 %, čeprav je bolnik sistemsko hepariniziran.

Možni zapleti so povezani s hitro nekrozo tumorja, ki jo povzroča TNF. To je resna grožnja bolnikom z ulceriranimi tumorji, pri katerih lahko pride zaradi kolonizacije z bakterijami do sepse.<sup>3,12</sup>

### Sistemske zapleti

Sistemska toksičnost je povezana z uhajanjem zdravila v sistemske krvne obtok.

Melfalan povzroča depresijo kostnega mozga, izgubo las, makulopapilarne izpuščaje, pruritus in prebavne simptome. Uhajanje do 15 % ne povzroča še resne toksičnosti, je pa priporočljivo perfuzijo ustaviti, ko uhajanje preseže 10 %.

Stopnja umrljivosti zaradi zdravljenja z melfalanom je 0–9 %, večina smrti je bila zabeležena v času preizkušanja tega zdravljenja. Smrt po navadi nastopi zaradi pljučne embolije, srčne odpovedi, ledvične odpovedi ali depresije kostnega mozga.

Uhajanje TNF- $\alpha$  v sistemske obtok lahko povzroča sistemsko vnetno reakcijo z vročino in mrzlicami, hipotenzijo in akutni respiratorni distressni sindrom (ARDS).<sup>3,12</sup>

**Tabela 2:** Regionalna toksičnost.

Weiberdinkova klasifikacija	
Stopnja I	Ni reakcije
Stopnja II	Blagi eritem/edem
Stopnja III	Precejšnji eritem/edem z nekaj mehurji
Stopnja IV	Obsežna epidermoliza in/ali poškodba globljih tkiv, funkcijske motnje, možnost sindroma kompartmenta
Stopnja V	Huda reakcija z možnostjo amputacije

## Zaključek

Onkološki inštitut v Ljubljani je maja 2010 postal ena od 46 bolnišnic na svetu, ki je akreditirana za uporabo TNF. Do sedaj so opravili ILP pri 67 bolnikih z melanomom in 8 pri bolnikih s sarkomom. Bolniki so bili v povprečju stari 69 let (22–88 let). Pri 67 bolnikih z melanomom so dosegli popolni odgovor pri 35, delnega pri 15, stagnacijo bolezni pri dveh in napredovanje bolezni pri enem bolniku. Pri 13 bolnikih ocena odgovora ni bila možna, ker so bili iz druge države in se niso vrnili na kontrolne preglede. V enem primeru pa je prišlo ob operaciji do sepse in smrti.

Izolirana ekstremitetna perfuzija je učinkovito zdravljenje lokalno napredovalega malignega melanoma in sarkomov mehkih tkiv. S tem zdravljenjem

se da učinkovito izogniti amputacijam in mutilirajočim operacijam, ki povzročijo bolečine in okrnjeno funkcijo uda. Za učinkovita zdravila sta se izkazala melalan in TNF- $\alpha$ ; če temu dodamo še hipertermijo, je učinkovitost še višja. Slaba stran tega posega je njegova invazivnost, zaradi katere ni primeren za starejše bolnike v slabši splošni kondiciji.

Dobra alternativa za starejše bolnike, bolnike v slabši kondiciji, s sistemskimi metastazami in pridruženimi boleznimi je izolirana ekstremitetna infuzija (ILI), ki je v primerjavi z ILP minimalno invazivna. Pri tej tehniki se v pripadajoče žile na udu vstavijo katetri, preko katerih se ročno črpajo zdravila, infuzija traja 30 minut, nato se okončina 30 minut spira s Hartmanovo raztopino. Celotni postopek traja eno uro, zanj je potrebno manj opreme in osebja.

## Literatura

1. Creech O, Krentz ET, Ryan RF, Winblad JN. Chemotherapy of cancer: regional perfusion utilizing an extracorporeal circuit. *Ann Surg.* 1958; 148: 616–31
2. Stehlin JS. Hyperthermic perfusion with chemotherapy for cancers of the extremities. *Surg Gynecol Obstet.* 1969; 129: 305–8.
3. Klausner MJ, Lev-Chelouche D, Meller I, Inbar M, Gutman M. Musculoskeletal Cancer Surgery Treatment of Sarcomas and Allied Diseases. Ch. 04 Isolated-limb perfusion in the treatment of advanced soft-tissue sarcomas. 2001 [citirano 2015 Jan 3]. Dosegljivo na: <http://www.sarcoma.org/publications/mcs/ch4.pdf>
4. Društvo onkoloških bolnikov Slovenija. Maligni melanom. [citirano 2015 Jan 24]. Dosegljivo na: [http://www.onkologija.org/sl/domov/o\\_raku/maligni\\_melanom/](http://www.onkologija.org/sl/domov/o_raku/maligni_melanom/)
5. Bračko M. Patologija malignega melanoma. *Radiol Oncol* 2007 (Suppl 1): S13-S17 [citirano 2015 Jan 23]. Dosegljivo na: [http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/Radiology\\_41\\_Suppl\\_3.pdf](http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/Radiology_41_Suppl_3.pdf)
6. Nieweg EO, Kroon BRB. Isolated Limb Perfusion with Melphalan for Melanoma. *J. Surg. Oncol.* 2014
7. Bračko M., Novak J. Sarkomi mehkih tkiv. *Onkologija pregledi.* [citirano 2015 Jan 24]. Dosegljivo na: <http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/2-2001-bracko.pdf>
8. Kim CJ(1), Puleo C, Letson GD, Reintgen D. . Hyperthermic Isolated Limb Perfusion for Extremity Sarcomas. *Cancer Control* 2001; 8: 269-73.
9. Eggermont M.M.A., Koops Schraffordt H., Klausner M.J. Isolated Limb Perfusion with Tumor Necrosis Factor and Melphalan for Limb Salvage in 186 Patients with Locally Advanced Soft Tissue Sarcomas. *Annals of Surgery* 1996; 224: 756–765.
10. Di Filippo F, Giacomini P, Rossi CR, Santinami M, Anzà M, Garinei R, et al. Prognostic Factors Influencing Tumor Response, Locoregional Control and Survival, in Melanoma Patients with Multiple Limb In-transit Metastases Treated with TNF $\alpha$ -based Isolated Limb Perfusion. *In vivo* 2009; 23: 347–352.
11. Deroose JP, Eggermont AM, van Geel AN, de Wilt JH, Burger JW, Verhoef C. 20 Years Experience of TNF-Based Isolated Limb Perfusion for In-Transit Melanoma Metastases. *Ann Surg Oncol* 2012;19: 627–35.
12. Vrouwenraets BC, Klaase JM, Nieweg OE, Kroon BB. Toxicity and Morbidity of Isolated Limb Perfusion. *Semin Surg Oncol* 1998;14: 224–31.