

Универзитет " Св. Кирил и Методиј "
Медицински факултет - Скопје



Институт за патофизиологија и нуклеарна медицина
" Академик Исак С. Таџер "

**КОНЦЕПТ НА ОТКРИВАЊЕ СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ СО
РАДИОКОЛОИД ОБЕЛЕЖАН СО ^{99m}Tc КАЈ КАРЦИНОМ НА ДОЈКА, МАЛИГЕН
МЕЛАНОМ И КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ - ВОВЕДУВАЊЕ И
СТАНДАРДИЗАЦИЈА НА МЕТОДОТ**

Докторска дисертација

Кандидат:

м-р. д-р Сениша СТОЈАНОСКИ

Ментор

проф. д-р Даниела Поп Ѓорчева

Скопје, 2017

**На мојата фамилија,
за сета љубов и разбирање
што безрезервно ми го подарија**

Задоволство ми е да им се заблагодарам на сите кои што на било кој начин имаат удел во изработката на оваа теза. Благодарност до целиот колектив на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина, проф. д-р Оливија Васкова, проф. д-р Сузана Лопарска и прим. д-р. Мери Ангелеска, со кои што започна воведувањето на техниката за радионасочена хирургија, а особено до менторот проф. д-р Даниела Поп Ѓорчева за покажаната поддршка, интерес, следење на мојата работа и корисните совети. Посебна благодарност до проф. д-р Горан Кондов, д-р Лазе Новески и доц. д-р Светозар Антовиќ, како и до хируршките клиници за торако-васкуларна, абдоминална и пластична и реконструктивна хирургија и Институтот за патолошка анатомија, кои беа есенцијален дел во изработката на оваа докторска теза.

Благодарам на моето семејство за љубовта, помошта, трпението и разбирањето.

Синиша Стојаноски

СОДРЖИНА:

АПСТРАКТ	6
ABSTRACT	10
1.0 ВОВЕД	13
1.1 Лимфа, лимфни капилари и лимфни садови.....	13
1.2 Меѓуклеточен простор (интерстициум) и лимфен систем.....	15
1.3 Лимфни јазли.....	17
1.4 Визуализација на лимфниот систем.....	19
1.4.1 Лимфосцинтиграфија.....	20
1.4.2 Сентинелен лимфен јазол.....	21
1.4.3 Историјат на концептот за сентинелен лимфен јазол.....	22
1.4.4 Концепт на сентинелен јазол кај карцином на дојка.....	23
1.4.4.1 Епидемиологија.....	23
1.4.4.2 Ембриологија.....	24
1.4.4.3 Лимфни садови и лимфна дренажа на дојката.....	24
1.4.4.4 Карцином на дојка – типови и класификација.....	25
1.4.4.5 Интрамамарни лимфни јазли.....	29
1.4.5 Концепт на сентинелен јазол кај малиген меланом.....	32
1.4.5.1 Епидемиологија.....	32
1.4.5.2 Малиген меланом – типови и класификација.....	33
1.4.5.3 Клинички карактеристики.....	36
1.4.6 Концепт на сентинелен јазол кај колоректален карцином	
1.4.6.1 Епидемиологија.....	38
1.4.6.2 Колоректален карцином – класификација.....	39
2.0 МОТИВ	45
3.0 ЦЕЛИ	46
4.0 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ	47
4.1 Дизајн на студијата.....	47
4.2 МАТЕРИЈАЛ.....	47

4.2.1	Пациенти со карцином на дојка.....	48
4.2.2	Пациенти со малиген меланом.....	49
4.2.3	Пациенти со колоректален карцином.....	50
4.3	МЕТОДИ.....	51
4.3.1	Хистолошка анализа.....	64
5.0	СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ.....	65
6.0	РЕЗУЛТАТИ.....	67
6.1	КАРЦИНОМ НА ДОЈКА.....	67
6.2	МАЛИГЕН МЕЛАНОМ.....	84
6.3	КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ.....	95
7.0	ДИСКУСИЈА.....	102
7.1	КАРЦИНОМ НА ДОЈКА.....	102
7.2	МАЛИГЕН МЕЛАНОМ.....	118
7.3	КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ.....	128
7.3.1	Број на изолирани лимфни јазли.....	133
7.3.2	Сентинелен јазол кај колоректален карцином.....	142
8.0	ЗАКЛУЧОЦИ.....	158
9.0	РЕФЕРЕНЦИ.....	161
10.0	ИНДЕКС.....	179

КОНЦЕПТ НА ОТКРИВАЊЕ СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ СО РАДИОКОЛОИД ОБЕЛЕЖАН СО ^{99m}Tc КАЈ КАРЦИНОМ НА ДОЈКА, МАЛИГЕН МЕЛАНОМ И КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ - ВОВЕДУВАЊЕ И СТАНДАРДИЗАЦИЈА НА МЕТОДОТ

Синиша СТОЈАНОСКИ

Институт за патофизиологија и нуклеарна медицина

"Академик Исак С. Таџер"

Медицински факултет,

Универзитет "Св. Кирил и Методиј" – Скопје

ВОВЕД: Сентинелниот лимфен јазел (СЛЈ) - ``жлезда стражар`` е првиот од групата лимфни јазли каде туморските клетки би можеле да се прошират (метастазираат) по напуштањето на примарната туморска локализација. Детекцијата на СЛЈ и неговата *ex tempore* патохистолошка евалуација со висока сензитивност, специфичност и точност, од една страна дава валидна информација за тоа дали туморот започнал да метастазира (метастази / микрометастази) и во која група на лимфни јазли (мапирање на лимфната дренажа), а од друга страна, го определува типот и екстензитетот на хируршката интервенција (селективна или радикална лимфаденектомија).

ЦЕЛИ: Да се воведо методот за откривање на СЛЈ со радиоколоид обележан со ^{99m}Tc кај карцином на дојка, малиген меланом и колоректален карцином (КРК).

Да се стандардизира и валидира методот за откривање на СЛЈ со радиоколоид обележан со ^{99m}Tc кај карцином на дојка, малиген меланом и КРК (да се покажат сензитивноста, специфичноста, точноста, позитивната и негативната предиктивна вредност на методот).

Да се инкорпорира методот за откривање на СЛЈ со радиоколоид обележан со ^{99m}Tc кај карцином на дојка, малигнен меланом и КРК во соодветните хируршки оперативни водичи – (guidelines) и протоколи.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ: Проспективно (лонгитудинална интервенциска рандомизирана студија) беа анализирани 270 пациенти. (110 пациенти со дијагностициран карцином на дојка, 110 пациенти со дијагностициран малигнен меланом и 50 пациенти со дијагностициран КРК).

Беше спроведена крива на учење кај 30 пациенти со карцином на дојка, 30 пациенти со малигнен меланом и 10 пациенти со КРК, каде што кај сите пациенти, без оглед дали СЛЈ беше позитивен на метастази / микрометастази или не, беше изведена хируршка процедура на радикална конвенционална лимфаденектомија.

Сите пациенти според инклузионен критериум беа класифицирани како: T1-2; N0; M0.

Предоперативно на сите пациенти им беше изведен методот за детектирање на СЛЈ (4 часа предоперативно за пациентите со малигнен меланом и карцином на дојка, а 17-24 часа предоперативно за пациентите со КРК) со што истовремено се направи и мапирање на лимфната дренажа.

Методот опфати апликација на 4 mCi nanosized sentiscint sulphur colloid обележан со ^{99m}Tc на 4 локации периареоларно / перитуморално (кај пациентите со малигнен меланом и карцином на дојка апликацијата беше интрадермална, додека кај пациентите со колоректален карцином апликацијата беше субмукозна преку ендоскопска колоноскопска апликација на трасерот).

По апликацијата следуваше динамска фаза на следење на лимфната дренажа на гама камера во период од 30 минути со сукцесивна

аквизиција на 30 фрејма од по 60 секундни интервали на матрица 256 x 256 x 16. Статичките аквизиции беа изведени во AP (антеропостериорна), PA (постероантериорна) и латерални позиции на 30 минути, 1 и 2 часа кај пациентите со карцином на дојка и малигнен меланом, а на 17-24 часа по апликацијата кај пациентите со КРК (соодветно во 300 или 600 секундни временски интервали).

Телесните контури беа исцртани со помош на кобалтен надворешен извор. Мапирањето на сентинелниот лимфен јазел се изврши со гама детекторска сонда, којашто беше користена и интраоперативно за прецизна радионасочена хируршка детекција.

Како дополнителен фактор за зголемување на сензитивноста и специфичноста на методот интра- / преоперативно беше аплицирано и метиленско сино, за исцртување на лимфните патишта и пребојување на сентинелниот лимфен јазел.

По детекцијата и отстранувањето на СЛЈ, следуваше ex tempore хистопатолошка евалуација (кај карциномот на дојка), од што зависеше и екстензитетот на хируршката интервенција.

Пациентите постоперативно беа подложени на соодветен follow up согласно со онколошките водичи - guidelines.

Добиените резултати беа обработени со стандардните статистички тестови.

РЕЗУЛТАТИ: Сензитивноста на методот кај карциномот на дојка беше 92,86%, специфичноста - 100%, негативната предиктивна вредност – 98,9%, лажно негативната рата – 1,05%, точноста - 99%, а стапката на детекција – 98,2%. Презервирачка хируршка интервенција беше изведена кај 94/110 (85,5%) од пациентите.

Детекциската рата на методот кај малигниот меланом беше 100%, сензитивноста - 96,6%, специфичноста - 100%, точноста - 98,8%, негативната предиктивна вредност - 98,1% и лажно негативната рата – 1,96%. Презервирачка хируршка интервенција беше изведена кај 51/80 (63,75%) од пациентите.

Сензитивноста на методот кај колоректален карцином беше 83,3%, специфичноста – 100%, точноста - 92,1%, негативната предиктивна вредност - 86,95%, детекциската рата - 95%, а лажно негативната рата - 7,5%. Подобрување на стејџингот имаше кај 22,5% од пациентите (10% вистински и 12,5% релативен).

ЗАКЛУЧОЦИ: Методот за детекција на СЛЈ кај карциномот на дојка, малигниот меланом и колоректалниот карцином покажа висока детекциска рата, сензитивност, специфичност, точност, негативна предиктивна вредност и ниска рата на лажно негативни резултати со што се валидираше како минимално инвазивен, сигурен, прецизен и точен дијагностички модалитет. Протоколот за оваа техника се стандардизираше и се воведе во рутинската практика на нашиот институт како дел од сегментот на радионасочена хирургија. Методот најде клиничка примена во хируршките водичи за минимално инвазивна интервенција кај пациентите во рана фаза на карцином на дојка, малигнен меланом и колоректален карцином.

КЛУЧНИ ЗБОРОВИ: сентинелен лимфен јазол, ^{99m}Tc-SentiScint, метиленско сино, карцином на дојка, малигнен меланом, колоректален карцином.

SENTINEL LYMPH NODE DETECTION CONCEPT IN PATIENTS WITH BREAST CARCINOMA, MALIGNANT MELANOMA AND COLORECTAL CARCINOMA USING THE ^{99m}Tc-RADIOLABELED COLLOIDS – IMPLEMENTATION AND STANDARDIZATION OF THE METHOD

Sinisa STOJANOSKI

Institute for Pathophysiology and Nuclear Medicine,

Medical faculty,

University of `` Ss. Cyril and Methodius`` - Skopje

INTRODUCTION: The sentinel lymph node is the first node from the loco-regional lymphatic basin in which the tumor cells occur with highest probability, as metastatic/micrometastatic deposits, after the lymphatic spread from the primary tumor location. Precise detection and detailed pathohistological evaluation of the sentinel lymph nodes provides valid information regarding the status of the regional node basin (metastatic/micrometastatic involvement) and determines the extent of the surgical procedure (selective or radical lymphadenectomy)

AIM: To introduce the sentinel lymph node detection method using ^{99m}Tc-radiolabeled colloids in breast carcinoma, malignant melanoma and colorectal carcinoma patients.

To validate and standardize the sentinel lymph node detection method using ^{99m}Tc-radiolabeled colloids in breast carcinoma, malignant melanoma and colorectal carcinoma patients. (to present the sensitivity, specificity, accuracy, negative predictive value and the detection rate of the method).

To implement the sentinel lymph node detection method using ^{99m}Tc-radiolabeled colloids into the appropriate surgical guidelines and oncology protocols.

MATERIAL AND METHODS: Prospective (longitudinal interventional randomized study) analysis was performed on 230 patients (110 breast carcinoma patients, 80 malignant melanoma patients and 40 colorectal carcinoma patients). Learning curve was performed in all three groups of patients. (with obligatory radical lymphadenectomy and without implementation of the preserving surgical techniques regardless of the status of the sentinel lymph nodes). All patients were classified as T1-2, N0, M0 according to the inclusion criteria.

Preoperative detection of the sentinel lymph node and lymphatic drainage mapping was performed in all patients (4h prior to operation in breast carcinoma and malignant melanoma patients and 17-24h prior to operation in colorectal carcinoma patients).

The method included application of 4 mCi nanosized sentiscint sulphur colloid labelled with ^{99m}Tc at 4 locations: periareolar (intra-dermal) / peritumoral (in patients with breast carcinoma and malignant melanoma) or submucose / intratumoral in colorectal carcinoma patients using the endoscopic (colonoscopic) technique.

The dynamic phase followed the application of the tracer, and was used for lymphatic drainage mapping. It was performed using the acquisition protocol of 30 minutes / 30 frames / 60 seconds per frame at 256x256x16 matrix.

The static acquisitions (300seconds or 600seconds per position) were performed at AP, PA and lateral positions at predefined time points (30minutes, 1h and 2 h post injection in breast carcinoma and malignant melanoma patients, and at 17-24h post injection in colorectal carcinoma patients).

The body contours were delineated using the separate flood cobalt source and the sentinel lymph node mapping was performed using the gamma probe. The probe was used also for radioguided surgery and sentinel lymph node operative extirpation.

We used blue dye as additional tracer for sentinel lymph node visualisation in order to increase the sensitivity and specificity of the method.

Ex tempore histopathological analysis was performed in breast carcinoma patients and detailed H&E and immunohistochemistry post operation in all 3 groups of patients in order to determine the status of the sentinel lymph node, the extent of the surgical intervention and the postoperative oncology protocols.

RESULTS: The sensitivity of the method in breast carcinoma patients was 92,86%, specificity was 100%, negative predictive value was 98,9%, false negative rate was 1,05%, accuracy was 99% and the identification rate was 98,2%. The preserving surgical technique was performed in 94 of 110 patients (85,5%). The detection rate of the method in malignant melanoma patients was 100%, sensitivity was 96,6%, specificity was 100%, accuracy was 98,8%, negative predictive value was 98,1% and the false negative rate was 1,96%. The preserving surgical technique was performed in 51 of 80 patients (63,75%). The sensitivity of the method in colorectal carcinoma patients was 83,3%, accuracy was 92,1%, negative predictive value was 86,95%, detection rate was 95% and the false negative rate was 7,5%. Staging improvement rate was 22,5%.

CONCLUSIONS: The sentinel lymph node detection method presented high detection rate, sensitivity, specificity, accuracy, negative predictive value and low false negative rate. Therefore it is a valid, precise and reliable diagnostic modality in early staged breast carcinoma, malignant melanoma and colorectal carcinoma patients promoting the minimally invasive surgery concept. The acquisition protocol for this method was standardized and recommended for routine use at our institution in the field of radioguided surgery.

KEY WORDS: sentinel lymph node, ^{99m}Tc-SentiScint, blue dye, breast carcinoma, malignant melanoma, colorectal carcinoma.

1.0 ВОВЕД

1.1 Лимфа, лимфни капилари и лимфни садови

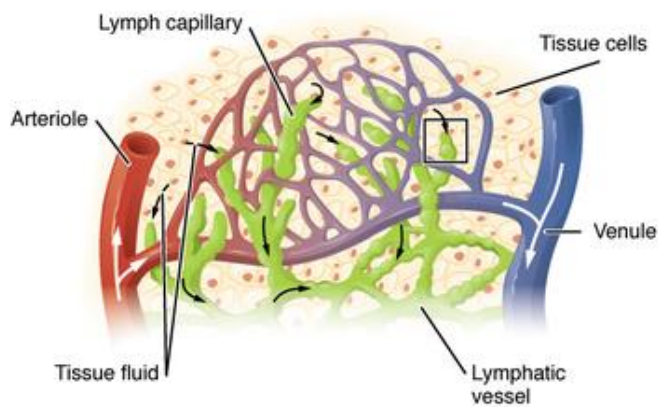
Капиларите, како крајни ограноци на крвите садови, овозможуваат двонасочна комуникација меѓу крвта и интерстициумот. Балансот (рамнотежата) кој што постои на капиларно ниво помеѓу хидростатскиот и колоидно-осмотскиот притисок резултира со генерирање интерстициелна течност. Истовремено, паралелно со процесот на создавање на меѓуклеточната течност, преку процес на дифузија се дистрибуираат кислородот и есенцијалните (нутритивни) материи до сите клетки, а се превземаат јаглеродниот диоксид и отпадните крајни продукти на метаболизмот.

Приближно 9/10 од течноста што се филтрира на артерискиот крај на капиларите се реасорбира на венскиот дел на капиларите (станува збор за водата, електролитите и материите кои согласно на својата молекуларна маса можат да поминат преку капиларните фенестри или пак го поминуваат капиларниот ѕид по пат на дифузија). Материите со голема молекуларна маса, првенствено протеинските молекули, не можат да се реасорбираат на венскиот крај на капиларната мрежа и се насочени кон лимфниот систем (единствен пат преку којшто можат да се вратат во системската циркулација).

Протеините, кои што се филтрираат на артерискиот крај на крвните капилари, се носители на колоидно-осмотскиот притисок и не смеат да останат во интерстициумот бидејќи ќе се зголеми нивната концентрација до тој степен што би се нарушила нормалната капиларна филтрациско-ресорпциска динамика. Затоа, 1/10 од течноста која што се филтрира на артерискиот крај на крвните капилари, вклучително и протеинските молекули, навлегуваат во лимфните капилари.

Последниве се карактеризираат со специфична хистолошка структура. Имено, за разлика од крвните капилари каде што ендотелните клетки се

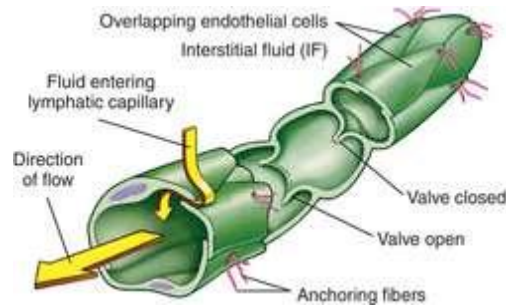
поврзани со меѓуклеточни врски, ендотелните клетки на лимфните капилари се прицврстени со сидрени нишки за сврзното ткиво во интерстициумот. Секоја ендотелна клетка се преклопува со следната, а рабовите се отвараат само кон внатрешната страна при што функционираат како своевидни клапи или залистоци. Интерстициелната течност и материите суспендирани во неа, во согласност со промената на ткивниот притисочен градиент и хемискиот концентрациски градиент, ги отвараат овие залистоци и директно навлегуваат во лимфните капилари. На овој начин може во лимфниот систем да навлезат и поголеми молекули како што се протеините, инфективните агенси и ***малигните клетки од неопластичните процеси кои дисеминираат по лимфоген пат.*** Кога лимфата се дренира и филтрира во лимфните јазли, овие поголеми молекули и неопластични клетки се, или заробени, или се разградени и деструирани на ова ниво од страна на имуниот систем.



Сл. 1 Капиларен систем (крвни и лимфни капилари)

Штом навлезе во лимфните капилари, меѓуклеточната течност преку промена на притисочниот градиент ги затвора залистоците и повеќе не може ретроградно да се врати назад во интерстициумот. Ваквата динамика на промена на притисочниот градиент го детерминира ***еднонасочниот*** систем на циркулирање на оваа течност. Залистоците се присутни и по целата должина

на лимфните садови и истите оневозможуваат лимфата да флукутира ретроградно. Преку системот на лимфните садови, интерстициелната течност и минималното количество филтрирани белковини, дефинирани како лимфа, повторно се враќаат во системската циркулација.



Сл. 2 Лимфни капилари и лимфни садови (динамика на лимфна циркулација)

1.2 Меѓуклеточен простор (интерстициум) и лимфен систем

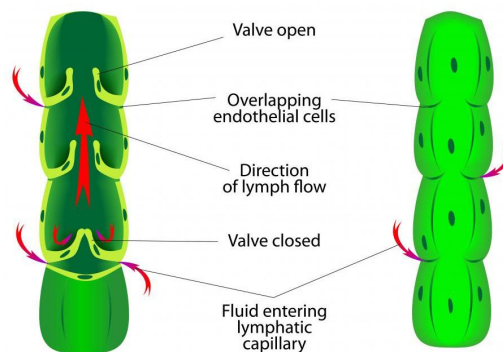
Меѓуклеточниот простор е претставен со два главни структурни елементи: колагени влакна и протеогликански филаменти. Колагените влакна се долги, еластични и се одговорни за цврстината на интерстициумот. Протеогликанските филаменти по својот состав се 98% хијалуронска киселина и 2% протеини. Тие се тенки, fino испреплетени и го исполнуваат просторот помеѓу колагените влакна и клетките.

Интерстициелната течност е локализирана во тесните простори помеѓу протеогликанските филаменти и заедно го сочинуваат т.н. ***ткивен гел***. Материите низ ткивниот гел, до и од клетките, со оглед на слабата подвижност на интерстициелната течност, се движат генерално 95% по пат на процес на дифузија.

Лимфниот систем претставува делумно затворен систем на циркулација, преку кој од интерстицијалниот простор во крвта се враќаат водата, електролитите, протеините и ***мигрирачките клетки***. Главната функција на

овој систем е да ја одржува состојбата на интерстициумот во еден константен баланс кој што е неопходен за хомеостазата и нормалното функционирање на сите клетки и ткива во организмот.

Во склоп на лимфниот систем се вклучени: лимфните капилари, лимфните садови и лимфните јазли. Лимфните капилари не поседуваат базална мембрана, а многубројните фенестри помеѓу ендотелните клетки овозможуваат лесен премин на водата, малите и средно големите молекули и мигрирачките клетки од интерстицијалниот простор во лимфните садови, формирајќи ја на тој начин лимфната течност. Лимфата, со притисочна сила, се транспортира низ лимфните капилари кон проксималните лимфни садови и се дренира во супкапсуларните простори на регионалните лимфни јазли.



Сл. 3 Лимфна циркулација

На ова ниво настанува филтрација низ трабекулите, мрежата на фибрили и синусите на лимфните јазли. Лимфата се концентрира и ги напушта лимфните јазли преку еферентни лимфни садови, движејќи се центрипетално кон се поголеми лимфни садови, за терминално преку торакалниот дуктус и десниот лимфатичен дуктус да навлезе во горната шуплива вена. Во повеќе делови на телото лимфата најчесто се дренира низ две или три групи (ешалони) на лимфни јазли пред да влезе во венската

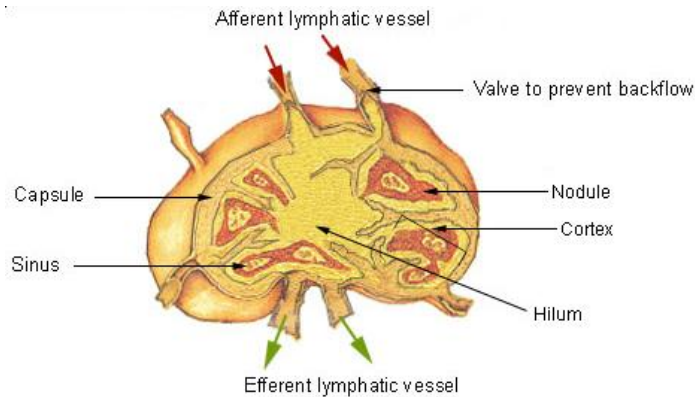
циркулација, кои делуваат како *барьера или филтер* за сè она што лимфата го содржи во својот состав, а ќе биде детектирано од имуниот систем како туѓо тело.

Освен дренажна улога, во смисла на филтрирање на интерстициелната течност, лимфниот систем има круцијална улога во продукцијата на лимфоцити (носители на хуморалниот и клеточниот имунитет). Герминалните центри на лимфните јазли, Паеровите плочи, апендиксот, тонзилите, тимусот, слезената и во одреден степен и коскената срцевина, генерираат лимфоцити кои преку лимфата влегуваат во системската циркулација. Во услови на присуство на антигени од инфективна природа или малигни клетки, лимфните јазли реагираат со локо-регионална имуна стимулација и создавање герминативни центри. Ваквиот начин на функционирање (филтрација на лимфата и активација на имун одговор кон инфективни антигени и/или малигни клетки), ги дефинира лимфните јазли како *прва линија на одбрана* против прогресијата на инфекциите и дисеминацијата на малигните неопластични процеси кои имаат специфика на лимфогено метастазирање.

1.3 Лимфни јазли

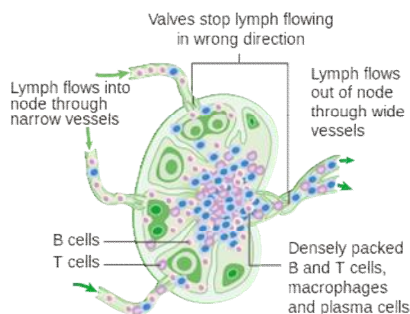
Лимфните јазли имаат овална форма и нивната димензија варира од неколку милиметри до 1-2 см. Поседуваат фиброзна капсула која што продира во внатрешноста на лимфните јазли, создавајќи притоа трабекули. Структурно се поделени на надворешен слој или кортекс и внатрешен слој или медула. Тенки ретикулински влакна и нишки на еластин ја сочинуваат потпорната структура на лимфните јазли. Во склоп на ретикуларната мрежа влегуваат и фоликуларните дендритични клетки и фибробластните ретикуларни клетки. Нивната улога е предоминантно во генерирањето на адхезивните молекули и во имуномодулаторните процеси во склоп на имуниот одговор што се тригерира и одвива на ова ниво.

Лимфата навлегува преку аферентните лимфни садови низ конвексниот раб на лимфните јазли, циркулира низ супкапсуларните лимфни синуси (каналы во лимфните јазли обложени со ендотелни клетки, макрофаги и фибробластни ретикуларни клетки) и се филтрира во трабекуларните и медуларните синуси.



Сл. 4 Лимфен јазол (шематски приказ)

Преку еферентните лимфни садови (најчесто еден, поретко два), лимфата ги напушта лимфните јазли на конкавната страна означена како хилус. Фоликуларните Б клетки (носители на хуморалниот имунитет) се преобладајќи локализирани во површинскиот кортекс, додека пак Т клетките (носители на целуларниот имунитет) се лоцирани во паракортексот. Секој лимфен јазол е поделен на помали компартмани, означени како лимфни лобулиси.



Сл. 5 Дистрибуција на Б и Т клетки во лимфен јазол

Сите ткива во телото, со ретки исклучоци (површниот слој на кожата, централниот нервен систем, ендомизиумот на мускулите и коските) поседуваат лимфни садови преку кои се дренира интерстициелната течност. Ткивата кои не поседуваат лимфни садови поседуваат перилимфатични садови кои терминално повторно се вливаат во лимфните садови и преку кои се дренира меѓуклеточната течност од интерстициумот на овие ткива.

1.4 Визуализација на лимфниот систем

Примената на радиообележани колоидни партикли во испитувањето на лимфниот систем датира уште од 1940 година, кога преку експерименти на анимални модели е докажано дека супкутано вбриганите радиообележани колоидни партикли се транспортираат преку лимфата до регионалните лимфни јазли и овде се депонираат.

Испитувањата се до 1965 година не биле применети во клиничка практика, кога Zum Winkel и Scheer ги објавиле своите опсежни и студиозни анализи на лимфниот систем со радиоактивни колоидни партикли кај хуманата популација.(1) Методологијата на сцинтиграфска визуализација на лимфните јазли со помош на радиоактивни колоиди од 1965 година се воведува во клиничката практика под името лимфосцинтиграфија и наоѓа место првенствено во онколошките дијагностички процедури.

Лимфните јазли се визуализираат со инертни колоидни партикли обележани со радиоизотопи. Според истражувањата на Strand и Persson од 1979 година, а објавени во 1983 година, најоптималните димензии на овие колоидни партикли би требало да бидат од 3 до 8 nm. (2) Помалите партикли се елиминираат од интерстициумот првенствено преку дифузија во крвните капилари, а поголемите партикли (димензија 100 nm и поголеми) се задржуваат на местото на инјектирањето. Како најпогодни трасери, во

првичните научно истражувачки студии, се покажале ^{198}Au и $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -антимон сулфид. Радиоактивното злато поради високата радијациска доза и локалните оштетувања (дерматитис и некроза) е истиснато од употреба од страна на колоидите обележани со технециум. Големината на честичите на антимон сулфид, најчесто користениот колоид маркиран со технециум, се движи од 5 до 15 nm.

Колоидните партикли се инјектираат во интерстициумот, преминуваат во лимфните капилари со дифузија помеѓу ендотелните клетки во ѕидот на капиларите или, пак, се транспортираат низ ендотелните клетки со механизам на пиноцитоза. Преку аферентните лимфни садови, колоидите се транспортираат до регионалните лимфни јазли, каде што се фагоцитирани од макрофагите. **Специфичната радиоактивност** е најголема во лимфните јазли кои се ``први`` по редослед, односно во кои што дренира лимфата од подрачјето каде што е инјектиран трасерот, а потоа опаѓа во секоја наредна проксимална група (ешалон) на лимфни јазли.

Брзината на клиренсот на радиоколоидите од местото на инјектирање директно зависи од сочуваниот интегритет на лимфотокот и големината на колоидните партикли. Мерењето на времето на полуисчезнување на радиоактивноста од местото на инјектирање може да биде показател за функционалноста на лимфната дренажа. Кога постои блокада на лимфната дренажа, брзината на клиренсот на радиоактивноста од интерстициумот е значително забавена, за разлика од нарушената венска дренажа кога истата радиоактивност од интерстициумот има побрз клиренс.

1.4.1. Лимфосцинтиграфија

Динамската лимфосцинтиграфија подразбира секвенцијална детекција на клиренсот на радиоактивноста од местото на инјектирање, од моментот на

инјектирање, во функција на временски интервал. Овозможува да се добијат податоци за брзината и функционалноста на лимфната дренажа како и мапирање на истата. Со методот на лимфосцинтиграфија, доколку е уредна лимфната дренажа и нема патолошки процес во лимфните јазли, се прикажува релативно симетрична дистрибуција и приказ на лимфните садови и лимфните јазли. **Во случај, пак, кога лимфните јазли се зафатени со патолошки процес, истите акумулираат помалку од радиоколоидот во споредба со морфолошки и функционално интактните лимфни јазли.** Потполна деструкција на лимфните јазли, ќе прикаже фотопеничност, односно нема да постои можност за сцинтиграфска детекција на истите.

Радијациската доза на местото на инјектирање е 8-84 mGy/MBq, во лимфните јазли е 1-13 mGy/MBq, во хепарот е 0,001-0,004 mG у/MBq, а во целото тело е 0.0001-0,0004 mGy/MBq. Апсорбираната доза на местото на инјектирањето зависи од брзината на клиренсот на радиотрасерот, волуменот на инјектирана радиоактивност и брзината на локалната дифузија.

1.4.2 Сентинелен лимфен јазол

Сентинелниот лимфен јазел (СЛЈ) - ``жлезда стражар`` е првиот јазел од групата на лимфни јазли каде што туморските клетки би можеле да се прошират (метастазираат) по напуштањето на примарната туморска локализација.

Детекцијата на сентинелниот лимфен јазел и неговата ex tempore патохистолошка евалуација со висока сензитивност, специфичност и точност, од една страна, дава валидна информација за тоа дали туморот започнал да метастазира (метастази/микрометастази) и во која група на лимфни јазли (мапирање на лимфната дренажа), а, од друга страна, го определува типот и

екстензитетот на хируршката интервенција (селективна или радикална лимфаденектомија) или, пак, придонесува за егзактен staging на пациентите.

Доколку сентинелниот лимфен јазел, при ex tempore евалуацијата, не содржи метастази/микрOMETастази, тогаш се изведува само ***селективна лимфаденектомија*** (се отстранува само сентинелниот лимфен јазел кај пациентите со карцином на дојка и малигнен меланом). Доколку во сентинелниот лимфен јазел се детектираат метастази, тогаш се менува стадиумот на туморот (од N0 преминува во N1) - таканаречен туморски up staging и се изведува ***радикална лимфаденектомија*** со отстранување на целиот базен на лимфни јазли каде што припаѓа СЛЈ и каде што туморот дренира.

1.4.3 Историјат на концептот за сентинелниот лимфен јазол

Лимфниот систем за прв пат е нотран уште во белешките на Хипократ, но првите медицински системски податоци на анимален модел се појавиле многу подоцна во 1622 година од Gaspare Aselli. (3)

Кај луѓето овие садови за прв пат се опишани од Gassendi во 1628 година, а потоа се потврдени од повеќе научници. (4)

Во 1652 година, Thomas Bartolin го дава името vasa lymphatica и го докажува постоењето на лимфната циркулација. (5)

Rudolf Virchow во 1856 година за прв пат ги опишал лимфните јазли, а Dimitrie Gerota за прв пат ги визуализира лимфните садови користејќи како трасер персиско сино. (6,7,8)

За прв пат терминот sentinel потекнува од Leonard R. Braithwaite, кој, во 1923 година работејќи експерименти на мачки, успеал да изолира лимфен јазол кој прв се бои после апликација на сина боја на нивниот оментум. (9)

Првата in vivo детекција, со сина боја, на лимфните садови и лимфните јазли е нотрана во 1933 година, од Hudak и Macmaster. (10)

Првиот приказ на лимфен јазол со радиоактивно злато-198 е нотиран на анимален модел на куче во 1958 година, од страна на Sage и Gozun. (11)

Концептот на сентинелниот лимфен јазол за прв пат е воведен од Gould et al., во 1960 година, кај пациент со карцином на паротидна жлезда, а е имплементиран во клиничката практика од Ramon.M.Cabanas кај пациенти со карцином на пенис. (12,13)

Првиот извештај за интраоперативна примена на гама детекторска сонда за детекција на гама зраци кај пациент со ректален карцином, каде што било инјектирано антитело обележено со I^{131} против карциноембрионичниот антиген, датира од 1984 година. (14)

Morton и Cochrane, во 1992 година, го промовираат концептот на сентинелен лимфен јазол кај пациенти со малиген меланом, додека, пак, најголемиот успех овој концепт го добива во 1994 година кога група на истражувачи од John Wayne Cancer центарот концептот на Мортон за малиген меланом го примениле на пациенти со карцином на дојка. (15,16)

Истата истражувачка група, од истиот центар, во 1998 година, предводена од Bilchik, ги презентира резултатите за испитувањата на концептот на сентинелниот јазол кај карциномот на тироидна жлезда, гастроинтестиналните тумори вклучувајќи го и карциномот на колон, карциномот на цервиксот на утерусот, Merkel cell и сквамозниот карцином на глава и врат. (17)

1.4.4 Концепт на сентинелен лимфен јазол кај карцином на дојка

1.4.4.1 Епидемиологија

Карциномот на дојка е најчестата малигна неоплазма и опфаќа 22,9% од сите карциноми кај жените, а истовремено е одговорен за 13,7% од смртноста кај сите карциноми. (18) Во нашата земја секоја година се

дијагностицираат повеќе од 750 нови случаи на рак на дојка, најчесто кај жени кои спаѓаат во возрастната група од 45 до 49 години и од 55 до 59 години. Почетната фаза на ракот на дојката, доколку се открие и дијагностицира навремено, може да се излекува кај повеќе од 95% од заболените.

1.4.4.2 Ембриологија

Дојката во суштина претставува акцесорна кожна жлезда. На вентралната страна на ембрионот, симетрично и билатерално, се јавува задебелување на епителот (ектодермот) кое станува препознатливо во шестата недела од интраутериниот период. Ова задебелување се нарекува млечен гребен или млечна линија. Во третиот месец од интраутериниот период, ова задебелување на ектодермот се вгнездува во мезенхимот и од него се развиваат 16-24 епителни израстоци кои се основа на покровниот епител на главните млечни канали. На краевите од овие израстоци се развиваат задебелувања од кои што подоцна ќе се создадат помалите дуктуси и резени на млечната жлезда. Во осмиот и деветтиот месец од интраутериниот развој епителните израстоци стануваат канализирани, а мезенхимот околу нив пролиферира и се создава брадавицата.

Од раѓањето, па се до пубертетот, млечните жлезди се идентични и кај машкиот и кај женскиот пол. Во структурата на дојката влегуваат епителни клетки од ектодермално потекло и сврзни клетки од мезодермално потекло.

1.4.4.3 Лимфни садови и лимфна дренажа на дојката

Дојката има опсежен лимфоток кој што дренира во две насоки: кон **аксилата** и кон **a. mammaria interna**. Просечниот број на лимфни јазли во аксилата е околу 36 (но тој може да варира од 8 до 53). Аксилата е поделена

на три ката или ложи каде што се распоредени аксиларните лимфни јазли: долен, среден и горен. Долниот кат се протега до надворешниот раб на m. pectoralis minor. Средниот кат ги опфаќа лимфните јазли под m. pectoralis minor. Горниот кат ги опфаќа лимфните јазли медијално од внатрешниот раб на m. pectoralis minor вклучително и врвот на аксилата. **Лимфата од долно латералниот квадрант на дојката дренира во лимфните јазли на долниот кат на аксилата. Лимфата од горно латералниот квадрант се дренира во лимфните јазли на горниот кат на аксилата.** Во аксилата лимфата се движи од долно латералните лимфни јазли кон горно медијалните лимфни јазли сместени во врвот на аксилата. Потоа продолжува кон супраклавикуларните лимфни јазли и на крајот се влива во венската циркулација (десно преку големите лимфни садови, а лево преку ductus thoracicus).

Лимфните јазли долж а. mamma interna ги има помалку во споредба со аксиларните, најчесто 3-4 на број. **Преку нив се дренира најголемиот дел од лимфата од внатрешните квадранти на дојката.** Сепак, еден дел од лимфата од медијалните квадранти може да има и вкрстен лимфоток, како кон ипсилатералната аксила, така и кон а.mamma interna, па дури и кон лимфните јазли на контралатералната аксила.

1.4.4.4 Карцином на дојка – типови и класификација

Примарните малигни тумори на дојката можат да бидат или од мезенхимално или од епително потекло. Туморите од епително потекло се меѓу најчестите малигни неоплазми, додека, пак, мезенхималните се јавуваат многу поретко. Кога станува збор за туморите од епително потекло, истите може да се манифестираат во повеќе различни варијанти, и тоа како: carcinoma ductale, carcinoma papillare, carcinoma scirrhosum, carcinoma medullare, carcinoma mucinosum, carcinoma tubulare, carcinoma lobulare и

mastitis carcinomatosa. Класификацијата на карциномот на дојката се базира на интернационално прифатениот TNM систем: T (тумор), N (лимфен нодус) и M (метастаза)

- TX Primary tumor cannot be assessed.
- T0 No evidence of primary tumor.
- Tis Carcinoma in situ.
- Tis (DCIS) DCIS.
- Tis (LCIS) LCIS.
- Tis (Paget) Paget disease of the nipple NOT associated with invasive carcinoma and/or carcinoma in situ (DCIS and/or LCIS) in the underlying breast parenchyma. Carcinomas in the breast parenchyma associated with Paget disease are categorized based on the size and characteristics of the parenchymal disease, although the presence of Paget disease should still be noted.
- T1 Tumor ≤20 mm in greatest dimension.
- T1mi Tumor ≤1 mm in greatest dimension.
- T1a Tumor >1 mm but ≤5 mm in greatest dimension.
- T1b Tumor >5 mm but ≤10 mm in greatest dimension.
- T1c Tumor >10 mm but ≤20 mm in greatest dimension.
- T2 Tumor >20 mm but ≤50 mm in greatest dimension.
- T3 Tumor >50 mm in greatest dimension.
- T4 Tumor of any size with direct extension to the chest wall and/or to the skin (ulceration or skin nodules).
- T4a Extension to the chest wall, not including only pectoralis muscle adherence/invasion.
- T4b Ulceration and/or ipsilateral satellite nodules and/or edema (including peau d'orange) of the skin, which do not meet the criteria for inflammatory carcinoma.
- T4c Both T4a and T4b.
- T4d Inflammatory carcinoma.

Сл 7. TNM класификација кај карцином на дојка

Согласно со TNM класификацијата, карциномот на дојката може да се наоѓа во неколку стадиуми респективно:

Stage	Definition
Stage 0 is carcinoma <i>in situ</i>	Tumors that have not grown beyond their site of origin and invaded the neighboring tissue. They include: - ductal carcinoma <i>in situ</i> - lobular carcinoma <i>in situ</i>
Stage 1	Tumor size <2 cm, metastases to other organs and tissues not available
Stage 2a	Tumor <2 cm in cross-section with involvement of the lymph node or tumor from 2 to 5 cm without involvement of the axillary lymph nodes
Stage 2b	Tumor more than 5 cm in cross-section (the result of axillary lymph node research is negative for cancer cells) or tumor from 2 to 5 cm in diameter with the involvement of axillary lymph nodes
Stage 3a	Also called local spread of <i>breast cancer</i> : tumor more than 5 cm with spread to axillary lymph nodes or tumor of any size with metastases in axillary lymph nodes, which are knitted to each other or with the surrounding tissues
Stage 3b	Tumor of any size with metastases into the skin, chest wall or internal lymph nodes of the mammary gland (located below the breast inside of the chest)
Stage 3c	Tumor of any size with a more widespread metastases and involvement of more lymph nodes
Stage 4	Defined as the presence of tumors (regardless of the sizes), spread to parts of the body that are located far removed from the chest (bones, lungs, liver, brain or distant lymph nodes)

Сл 8. Стадиуми кај карцином на дојка

Највжниот прогностички фактор кај пациентите со карцином на дојка е статусот на аксиларните лимфни жлезди. Интересот за овој лимфен базен датира многу години пред откривањето на методите на лимфосцинтиграфија и сентинелна сцинтиграфска детекција, кога во склоп на проширената радикална мастектомија по Halsted се отстранувани и хистопатолошки анализирани и аксиларните и интрамамарните лимфни јазли.

Современиот хируршки терапевтски пристап кон аксиларната јама кај раниот стадиум на малигном на дојката денес подразбира детекција на СЛЈ. Само доколку истиот е зафатен со метастатски депозит, тогаш се изведува радикална аксиларна лимфаденектомија. (19)

Воведувањето на концептот на `` жлезда стражар `` во клиничката практика ќе овозможи **минимално инвазивен** терапевтски пристап во раниот стадиум на болеста, поштедувајќи ги пациентите од непотребна радикална лимфаденектомија и компликациите од истата.

За првпат во клиничката практика, методот на детекција на сентинелниот лимфен јазол е воведена од Krag 1993 година, користејќи радиоколоид маркиран со технециум со точност од 89% (20), Guliano во 1994 година користејќи боја – vital blue со точност од 87% (21), за Albertini во 1996 година, да ги објави резултатите за детекција на жлездата стражар со заедничко користење радиоколоид и боја vital blue, каде точноста била 97%. (22)

Притоа докажано е дека доколку “жлездата стражар” е позитивна на метастатски депозит, можноста да има позитивни жлезди меѓу останатите лимфни жлезди од истиот лимфен базен е 40%, тврдење кое повлекува изведување радикална аксиларна лимфаденектомија кај овие пациенти.

Во последните студии утврдено е дека во 40-50% од случаите со позитивни 1-2 “жлезда стражар”, зафатени со поединечни малигни клетки или микрометастази (до 2 мм), останатите лимфни јазли се обично негативни,

што условило кај селектирани случаи, кај кои со предвидувачки прогностички табели за зафатеност на “не сентинелни жлезди”, оценети како ниско ризични, да може да не се изведе аксиларна лимфаденектомија, но, секако, ситемски да се третира болеста. (23)

Veronezi, во 2010 година, укажува на рецидив во пазувната јама само кај 1,2% од пациенти подложени на биопсија на “жлезда стражар” после период на следење од 95 месеци. (24)

Во студиите од Van Rajk и Naik, докажано е со долго следење дека, доколку “жлездата стражар” е негативна, процентот на локален рецидив е 0,25%, односно 0,4%, што укажува на сигурноста на овој метод. (25,26)

NSABP-32 студијата со 8 годишно следење на пациенти со биопсија на “жлезда стражар” и без радикална лимфаденектомија, наспроти пациенти без детекција на СЛЈ, а со аксиларна лимфаденектомија (конвенционален начин на третман), укажува на несигнификантна разлика во преживувањето помеѓу двете групи (90,3% наспроти 91,8% соодветно). (27)

Во студиите на Uren и Kawase се укажува дека најчесто “жлездата стражар” е во пазувната јама (94%), но кај останатите е екстрааксиларно, пред се во базенот на *a.mammaria interna* (28,29)

Последните студии укажуваат, дека кај пациенти со големина на примарен тумор T1-2, методот на детекција и биопсија на “жлезда стражар” се применува кај 70% од пациентите, а кај 65% тоа е истовремено и крајна терапевтска процедура (нема потреба од аксиларна лимфаденектомија).

Соодветно, бројни студии недвосмислено потврдуваат дека методот за детекција и биопсија на “жлезда стражар” репрезентативно го одредува статусот на аксилараната јама, добиен предходно со радикална аксиларна лимфаденектомија, со лажно негативни резултати кај помалку од 2% од случаите. Доколку се применува стандардизирана постапка за детекција и биопсија на “жлезда стражар”, со радиоколоид и боја, сигурноста за точна

дијагностика на аксиларниот статус е над 90%, со значајно помал морбидитет и несакани ефекти наспроти аксиларната лимфаденектомија. (30)

Тоа е повод по 2000 година методот на детекција и биопсија на “жлезда стражар” да стане дел од хируршките протоколи во многу земји, а е инкорпориран и како стандардна процедура во детерминирање на аксиларниот статус при рана фаза на малигном на дојка во сите позначајни гајдлајнси (водичи) во светот.

Употребата на радиокоolid и боја, според реномираните мултицентрични студии, дава успешност во детекција на жлезда стражар кај 98% од пациентите, без детекција на лажно негативни резултати (ALMANAC во UK, NSABP-32 во USA, RACS SNAC во Австралија). (27,31)

1.4.4.5 Интрамамарни лимфни јазли

Интрамамарните лимфни јазли се прикажуваат во околу 20% од случаите кај кои е применет методот на откривање на СЛЈ.

Shen et al. во својата студија укажуваат на фактот дека метастатски позитивните интрамамарни лимфни јазли во однос на аксиларните се независен прогностички фактор за намалување на преживувањето. (32)

Guth et al и Hogan et al во две независни студии прикажуваат дека пациентите со позитивни интрамамарни лимфни јазли најчесто имаат поагресивни карциноми, со повисока стапка на лимфоваскуларна инвазија и метастази и во аксиларните лимфни јазли. (33,34)

Пациенти дијагностицирани со позитивни интрамамарни лимфни јазли, а со негативни аксиларни лимфни јазли, имаат 10 годишно преживување слично како и аксиларно позитивните пациенти, околу 60%. (35)

Токму поради овој факт, откривањето на интрамамарните лимфни јазли се наметнува како неопходно и треба секогаш да се има предвид можната дренажа и кон овој лимфен базен, бидејќи опфаќа високо ризична подгрупа на пациенти кои се аксиларно негативни, со можни "скриени" интрамамарни метастази / микрометастази.

Најновите клинички истражувања укажуваат дека оваа подгрупа пациенти би требало да биде постоперативно подложена на системска адјувантна и радиотерапија. Ефектот кој радиотерапијата би го имала врз преживувањето кај пациентите со позитивни интрамамарни лимфни јазли е предмет на широка клиничка студија (EORTC 22922). Врз основа на резултатите од оваа студија, селекцијата на пациентите за адјувантна радиотерапија при метастатски позитивни интрамамарни лимфни јазли би требало да се базира на детекцијата на истите со помош на методот за откривање на СЛЈ. (36)

На овој начин, откривањето на интрамамарните лимфни јазли би го подобрило N (нодалното) градуирање кај карциномот на дојка, откривајќи ги истовремено и високо ризичните подгрупи на пациенти, кај кои треба да се примени адјувантна хормоно-, хемо- и / или радиотерапија.

Дилемата дали метастатски позитивните интрамамарни лимфни јазли корелираат со состојбата на аксиларните лимфни јазли се наметнува како актуелен клинички проблем.

Претходните истражувања на повеќе автори прикажуваат различни комбинации на микро- / метастаско зафаќање на овие два базена на лимфна дренажа кај карциномот на дојка: хистопатолошки негативни интрамамарни и негативни аксиларни, позитивни интрамамарни и негативни аксиларни и позитивни интрамамарни со позитивни аксиларни лимфни јазли. (37,38,39,40,41)

Референци	Пациенти со сцинтиграфски ИСЛЈ	Негативни ИСЛЈ Негативни АСЛЈ	Позитивни ИСЛЈ Негативни АСЛЈ	Позитивни ИСЛЈ Позитивни АСЛЈ
Intra et al., 2009	15	9	6	
Kijima et al., 2008	4	2	2	
Mathelin et al., 2005	2	1	1	
Tytle et al., 2003	1			1
Gajdos et al., 2001	1			1

Табела 1. Преглед на литературни податоци кај пациенти со сцинтиграфски детектирани ИСЛЈ и/или АСЛЈ (ИСЛЈ-интрамамарни сентинелни лимфни јазли; АСЛЈ-аксиларни сентинелни лимфни јазли)

Интересно е што досега во литературата во ниту еден случај не се опишани хистопатолошки метастатски негативни интрамамарни СЛЈ, а истовремено позитивни аксиларни СЛЈ лимфни јазли. Овој факт ја наметнува дилемата за можна примарна дренажа на карциномите на дојка кон интрамамарните лимфни јазли, што се уште не е клинички јасно докажано, и останува како научен предизвик за во иднина.

Во овој контекст, Vijan et al во својата студија прикажуваат дека пациентите со позитивни интрамамарни лимфни јазли имаат висока инциденца на аксиларно метастатско зафаќање и ја поставуваат хипотезата дека **можеби интрамамарните лимфни јазли се "сентинелни" јазли за аксиларните лимфни јазли.** (42)

Според претходно изнесените научни податоци, доколку интрамамарните лимфни јазли се позитивни, а аксиларните негативни, радикалната аксиларна лимфна дисекција би можела да се одбегне, односно клиничката одлука за начинот на хируршки третман на аксилата би требало да се базира само на состојбата на аксиларните лимфни јазли.

Доколку и интрамамарните и аксиларните сентинелни лимфни јазли се метастатски негативни, пациентите би можеле да ги одбегнат компликациите на адјувантната терапија. (43)

1.4.5 Концепт на сентинелен лимфен јазол кај малиген меланом

1.4.5.1 Епидемиологија

Малигниот меланом е најопасниот карцином на кожата со потекло од меланоцитите и се карактеризира со висок процент на летален исход поради својата агресивност и високата стапка на рано метастазирање. Малигните меланоми се присутни со 5% од малигнитетите кај мажите и 4% кај жените, и, воедно, претставуваат шести најчест карцином кај мажите и седми најчест карцином кај жените. Малигниот меланом е причина за 1,5 % од вкупниот број на смртни случаи предизвикани од канцер. Инциденцата на кожниот малигнен меланом е во константен пораст. Ризикот за појава на оваа болест во Македонија е 13 случаи на 100 000 население.

1.4.5.2 Малигнен меланом – типови и класификација

Кожата е изградена од два слоја: епидермис и дермис. Помеѓу овие два слоја се наоѓаат клетки наречени меланоцити. Малигнизирањето на овие клетки е почетна точка за меланомска презентација. Физиолошката улога на меланоцитите е да продуцираат меланин, пигмент кој игра заштитна улога за кожата во однос на ултравиолетовото зрачење. Експозицијата на UV зрачење ги стимулира меланоцитите на зголемена продукција на меланин, но, воедно, претставува и главен ризик фактор за малигна трансформација на овие клетки. Како дополнителни ризик фактори се сметаат вештачките UV зраци (солариуми), лицата со светол тен на кожата, светли очи и светла или црвена коса, позитивната фамилијарна анамнеза и намалениот имунитет.

Меланомите се карактеризираат со 2 фази на раст: **радијална и вертикална**. Првата фаза е бавно растечка, се шири центрифугално кон периферијата, трае неколку години и меланомите во оваа фаза речиси и да немаат способност за метастазирање. Втората фаза на раст е вертикална, при што туморот расте како во длабочина, така и кон површината, и се карактеризира со висока способност за метастатско дисеминирање.

Еден од најистакнатите автори на полето на проучување на меланомите, Clark, разликува вкупно 11 типови малигнен меланом: меланом со површинско ширење, лентиго малигна, меланом со неодредена радијарна фаза на раст, нодуларен тип (најмалигна варијанта), меланом во циновски невус, амеланотичен меланом, акрален лентигонозен меланом, меланом на слузници, меланом без видлива примарна лезија, меланом од плав невус, меланом на висцерални органи, останати меланоми со ретка локализација.

Класификацијата на малигните меланоми е според двајца автори: Clark и Breslow. Во однос на вертикалниот раст и длабочината на продирање, Clark разликува 5 микроскопски стадиуми:

- **Стадиум I:** сите туморски клетки се во епидермот, а базалната мембрана не е пробиена – melanoma in situ;
- **Стадиум II:** туморските клетки пробиваат во папиларниот дермис;
- **Стадиум III:** туморските клетки минуваат низ папиларниот дермис и стигнуваат до ретикуларниот дермис;
- **Стадиум IV:** туморските клетки продираат во ретикуларниот дермис;
- **Стадиум V:** туморските клетки продираат во поткожното ткиво;

Според Clark, прогнозата е секогаш полоша во зависност од тоа колку подлабоко подреле туморските клетки. Меѓутоа, Balch и соработниците докажале дека ова тврдење важи само за првиот и евентуално за вториот стадиум на болеста каде што регионалните лимфни јазли не се зафатени со метастатски депозит. Доколку постои метастатски депозит во регионалните лимфни јазли, болеста е веќе во повисок стадиум, и во овој случај **за прогнозата најголемо значење има бројот на зафатени лимфни јазли.**

Според Breslow, меланомите се поделени врз основа на својата дебелина во три стадиуми: дебелина до 0,75 мм – **стадиум I**, дебелина 0,75-1,50 мм – **стадиум II** и дебелина над 1,50 мм – **стадиум III**.

Сепак, и малигните меланоми, како и останатите тумори, се класифицирани според TNM класификацијата.

T CLASSIFICATION	THICKNESS	ULCERATION STATUS
T1	≤1.0 mm	a. Without ulceration and level II/III b. With ulceration or level IV/V
T2	1.01–2.0 mm	a. Without ulceration b. With ulceration
T3	2.01–4.0 mm	a. Without ulceration b. With ulceration
T4	>4.0 mm	a. Without ulceration b. With ulceration
N CLASSIFICATION	NUMBER OF METASTATIC NODES	NODAL METASTATIC MASS
N1	One node	a. Micrometastasis b. Macrometastasis
N2	Two to three nodes	a. Micrometastasis b. Macrometastasis c. In transit Metastasi(e)s/satellite(s) Without metastatic nodes
N3	Four or more metastatic nodes, or matted nodes, or in transit metastasi(e)s/satellite(s) with metastatic nodes	
M CLASSIFICATION	SITE	SERUM LACTATE DEHYDROGENASE
M1a	Distant skin, subcutaneous, or nodal metastases	Normal
M1b	Lung	Normal
M1c	All other visceral metastases Any distant metastasis	Normal Elevated

TNM=tumor-node-metastasis

Сл 9. TNM класификација кај малигнен меланом

Согласно со TNM класификацијата, малигниот меланом може да се наоѓа во неколку стадиуми респективно:

Clinical Staging*				Pathologic Staging+			
0	Tis	N0	M0	0	Tis	N0	M0
IA	T1a	N0	M0	IA	T1a	N0	M0
IB	T1b	N0	M0	IB	T1b	N0	M0
	T2a	N0	M0		T2a	N0	M0
IIA	T2b	N0	M0	IIA	T2b	N0	M0
	T3a	N0	M0		T3a	N0	M0
IIB	T3b	N0	M0	IIB	T3b	N0	M0
	T4a	N0	M0		T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0	IIC	T4b	N0	M0
III	Any T	N>N0	M0	IIIA	T1 – 4a	N1a	M0
					T1 – 4a	N2a	M0
				IIIB	T1 – 4b	N1a	M0
					T1 – 4b	N2a	M0
					T1 – 4a	N1b	M0
					T1 – 4a	N2b	M0
					T1 – 4a	N2c	M0
				IIC	T1 – 4b	N1b	M0
					T1 – 4b	N2b	M0
					T1 – 4b	N2c	M0
	Any T	N3	M0				
IV	Any T	Any N	M1	IV	Any T	Any N	M1

Сл 10. Стадиуми на малигнен меланом

1.4.5.3 Клинички карактеристики

Во најголем број случаи, малигните меланоми се развиваат врз веќе претходно постоечки невус. Многу поретко се појавуваат de novo во регии каде што постои наизглед непроменета кожа. Во клиничката практика се прифатени неколку карактеристики кои предупредуваат на потенцијална можна малигна трансформација на невусите според ABCDE: A (asymmetry), B (border), C (color), D (diameter), E (enlargement) системот.

Боја: во наизглед хомогено кафената боја на невусите, се појавуваат промени во смисла на зони на обезбојување или нагласено пребојување и невусот добива црвенкаста, бледа, плавакаста или црна боја. Беличестите зони означуваат спонтанa регресија на туморот како резултат на имуниот одговор (лимфоцитна инфилтрација) кон истиот.

Граница: станува нерамна, назабена, асиметрична, нејасно ограничена, неправилна, како резултат на местимичната прогресија на туморот и истовремената местимична регресија на истиот.

Површина: станува рапава, нерамна, проминентна и неретко егзулцерирана.

Големина: невусите поголеми од 6 мм во дијаметар имаат повисок ризик за малигна трансформација.

Раст: брз раст на невусот, пропратен најчесто со крварење и егзулцерирација е карактеристика која упатува на потенцијална малигна трансформација на истиот.

За прв пат малигниот меланом е опишан во 1787 година од John Hunter, а во 1968 година за прв пат е виден под микроскоп од страна на Bodenharn. Иако метастазира и хематогено, лимфната дренажа и метастазирањето по лимфен пат се карактеристика на малигниот меланом.

(44)

Во тој контекст, во 1898 година, Snow ја промовира својата теорија за превенција на лимфното метастазирање на меланомот преку елективна дисекција на лимфните јазли.

Во 1955 година, Seaman и Powers за прв пат употребуваат радиообележено колоидни златни партикли за да ги прикажат лимфните дренажни патишта на малигниот меланом. (45)

Morton и Cochran го започнале нивното автентично истражување на сентинелните лимфни јазли со експерименти врз животни во средината на осумдесетите години на минатиот век и подоцна го прошириле истото врз пациенти. Тие ги претставиле резултатите од првите 100 пациенти на Конгресот за меланом на СЗО одржан во Венеција, во 1989 година.

Во 1992 година, Morton et al. го поставуваат концептот за примена на методот за откривање на СЛЈ кај малигниот меланом кај хуманата популација. (46)

Прогнозата кај меланомите зависи од дебелината на туморот во милиметри (Breslow's depth), длабочината поврзана со структурите на кожата (Clark level), типот на меланомот, присуството на улцерации и инвазија, како и од присуството на регионални или дистантни метастази. Кога меланомот е проширен на лимфните јазли, најважни прогностички фактори се **бројот на зафатените нодуси,** како и екстензитетот на нивното зафаќање (микро или макрометастази).

Концептот на СЛЈ кај малигните меланоми е широко прифатена процедура, и дава свој придонес особено за стејџингот на болеста кога се присутни окултни метастази во лимфните јазли, без клинички манифестации на метастатска болест.

Исто така, методот има свој придонес и во проценката на 5 годишното преживување. Доколу е позитивна само една лимфна жлезда на микрометастази, тогаш преживувањето е над 70%, а доколку се зафатени 4 или повеќе лимфни жлезди, преживувањето паѓа на 39%. Резултатите од

мета анализите покажуваат висока сензитивност и специфичност на методот од 97,3% до 98,6%, со лажно негативна рата од 2% до 3,4% и појава на рецидив во 5 годишен интервал кај 7,5% од пациентите кај кои е применет методот за биопсија и екстирпација на СЛЈ. (47)

Најважно е да се потенцира дека овој метод не се применува кај раната фаза, вклучително ниту кај melanoma in situ, T1a или T1b меланомите потенки од ≤ 0.5 mm, бидејќи во овие стадиуми не се очекува метастазирање на меланомот кон лимфните јазли и 5 годишното преживување и без примена на овој метод е над 97%.

Биопсијата на СЛЈ се применува кај пациенти со T1b / T2+ тумори (1-4mm), со клинички негативен лимфен базен, како и N0, M0. Во исклучителни случаи, овој метод може да се примени и кај пациенти со меланом со дебелина под 1 mm, но со висок ризик за метастатска болест (улцерации, повеќе од 1 митоза на mm²), како и кај меланом со дебелина над 4mm (стадиум T4), со клинички негативни лимфни јазли, каде првенствено целта е регионална контрола на болеста и евентуално upstaging што ќе има доминантна улога во одредување на постоперативните онколошки терапевтски протоколи.

Во тек е голема мултицентрична студија MSLT II (multicenter selective lymphadenectomy trial) која треба да го докаже позитивниот **терапевтски ефект** на оперативното отстранување на позитивните СЛЈ, како и ефектот што овие интервенции го имаат на 5 годишното преживување.

1.4.6 Концепт на сентинелен лимфен јазол кај карцином на колон

1.4.6.1 Епидемиологија

Колоректалниот карцином (КРК) е најчестиот карцином кој се јавува во дигестивниот тракт кај луѓето. Во целокупната онкологија,

колоректалниот карцином е на четврто место како по инциденцата на јавување, веднаш зад карциномот на белите дробови, простата и дојка, така и по смртноста. Во Македонија, колоректалниот карцином се јавува со инциденца од околу 25,7 на 100.000 популација. Ова ја вбројува Македонија во групата земји со средна до висока инциденца на ова заболување што одговара и на останатите европски земји. Секоја година нови 500-600 случаи на колоректален карцином се дијагностицираат во нашата земја. Загрижува фактот дека речиси 75% (3/4) од овие случаи, во моментот на дијагностицирањето, се наоѓаат во висок трет стадиум на болеста, односно со метастази во регионалните лимфни јазли. (48)

1.4.6.2. Колоректален карцином - типови и класификација

Колоректалниот карцином (КРК) е болест на високо развиените земји. Најчесто се јавува во шестата или седмата декада, се поврзува со начинот на исхрана и животниот стил, а одредени заболувања (генетски детерминирани) како што се фамилијарната полипоза и улцерозниот колит, носат со себе одреден степен на ризик за развој на овој тип на карцином. Доминантно се работи за аденокарцином којшто може да биде добро, средно или лошо диференциран.

Морфолошки може да се презентира како: ануларен (прстенест), полипоиден (вегетациски), инфилтративен (плато-туморален) или улцерозен тип. Дисеминацијата на колоректалниот карцином може да биде лимфогена или хематогена.

Класификацијата е базирана на интернационално прифатениот TNM систем:

T classification	Primary tumour
TX	Primary tumour cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumour
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : intraepithelial or invasion of lamina propria
T1	Tumour invades submucosa
T2	Tumour invades muscularis propria
T3	Tumour invades through the muscularis propria into pericorectal tissues
T4a	Tumour penetrates to the surface of the visceral peritoneum
T4b	Tumour directly invades or is adherent to other organs or structures
N classification	Regional lymph nodes
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
N0	No regional lymph node metastasis
N1	Metastasis in 1-3 regional lymph nodes
N1a	Metastasis in one regional lymph node
N1b	Metastasis in 2-3 regional lymph nodes
N1c	Tumour deposit(s) in the subserosa, mesentery, or nonperitonealised pericolic or perirectal tissues without regional nodal metastasis
N2	Metastasis in 4 or more regional lymph nodes
N2a	Metastasis in 4-6 regional lymph nodes
N2b	Metastasis in 7 or more regional lymph nodes
M classification	Distant metastasis
M0	No distant metastasis
M1	Distant metastasis
M1a	Metastasis confined to one organ or site (e.g., liver, lung, ovary, nonregional node)
M1b	Metastases in more than one organ/site or the peritoneum

Сл 11. TNM класификација на коло ректален карцином

Stage	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-T2	N1/N1	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3-T4a	N1/N1	M0
	T2-T3	N2a	M0
	T1-T2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
IVA	Any T	Any N	M1a
IVB	Any T	Any N	M1b

Сл 12. Стадиуми на коло ректален карцином

Најважен прогностички критериум кај КРК, претставува дали или не постојат метастази во регионалните лимфни јазли, што би значело болест во трет стадиум.

Кај пациенти во I и II стадиум на болеста денешните препораки укажуваат дека е доволна само хируршка ресекција на туморот со

систематска лимфаденектомија. Кај овие пациенти нема метастази ниту во лимфните јазли, ниту далечни метастази. Пациентите кои се во втор стадиум на болест (без метастази во регионалните лимфни јазли) најчесто не примаат адјуванта хемотерапија. Сепак, кај оваа група пациенти по извесно време доаѓа до појава на локален рецидив на болеста (кај 25-30% од случаите) што укажува или на недоволна хируршка лимфаденектомија или, пак, патохистолошката анализа не успеала да идентификува микрометастаска болест во лимфните јазли што довело до неоправдан downstaging на тие пациенти. (49,50)

Фактот дека пациентите во висок втор стадиум имаат полошо 5 годишно преживување од пациентите во низок трет стадиум бил причина, во 2004 година, Американското здружение за клиничка онкологија да препорача да се земе предвид употребата на хемотерапија и кај пациентите кои се наоѓаат во втор стадиум, а се со висок ризик. (51,52)

Предизвик претставува да се откријат пациентите со КРК во т.н. високо ризичен втор стадиум, чии јазли се тумор - негативни според конвенционалната патохистолошка анализа, но, сепак, имаат висок ризик за повторно појавување на болеста (агресивна биологија на туморот, пропуштена микрометастатска болест, неадекватно отстранување лимфни јазли и / или неточен патолошки стејџинг). Бидејќи адјувантната терапија е диктирана од стадиумот на болеста кој се базира на регионалниот статус на лимфните јазли, разликувањето на пациентите со стадиум II (високо ризичен) и со стадиум III има значително влијание на изборот во лекувањето на овие пациенти, што влијае на нивното преживување и / или ја намалува непотребната токсичност на хемотерапијата кај пациентите кои би се излечиле само со хируршка интервенција.

Кај колоректалниот карцином, потенцијалниот бенефит од методот на одредување на СЛЈ и неговата анализа е различен од оној кај малигниот меланом и кај карциномот на дојка. Имено, тука методот нема за цел да ја

намали или смени хируршката дисекција, туку цели кон правилно откривање и анализа на СЛЈ за добивање точен стејџинг од кој зависи понатамошното онколошко лекување на пациентите.

Друга цел е откривање евентуална аберантна дренажа на туморот, што, пак, би довело до проширување на хируршката дисекција на лимфните јазли и во таа регија (дополнителен лимфен базен на дренажа).

Првата објавена публикација за детекција на СЛЈ кај карцином на колонот потекнува од 1999 година и во истата со употреба на метиленско сино биле мапирани лимфните јазли во ресецираниот примерок. Стапката на детекција изнесувала ниски 70% (кај 35 од вкупно 50 пациенти). Но и покрај првичните демотивирачки резултати, надеж во понатамошните испитувања поттикнува студијата на Универзитетот Флинт во Мичиген изведена со лифазурин сина боја на 86 пациенти, со стапка на детекција од 95%, лажно негативни сентинелни јазли од 5%, абрантана лимфна дренажа кај 7% и стапка на upstaging од 18%. (53)

Резултатите се повторени со голема успешност од John Wayne Cancer центарот, во 2000 година, од Wood et al. каде од вкупно 50 пациенти, кај 47 биле откриени сентинелни лимфни јазли, кои точно го предвиделе нодалниот статус кај 94% од пациентите. (54)

Првата студија со добро разработен дизајн и поголема бројка на испитаници, базирана на детекција на СЛЈ со метиленско сино е студијата на Saha et al. којашто вклучува 86 пациенти и презентира детекциска рата од 95%, лажно негативни СЛЈ 5%, аберантна дренажа кај 7% и upstaging кај 18% од пациентите. Оваа студија докажува дека доколку испитувањето е правилно дизајнирано, доколку методологијата за откривање на СЛЈ и негова патохистолошка анализа се апсолвирани врз база на број на изведени интервенции и кумулирано искуство во тимска работа, доколку се вклучи солидна бројка на испитаници и јасно се дефинираат инклузиите и

ексклузивските критериуми, ќе се добијат валидни истражувачки податоци. (156)

После студијата на Saha et al., повеќе автори презентираат задоволителни резултати на полето на детекција на СЛЈ со метиленско сино, а особено отскокнуваат публикациите на Stojadinovic et al. каде се презентира детекциска рата од 97%, сензитивност од 69%, точност од 90,7% и upstaging од 27% и резултатите од студијата на Bilchik et al. изведена врз 132 пациенти, во период од 2001-2005 година, со детекциска рата од 96% и лажно негативни СЛЈ кај 7,4% од испитаниците. (162,163)

Сепак, иако сите овие публикации презентираат зголемување на детекциската рата на методологијата за откривање на СЛЈ користејќи метиленско сино во однос на првичните студии, метаанализата на Van der Zaag и соработниците од 2012 година, изведена на 57 валидирани публикации, докажува дека сензитивноста на методот со метиленско сино останува релативно ниска од 69,6%, иако детекциската рата е 90,7% и upstaging-от е 18,9%. (166)

Помеѓу првите публикации кои користат радиоколоид за детекција на СЛЈ кај пациенти со КРК е студијата на Merrie AE et al., од 2001 година, каде е користен антимион сулфид маркиран со ^{99m}Tc и презентирани е детекциска рата од 88% и ниска сензитивност од 55%. (172)

Со подобрување на дизајнот на студиите, следуваат публикациите кои презентираат значително подобрување на сензитивноста и детекциската рата. Таква е студијата на de Naas RJ et al., од 2012 година, со детекциска рата од 100%, точност од 83%, сензитивност од 67% и upstaging од 7%. (168)

Првата студија која прикажува валидни резултати прифатливи за клиничката практика е студијата на Scheltinga et al. каде што авторите користат Technetium albumin colloid (Nanocoll) маркиран со ^{99m}Tc , аплициран ex vivo. Оваа студија презентира детекциска рата од 92,5%, точност од

95,6%, сензитивност од 85,7%, негативна предиктивна вредност од 93,9% и upstaging од 8,2%. (167)

Првата студија која користи радиоколоид аплициран **преоперативно,** **ендоскопски,** субмукозно, in vivo, е изведена од старана на Kitigawa et al. врз 56 пациенти и презентира валидни резултати со детекциска рата од 91%, точност од 92% и лажно негативни СЛЈ кај 4% од пациентите. (169)

2.0 МОТИВ за изработка на студијата

Долгогодишната успешна примена на постоечките колоидни радиофармацевтици на нашиот институт и искуството стекнато во областа за неинвазивната *in vivo* дијагностика на лимфниот систем и лимфната циркулација, беа поттик да се започне студијата за откривање на сентинелен лимфен јазел - ``жлезда стражар``

Како примарен мотив се наметна:

- Потребата од етаблиран дијагностички модалитет и алгоритам за навремена, прецизна и минимално инвазивна потврда на присуство на евентуална метастатска/микростатска болест;

Како дополнителен мотив се наметна:

- Можноста да се проценат ефектите од воведувањето на концептот на сентинелниот лимфен јазол во хируршките протоколи врз дијагностичкиот и терапевтскиот тек кај раната фаза на карциномот на дојка, малигниот меланом и коло-ректалниот карцином;
- Развивање на концептот на радионасочена хирургија;

3.0 ЦЕЛИ на истражувањето

- Да се воведи нуклеарно медицински метод за откривање сентинелен лимфен јазол со радио колоид обележан со ^{99m}Tc кај ран стадиум на карцином на дојка, малигнен меланом и колоректален карцином.
- Да се стандардизира и валидира методот за откривање сентинелен лимфен јазол со радио колоид обележан со ^{99m}Tc кај ран стадиум на карцином на дојка, малигнен меланом и колоректален карцином - да се покажат сензитивноста, специфичноста, точноста, позитивната и негативната предиктивна вредност на методот.
- Да се инкорпорира методот за откривање сентинелен лимфен јазол со радио колоид обележан со ^{99m}Tc кај ран стадиум на карцином на дојка, малигнен меланом и колоректален карцином во соодветните хируршки оперативни гајдлајнси и протоколи.
- Да се постави корелација помеѓу дијагностичката точност на модерниот нуклеарно медицински радиоколоиден метод за откривање на сентинелниот лимфен јазол и методот со примена на метиленско сино.
- Да се инкорпорира нуклеарно медицинскиот метод за откривање на сентинелниот лимфен јазол во научно истражувачки трудови и проекти.

4.0 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

4.1 *Дизајн на студија:* проспективна, лонгитудинална, рандомизирана, интервенциска.

4.2 МАТЕРИЈАЛ

Проспективно се анализирани 270 пациенти (110 пациенти со дијагностициран карцином на дојка, 110 пациенти со дијагностициран малигнен меланом и 50 пациенти со дијагностициран колоректален карцином). Од сите пациенти беше потпишана двојна информирана согласност, една на соодветната хируршка клиника, а втората на Институтот за нуклеарна медицина.

4.2.1 Пациенти со карцином на дојка: студијата вклучи пациенти на 18+ годишна возраст со патохистолошки верифициран карцином на дојка на Клиниката за торакална хирургија-Скопје.

Сите пациенти според **инклузиски критериум** беа класифицирани како:

- T1-2; N0; M0;
- Унифокален / унилатерален карцином
- Клинички и ултрасонографски негативни аксиларни лимфни жлезди

Како **ексклузиски критериуми** беа:

- T3 стадиум
- N1 стадиум

- M1 стадиум
- Мултифокален/билатерален карцином
- Инфламаторен тип на карцином
- Предоперативна хемо или зрачна терапија
- Бременост

Беше спроведена крива на учење кај 30 пациенти со карцином на дојка (инклузиските критериуми беа запазени во целост). Кај сите пациенти, без оглед дали сентинелниот лимфен јазел беше позитивен на метастази / микрометастази или не, беше изведена хируршка процедура на радикална аксиларна лимфаденектомија.

По комплетирање на кривата на учење, во студијата беа вклучени уште 80 пациенти од кои 60 беа анализирани со планарна сцинтиграфска методологија, а 20 со SPECT/CT методолошка техника. (функционална и морфолошка дијагностика) на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина-Скопје

4.2.2 Пациенти со малигнен меланом: студијата вклучи пациенти на 18+ годишна возраст со патохистолошки верифициран малигнен меланом на Клиниката за пластична хирургија-Скопје.

Сите пациенти според **инклузиски критериум** беа класифицирани како:

- T1b/T2+ тумори (1-4mm), N0, M0
- 0,75-1mm каде постои егзулцерација на туморот и висок митотски индекс- над 1 митоза на мм/2
- Подебели од 4 мм, со клинички негативни лимфни јазли

Како **ексклузивни критериуми** беа:

- T4 стадиум, со клинички позитивни лимфни јазли
- N1 стадиум
- M1 стадиум
- Пациенти со широка ексцизија и реконструкција со можна нарушена лимфна дренажа
- Бременост
- Коморбидитет каде биопсијата на СЛЈ може да биде ризик за влошување на состојбата

Беа спроведена крива на учење кај 30 пациенти со малигнен меланом (инклузивните критериуми беа запазени во целост). По комплетирање на кривата на учење, во студијата беа вклучени уште 80 пациенти од кои 60 беа анализирани со планарна сцинтиграфска методологија, а 20 со SPECT/CT методолошка техника. (функционална и морфолошка дијагностика) на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина-Скопје

4.2.3. Пациенти со колоректален карцином: студијата вклучи пациенти на 18+ годишна возраст со ендоскопски (колоноскопски) и патохистолошки верифициран колоректален карцином, без предоперативно детектирани лимфни јазли на СТ или MRI, на Клиниката за абдоминална хирургија-Скопје.

Сите пациенти според **инклузивни критериум** беа класифицирани како:

- T1-2, N0, M0 – особено пациенти со висок T2 стадиум

Како ексклузивни критериуми беа:

- На предоперативниот staging на болеста кај пациентот да се откријат блиски или далечни метастази, односно сите пациенти со предоперативен III или IV стадиум на болест.
- Доколку пациентот заради големината или локацијата на карциномот, предоперативно бил третиран со неoadјувантна хемо-радиотерапија.
- Сите пациенти со ASA IV скор.
- Иако иницијално предоперативно вклучени, од студијата беа исклучени и сите пациенти кај кои интраоперативно се констатираше јасна, макроскопска инфилтрираност на регионалните лимфни јазли со висока суспекција за метастатска болест, доколку се констатираа метастази кои предоперативно не биле откриени или доколку се пронајде микроскопска карциноза на перитонеумот.
- Бременост

Беше спроведена крива на учење кај 10 пациенти (инклузивните критериуми беа запазени во целост). По комплетирање на кривата на учење, во студијата беа вклучени уште 80 пациенти, од кои, 40 пациенти како контролна група за компарација на 5 годишно преживување и период без рецидив на болеста (не беше спроведена методата за детекција на СЛЈ и беа третирани само конвенционално-хируршки) и 40 пациенти кај кои што беше спроведена детекција на СЛЈ, детална хистопатолошка анализа -ultrastaging и

истите беа анализирани со планарната сцинтиграфска методологија на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина-Скопје.

4.3 МЕТОДИ

Предоперативно, на сите пациенти им беше изведен методот за детектирање на сентинелен лимфен јазел (4 часа предоперативно за пациентите со малигнен меланом и карцином на дојка, а 17-24 часа предоперативно за пациентите со колоректален карцином) со што едновремено се направи и мапирање на лимфната дренажа (**динамска сцинтиграфија**).

Сцинтиграфската детекција на сентинелен лимфен јазел се базираше на предоперативна супкутана (интрадермална) / перитуморска / субмукозна / интратуморска апликација на ^{99m}Tc -SENTI-SCINT во доза од 4 mCi (150 MBq) поделена во 4 поединечни дози (секоја доза по 1mCi / 37 MBq соодветно) кои се аплицираат на 4 посебни места периареоларно, перитуморски и / или интратуморски респективно. (кај пациенти со карцином на дојка - **периареоларна (интрадермална) и перитуморска** апликација со фокус на можна дренажа од сите 4 квадранти на дојката под агол од 90°, независно од локализацијата на примарниот тумор; кај пациенти со малигнен меланом – **интрадермална и перитуморска** апликација со фокус на можна дренажа во сите 4 квадранти од кои секој под агол од 90°; кај пациенти со КРК – **субмукозна пери- и интратуморска** апликација со фокус на можна дренажа во сите 3 зони под агол од 120° и една доза директно интратуморски).

Со оглед дека се работи за радиотрасер, запазени се принципите на ALARA (as low as reasonable achievable) најмала можна доза / најдобар дијагностички приказ, со цел да се максимизира cost / benefit ефектот, а да се сведе радијационото оптоварување на пациентот на минимум.

SENTI-SCINT е комерцијален кит на MEDI-RADIOPHARMA LTD. Hungary, кој се состои од честички на хуман серум албумин nano sized colloid во форма на стерилен лиофилизиран прашок, со дијаметар 100-600 nm, коишто се маркираат со ^{99m}Tc -pertechnetate.

- **Добивање на ^{99m}Tc -pertechnetate**

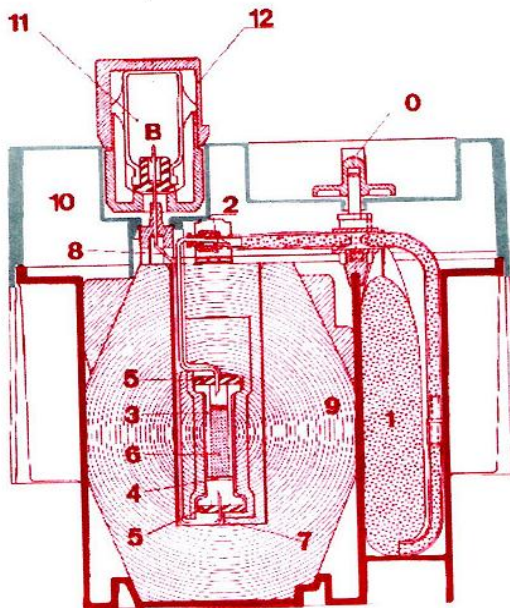
Во дијагностичката нуклеарна медицина како радиоактивен изотоп најголема примена наоѓа радиоактивниот метастабилен технециум - ^{99m}Tc кој според физичките карактеристики најоптимално ги исполнува критериумите за таа намена. Технециумот се добива од молибденско-технециумскиот ($^{99}\text{Mo} / ^{99m}\text{Tc}$) генератор (слика 1), кој базира на принципот на **радиоактивна низа** и сукцесивна претворба на изотопите од истата.

Радиоактивниот распад по дефиниција претставува процес на претворба на нестабилните радионуклиди во помалку нестабилна или целосно стабилна состојба преку емисија на честички и/или електромагнетно зрачење. При радиоактивното распаѓање на радионуклидите најчесто и продуктот на распадот, исто така, е радиоактивен, при што, по соодветната радиоактивна емисија, се конвертира во друг атом, се додека не се добие стабилен (нерадиоактивен) атом. На овој начин се одвива радиоактивната претворба на радиоактивните изотопи формирајќи на тој начин **радиоактивни низи**.

Радиоактивните атоми кои се дезинтегрираат по пат на соодветна емисија се нарекуваат "**радиоактивни родители (предци)**", додека атомите кои се производ на дезинтеграцијата на предците се нарекуваат "**радиоактивни потомци**". Важно е да се потенцира дека, најчесто радиоактивниот потомок се разликува од неговиот радиоактивен родител и по хемиските карактеристики, што овозможува негово релативно едноставно и ефикасно издвојување (сепарирање). Постојат генераторски системи за

добивање како на дијагностички, така и на терапевтски радионуклиди. Од нив во нуклеарната медицина најголема примена имаат $^{99}\text{Mo} / ^{99\text{m}}\text{Tc}$ и $^{188}\text{W} / ^{188}\text{Re}$ генератор за дијагностичка и терапевтска намена соодветно.

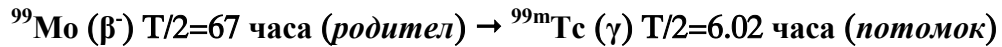
Кај $^{99}\text{Mo} / ^{99\text{m}}\text{Tc}$ генератор, изотопот ^{99}Mo претставува радиоактивен родител на $^{99\text{m}}\text{Tc}$, а се добива од нуклеарни реактори од каде се изолира по хемиски пат, додека пак, во генераторскиот систем е адсорбиран на хроматографска колона исполнета со Al_2O_3 . Поради слабиот афинитет за врзување на Al_2O_3 , изотопот-потомок ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) релативно лесно се одвојува по пат на елуција со физиолошки раствор (0.9% NaCl), при што неговата финална радиохемиска форма е *натриум пертехнетат* ($\text{Na} ^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) каде што истиот се наоѓа во седмовалентна (+7) состојба.



1. Воден раствор на 0.9% NaCl 0.005% NaN_3 за елуција на генераторот
2. Неоксидирачка игла која е дел од системот за елуција
3. Стаклена хроматографска колона
4. Филтер кој служи за задршка на содржината на алуминиумот кој е во колоната
5. Метални капсули за затворање на стаклената колона
6. Прашок од алуминиум оксид (Al_2O_3) на кој е адсорбиран молибденот (^{99}Mo)
7. Излезна игла на која се поставува шишенцето за елуција
8. Систем низ кој се врши елуција

Сл 1. Шематски приказ на радионуклиден $^{99}\text{Mo} / ^{99\text{m}}\text{Tc}$ генератор

Нуклеарната реакција која се одвива во генераторот е следната:



На овој начин се добива ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ кој е чист гама емитер со енергија на зрачењето 100-400 KeV, а преовладува гама емисијата со енергија од 137-140 KeV, најоптимална за дијагностичките нуклеарно медицински испитувања. Ниската енергија на гама емисијата и релативно краткиот период на полураспад овозможува изведување на многу клинички значајни испитувања со минимално озрачување на испитаниците (ALARA принцип). Технециумот добиен од ${}^{99}\text{Mo}$ / ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ генератор може директно да се користи како радиофармацевтик или да служи за радиоактивно обележување на разни компоненти со специфична биодистрибуција.

- Примена на NANOCIS (Rhenium Sulphide colloid) како радиофармацевтик за детекција на СЛЈ

При детектирањето на СЛЈ во нашата пилот студија (кај карцином на дојка) беше користен Re-S-colloid (Rhenium Sulphide colloid) обележен со ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ кој е комерцијално достапен како NANOCIS (CIS bio international, France). Китот се состои од сите не-радиоактивни реагенси потребни за приготвување на радиофармацевтикот, а кои се содржани во два стаклени флакони (А и Б), за радиоактивно обележување со ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ во форма на натриум пертехнетат ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$). Во флаконот А, освен стабилизирачките помошни супстанции (Gelatin, Ascorbic ac., Sodium hydroxide, Conc. hydrochloric ac., dd H_2O pro inj.) се содржи и активната компонента **рениум сулфид**, и тоа: 0,15 mg елементарен рениум и 0,24 mg Re_2S_7 , како 1ml стерилен и апроген расвор, во азотирана атмосфера. Во флаконот В се содржат компонентите

кои ја овозможуваат реакцијата на радиоактивно обележување со ^{99m}Tc : $\text{H}_{20}\text{Na}_4\text{O}_{17}\text{P}_2$ (Sodium pyrophosphate decahydrate), $\text{Cl}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{Sn}$ (Stannous chloride dehydrate), како и NaOH.

Постапка на радиоактивно обележување: Најпрво, со асептична постапка во флаконот В се внесуваат 2 ml dd H_2O pro inj., при што со промешување на флаконот се врши растворање на компонентите. По оваа постапка, во флаконот А се внесуваат 5 ml од содржината на флаконот В. По кратко промешување, во флаконот А се додаваат 1-2 ml технециумски елуат со радиоактивност од 370 до 555 MBq. Флаконот А се поставува во стаклена чаша со вриечка вода (100°C) во временски интервал од 15 до 30 минути, без оловниот штитник. На крајот од оваа постапка, флаконот се лади под млаз ладна вода.

Контролата на квалитет на радиоактивно обележениот радиофармацевтик подразбира определување на неговата радиохемиска чистота со асцендентна хартиена хроматографија со *Whatman-ова хартија* и *метилетилкетон* како мобилна фаза.

Важно е да се напомене дека при целокупната постапка, освен што императивно се запазува принципот на асептичност, од исклучителна важност за ефикасноста на радиоактивното обележување е и запазувањето на безкислородните услови. Тоа, пред сè, подразбира на било кој начин да не биде внесен воздух при поединечните манипулативни чекори од постапката, со што би се реоксидирал претходно редуцираниот технециум. На тој начин би се нарушила стабилноста на формируваниот хемиски комплекс меѓу технециумот и соодветниот лиганд, и ќе биде причина за зголемување на процентот на слободен технециум како една од формите на радиохемиска нечистотија.

- **Радиоактивно обележување на радиофармацевтикот SENTI-SCINT**

За радиоактивно обележување на еден флакон од комерцијалниот радиофармацевтик SENTI-SCINT потребни се 1-5ml стерилен елуат на ^{99m}Tc со максимална радиоактивност од 5.5 GBq. Постапката на радиоактивно обележување-маркирање се спроведува во радиофармацевтска лабораторија по стандардна процедура што подразбира запазување на строго асептични услови и избегнување контакт на компонентите со кислород кој би го дестабилизирал технециумскиот комплекс на радиофармацевтикот. Инкубацијата на радиофармацевтикот по додавањето на технециумскиот елуат се одвива на собна температура (20-25°C) и трае околу 20 минути, а пред сепарирањето на поединечните дози препаратот лесно се промешува заради хомогена распределба на колоидните партикли.

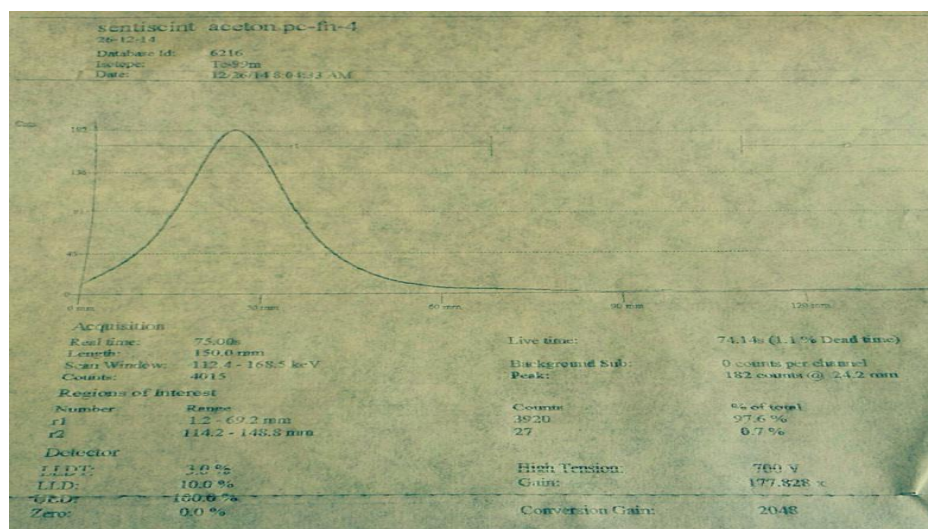
Како **контрола на квалитет** на радиофармацевтикот се определуваше неговата **радиохемииска чистота**, што подразбира определување процент на врзување на радионуклидот за соодветниот лиганд наспроти вкупната радиоактивност на изотопот која се употребила. Како алтернативни форми на **радиохемииска нечистотија** при радиоактивното обележување на технециумските радиофармацевтици, можат да се јават ***слободниот технециум*** и неговата ***хидролизирана форма***. Според критериумите пропишани во *фармакопеја*, над 95% од вкупната технециумска радиоактивност треба да е врзана за соодветниот лиганд, додека само под 5% е дозволено да биде детектирана во другите две радиохемииски форми: слободен и хидролизиран технециум.

Определувањето на наведените фракции, според препораките на производителот, се изведуваше со асцендентна тенкослојна хроматографија, на силика гел ленти и ацетон како мобилна фаза. По развивањето на хроматограмот, распределбата и квантификацијата на фракциите се вршеше автоматски со гама хроматограмски скенер - Veenstra Chromatogram Scanner VCS-101. (слика 2)



Сл 2. Гама хроматограмски скенер - Veenstra Chromatogram Scanner VCS-101

Инструментот претставува модуларен систем наменет за скенирање и анализа на тенкослојна и хартиена хроматографија при радиохемиска контрола на квалитет на радиофармацевтски препарати. (слика 3)



Сл 3. Приказ на резултат од асцендентна тенкослојна хроматографија

- **Методолошки протокол**

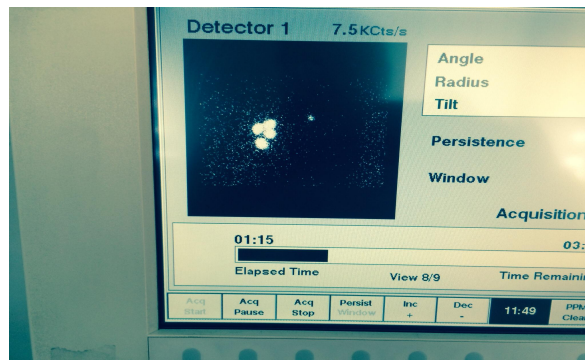
Инјектираниот волумен по место на апликација не би требало да надмине 0,2-0,3 мл, а од особена важност е апликацијата да е строго субкутана (интрадермална) / субмукозна и да се одбегне крвен сад. Доколку радиотрасерот инцидентно се аплицира интраваскуларно, биодистрибуцијата на колоидните партикли ќе се промени и ќе се добие доминантно приказ на органите од РЕС системот, а студијата за детекција на сентинелен лимфен јазел ќе биде неуспешна.

По апликацијата на трасерот, следи динамска аквизиција во тек на 30 мин, 30 фрејма, 60 секунди по фрејм, на матрица 256 x 256 x 16 (овозможува визуализација и мапирање на лимфните патишта / лимфната дренажа), на која се надоврзуваат статички аквизиции (300 секунди по позиција за карцином на дојка и 600 секунди по позиција за малигнен меланом и КРК, на матрица 256 x 256 x 16) за приказ на СЛЈ во AP, AL и AO позиции (на 30 мин., 1 и 2 часа по апликација кај карцином на дојка и малигнен меланом и на 30 мин, 1, 2 и 24 часа по апликација кај КРК) користејќи двоглава гама камера од типот Mediso DHV Nucline Spirit. Контурите на телото се исцртуваат со кобалтен извор Featherlite Co⁵⁷ flood source MED 3709, а детекцијата на сентинелниот лимфен јазел е со гама камера, точкаст кобалтен маркер Co⁵⁷ и со гама детекторска сонда EUROPROBE SYSTEM CE 0459.

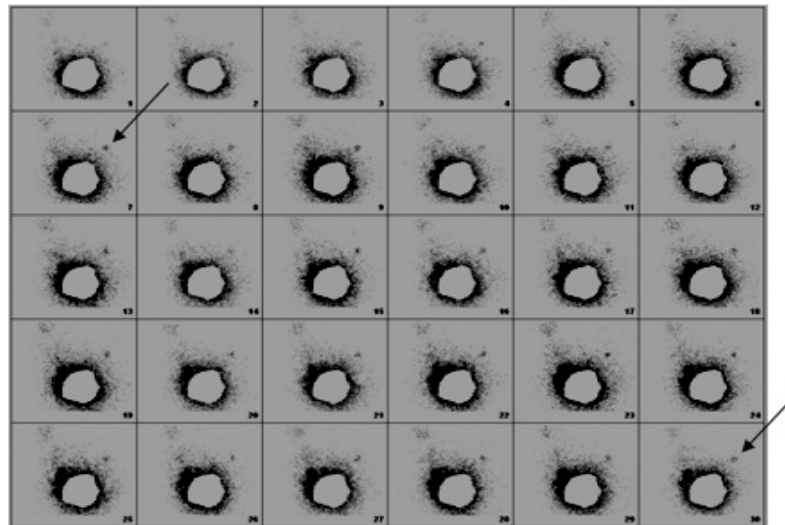


Сл 4. Mediso DHV Nucline Spirit гама камера

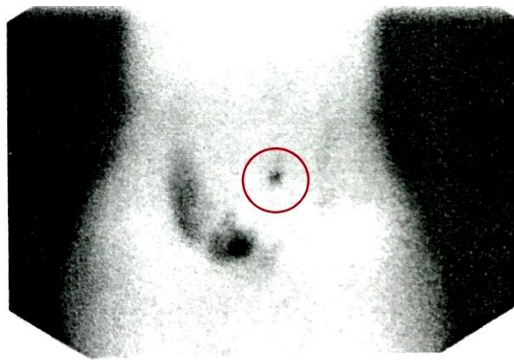
Субкутано (интрадермално) / субмукозно инјектираните честички на ^{99m}Tc -SENTI-SCINT се филтрираат во лимфните капилари и преку лимфните садови се транспортираат до регионалните лимфни јазли каде дефинитивно се заробени од ретикуларните клетки. Токму овој механизам овозможува детекција на радиоактивноста во СЛЈ и негова прецизна локализација со гама камера и гама детекторска сонда.



Сл 5. Приказ на СЛЈ и место на апликација (статичка аквизиција)



Сл 6. Динамска скинтиграфија (кај КРК) со рана презентација на СЛЈ



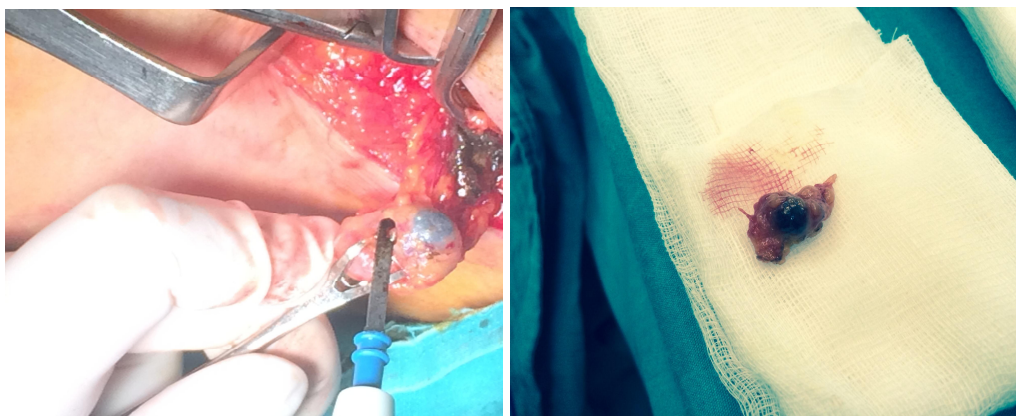
Сл 7. Статички сцинтиграми со исцртани телесни контури и приказ на СЛЈ (кај КРК и карцином на дојка-аксиларна и интрамамарна презентација)

Предоперативно, гама детекторската сонда служи за квантитативно регистрирање на активноста (импулси во 10 секунден временски интервал) над местото на апликација, на фонот (радиоактивност од околината) и над местото на сентинелниот лимфен јазол. На кожата се исцртуваат 2 маркери (еден во АР положба и еден во АО/АЛ соодветно), врз основа на кои хирургот ја детерминира локализацијата на примарната инцизија за соодветен оперативен пристап и отстранување на сентинелниот лимфен јазел.



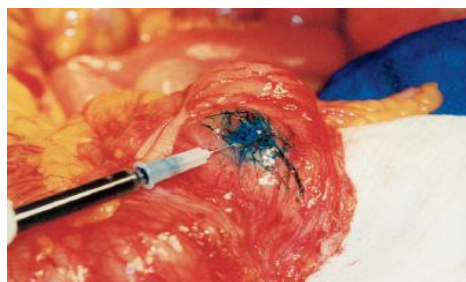
Сл 8. Приказ на гама детекторска сонда

Интраоперативно, гама детекторската сонда служи за **радионасочена хирургија** и точно детерминирање на локацијата на СЛЈ, квантитативно детерминирање на активноста во отстранетиот СЛЈ, како и за квантитативно определување на активноста во базенот на лимфниот јазел по неговото отстранување **(во базенот не смее да се детектира активност поголема од 10% од активноста на СЛЈ по неговата екстирпација, во спротивно се трага по дополнителни СЛЈ).**



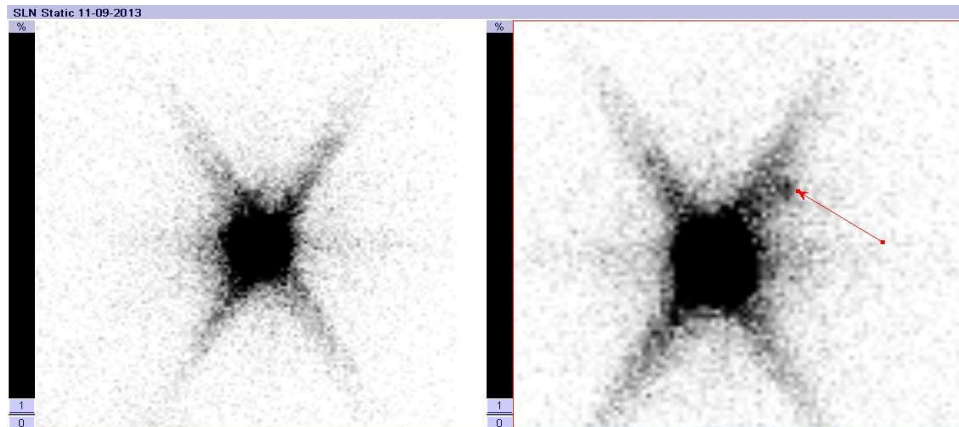
Сл 9. Детектиран СЛЈ интраоперативно (пребоен со метиленско сино)

Сензитивноста и специфичноста на методот за детекција на сентинелниот лимфен јазол е зголемена со примена и на стерилен раствор на метиленско сино со волумен од 5 до 10 мл, аплициран соодветно интрадермално или субсерозно 15-30 минути пред оперативната процедура.

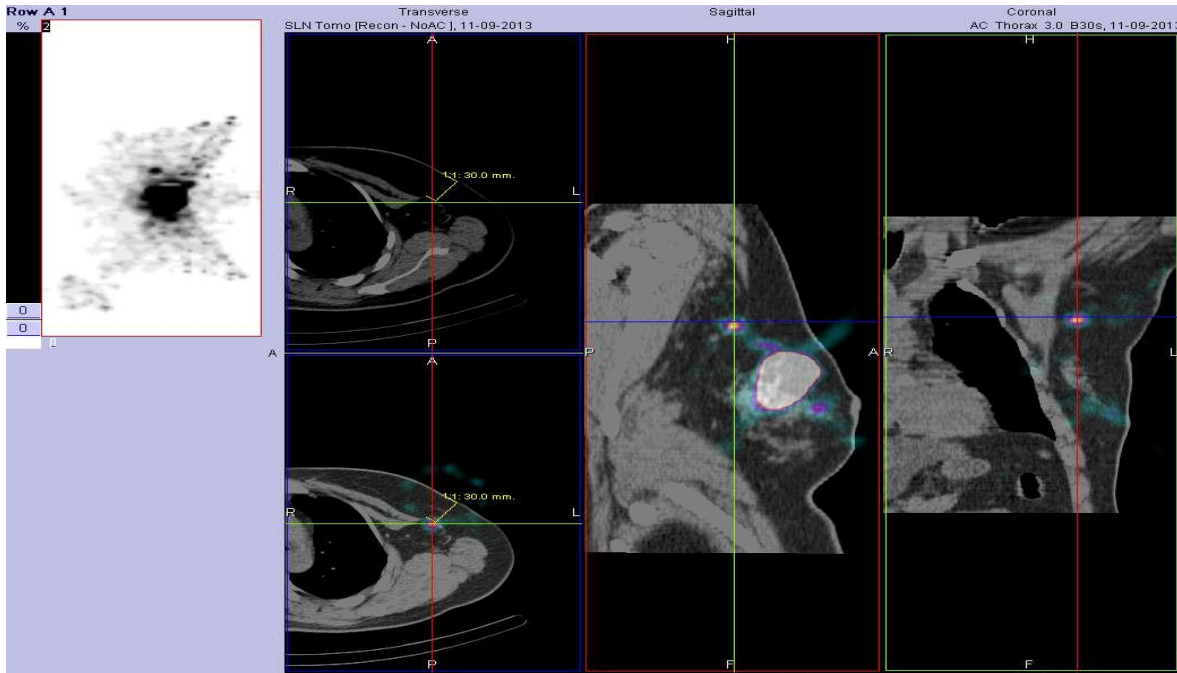


Сл 10. Субсерозна апликација на метиленско сино

Дополнителна прецизност на методот за детекција на СЛЈ кај пациентите со карцином на дојка и малигнен меланом, како во насока на зголемување на детекциската рата, така и во насока на егзактна анатомска локализација, се постигна со примена на хибридниот SPECT/CT модалитетот (функционална и морфолошка дијагностика), користејќи Optima NM/CT 640 GE Healthcare dual detector/4-slice CT гама камера.



Сл. 11. Планарна (2D) сцинтиграфија



Сл. 12. SPECT (3D) и SPECT/CT сцинтиграфија

СЕНТИНЕЛНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ – ПРОТОКОЛ ЗА АКВИЗИЦИЈА

Камера **MEDISO-DHV**

1. Динамика:

- позиција: AP
- време: 30 фрејма во траење од 60 секунди
- матрица: 256 x 256 x 16

2. Статика:

- позиции: AP, AL, AO (на 30 минути, 1 час и 2 часа)
- време: (300 секунди дојка, 600 секунди меланом и колоректален карцином)
- матрица: 256 x 256 x 16

Камера **ОПТИМА NM/СТ 640 (SPECT/СТ)**

1. Емисиски скен (NM):

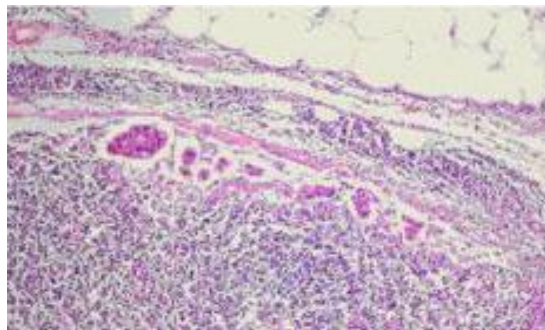
- матрица: 128 x 128
- метод: step and shoot
- агол на ротација: (вкупен агол на ротација 360°; агол по детектор 180°; број на позиции 60; агол по позиција 6°)

2. Трансмисиски скен (СТ):

- матрица: 512 x 512
- патека на ротација: хеликоида
- време на ротација: 1 секунда
- хеликоида на поместување: 1,25
- дебелина на слајс (пресек): 2,5 мм
- растојание помеѓу пресеци: 2,5 мм
- ширина на видно поле: 50 см

4.3.1 Хистолошка анализа

Хистопатолошката евалуација на екстирпираниот сентинелен лимфен јазел опфати рутинско hematoxylin и eosin (H&E) пребојување, како и сериско анализирање на пресеците и имунохистохемиски анализи за детекција на метастатски депозити. За имунохистохемија беа користени следниве антитела: кај карцином на дојка беа користени СК (AE1/AE3) или СК7, кај малигнен меланом - Melan A (melanoma antigen recognised by T cells – MART-1), HMB 45 и S100, а кај КРК - СК20, СЕА и ЕМА. Се користеше техника на примарно и секундарно антитело, Avidin Biotin Immunoperoxidase complex и боена реакција со diaminobenzidine tetrachloride (DAB), додека, пак, визуализацијата беше на EnVision (Dako, Denmark) визуализациски систем. За да се избегнат лажно позитивни резултати (од детекција на ретикуларни клетки или плазма клетки), цитокератин позитивните клетки се сметаа како туморски само доколку микроскопски исполнуваа цитоморфолошки карактеристики на малигни клетки. Сите метастази со големина над 2 мм беа означени како метастатски депозити (Nma), од 0,2 до 2 милиметри претставуваа микрометастази (ММ)-(Nmi), а оние помали од 0,2 милиметри претставуваа изолирани туморски клетки (ИТК)-(Nic). Анализите беа извршени на Институтот за Патолошка анатомија - Скопје.



Сл 13. Супкапсуларен метастатски депозит во СЛЈ

5.0 СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА И ПРЕЗЕНТАЦИЈА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Во зависност од добиените резултати се користеа соодветни статистички програми.

Од дескриптивната статистика беа користени мерките на централна тенденција и варијабилитет (средна вредност, стандардна девијација). Разликите помеѓу одредените временски точки, како и разликите помеѓу групите беа анализирани со Студент - ов " т " тест за зависни - односно независни примероци и еднофакторната и мултифакторната анализа на варијанса ANOVA и MANOVA.

Корелациите меѓу вредностите на поединечните параметри на испитувањето беа изразени преку Person - ов коефициент на корелација (r). Како статистички сигнификантни беа земени разликите за $p < 0,05$. Податоците беа обработени со статистички програми Statistica for Windows 8,0 и SPSS 17,0.

Статистичките серии (сите дефинирани варијабли) се табеларно и графички прикажани. Структурата на нумеричките статистички серии е анализирана со помош на мерките на централна тенденција (просек) и мерките на дисперзија (стандардна девијација). Анализата на односите меѓу нумеричките статистички серии беше направена со помош на Pearson-овиот коефициент на корелација (r). Структурата на атрибутивните статистичките серии беше анализирана со помош на односи и пропорции. Анализата на односите меѓу

атрибутивните статистички серии е направена со помош на Pearson-овиот χ^2 - test, а доколку станува збор за неправилна дистрибуција, со Fisher - exact test. Тестирањето на значајност на разлики меѓу две аритметички средини кај зависните примероци (во испитуваните групи) е направено со Student-ов t - test за зависни примероци, а доколку стануваше збор за неправилна дистрибуцијата, со непараметарскиот Wilcoxon – ов тест на еквивалентни парови. Тестирање на значајност на разлики меѓу две аритметички средини кај независните примероци (помеѓу испитуваните груп) е направено со Student-овиот t - test за независни примероци, а доколку стануваше збор за неправилна дистрибуција со непараметарскиот Mann - Whitney U - test. Тестирање на значајноста на разликите меѓу три и повеќе аритметички средини се направи со анализа на варијанса (ANOVA). Здруженото влијание на независните варијабли врз зависната варијабла од интерес, како и поврзаноста помеѓу зависната варијабла и системот на предикторски (независни) варијабли беше анализирано со мултиплата регресиска анализа (коефициент на мултипла корелација – R) .

6.0 РЕЗУЛТАТИ

6.1 КАРЦИНОМ НА ДОЈКА

Пред пристапување кон главната студија, од 2004 до 2006 година, беше спроведена пилот студија (крива на учење согласно со препораките на ASCO – American Society for Clinical Oncology и SSO – Society for Surgical Oncology) кај 30 пациенти, на возраст од $52,8 \pm 10,3$ години, класифицирани предоперативно како T1-2, N0, M0 карцином на дојка (потврдени со мамографија и core биопсија), без клинички или ултрасонографски зголемени аксиларни лимфни јазли. Детекцијата на СЛЈ беше изведена со примена на 1% раствор на метиленско сино (indigo carmine) и Re-S-colloid-^{99m}Tc трасер (in house продуциран) со дијаметар на колоидните партикли 200–300 nm. Хистопатолошката евалуација на екстирпираниите СЛЈ опфати рутинско (H&E) хематоксилин–еозин пребојување и имунохистохемиска анализа на истите. Независно од статусот на СЛЈ (позитивен на метастази / микрометастази или негативен), кај сите 30 пациенти, освен екстирпација на примарниот тумор и СЛЈ, беше изведена и комплетна аксиларна лимфаденектомија, со цел да се процени валидноста на методот за предикција на статусот на аксиларните лимфни јазли.

Првичните резултати на пилот студијата презентираа детекциска рата од 100% (кај сите пациенти беше детектиран СЛЈ) и локализацијата на СЛЈ беше ексклузивно аксиларна. Хистопатолошката анализа на СЛЈ и на останатите лимфни јазли од аксиларниот базен ја прикажа следната дистрибуција: вистински позитивни СЛЈ (СЛЈ позитивен и / или некој од останатите регионални ЛЈ позитивен) беа 13, вистински негативни (СЛЈ негативен и останатите регионални ЛЈ негативни) беа 16, лажно негативни (СЛЈ негативен, но некој од регионалните ЛЈ позитивен) беше 1 и лажно позитивни СЛЈ не беа детектирани. (табела 1)

Позитивни ЛЈ		Негативни ЛЈ	
Вистински (+) - a	13	Вистински (-) - d	16
Лажно (-) - c	1	Лажно (+) - b	/
<i>Вкупно</i>	14		16

Табела 1. Детектирани и хистопатолошки анализирани СЛЈ

Врз основа на овие резултати, беа пресметани статистичките параметри за проценка на валидноста на методот, при што, базирано на пилот студијата, се презентираше сензитивност на методот од 93%, специфичност од 100%, точност од 96,6%, негативна предиктивна вредност од 94,1% и лажно негативна рата од 3,3%. (табела 2)

Параметар	Формула	Вредност
Сензитивност	$[a / (a+c)] \times 100$	93%
Точност	$[(a+d) / (a+b+c+d)] \times 100$	96,6%
Негативна предиктивна вредност	$[d / (d+c)] \times 100$	94,1 %
Детекциска рата	$30/30 \text{ pt} \times 100$	100%

Табела 2. Статистички параметри врз основа на анализираниите СЛЈ

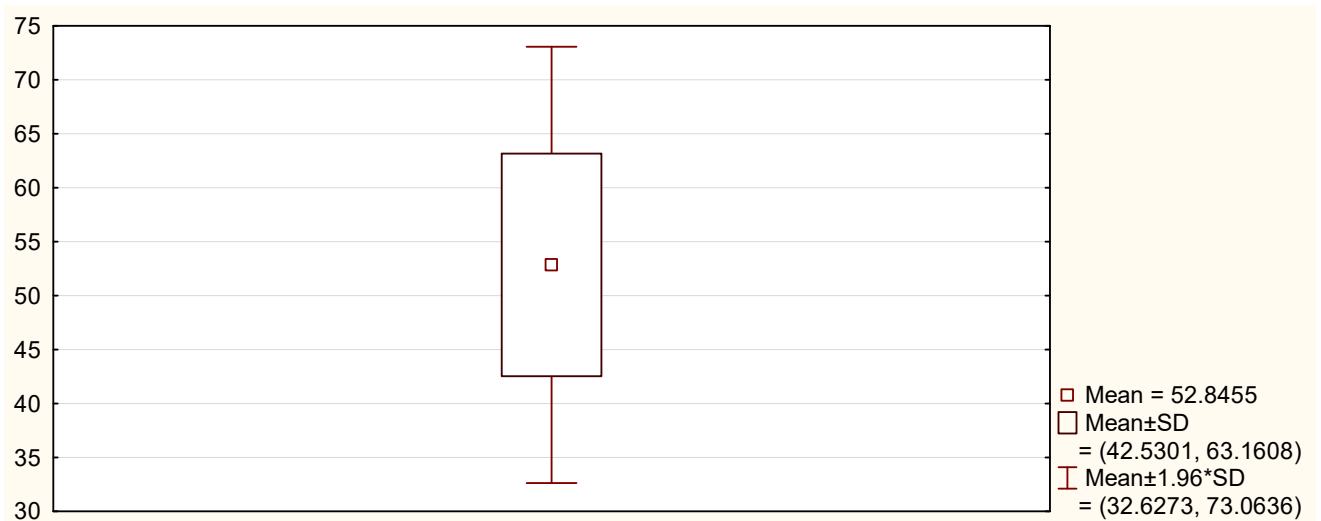
Првичните резултати од кривата на учење покажаа валидност на методот и корелираа со податоците објавени во литературата, со што беа основа за спроведување на главната студија и воведување презервирачка минимално инвазивна хируршка техника за аксиларниот лимфен базен.

Главната студија вклучи 80 пациенти, на возраст $52,8 \pm 10,3$ години, класифицирани преоперативно како T1-2, N0, M0 карцином на дојка (потврдени со мамографија и core биопсија), без клинички или ултрасонографски зголемени аксиларни лимфни јазли. Сите 110 пациенти со карцином на дојка се од женски пол. Просечната возраст на пациентките со карцином на дојка изнесува $52,8 \pm 10,3$ години, минимум 29, а максимум 77 години. (табела 3 и график 1)

Табела 3. Приказ на просечната возраст на пациентките со карцином на дојка

број	Просек	минимум	максимум	Стд.Дев,
110	52,8	29,0	77,0	10,31538

Графикон бр 1 Приказ на просечната возраст на пациентките со карцином на дојка



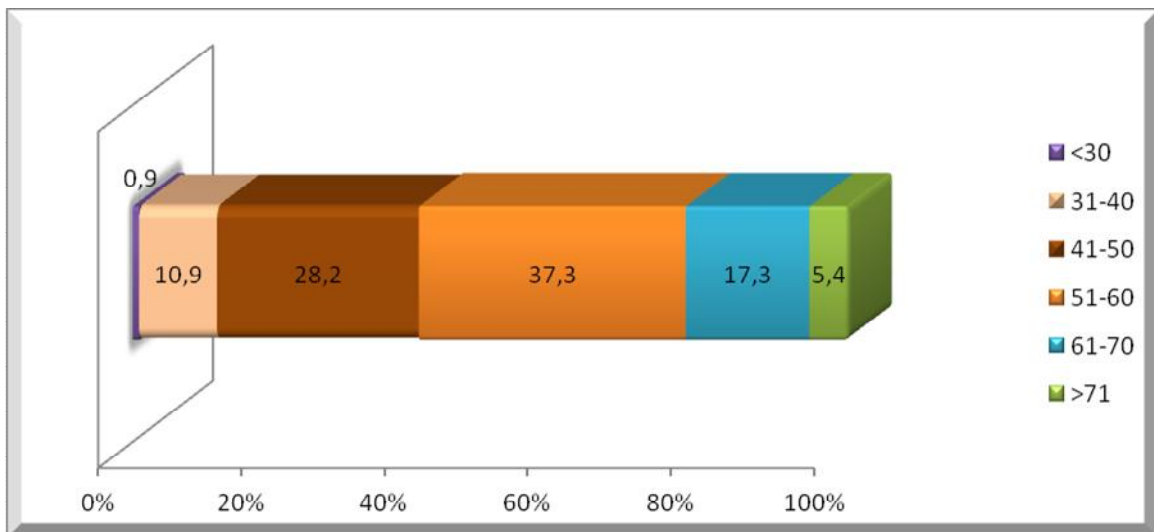
Најзастапена возраст со 37,3% е од 51 до 60 години, потоа следува со 28,2% возраста од 41 до 50 години и со 17,3% застапена е возраста од 61 до 70 години. Процентуалната разлика која се регистрира помеѓу возраста од 51

до 60 години и возраста од 41 до 50 години верзус останатите модалитети на возраст е статистички сигнификантна за $p < 0,05$. Возраста над 61 година застапена е со 22,9%, а возраста под 60 години со 77,1% и според Difference тестот процентуалната разлика е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0000$) (табела 4 и график 2)

Табела 4. Приказ на возрастните групи на пациентките со карцином на дојка

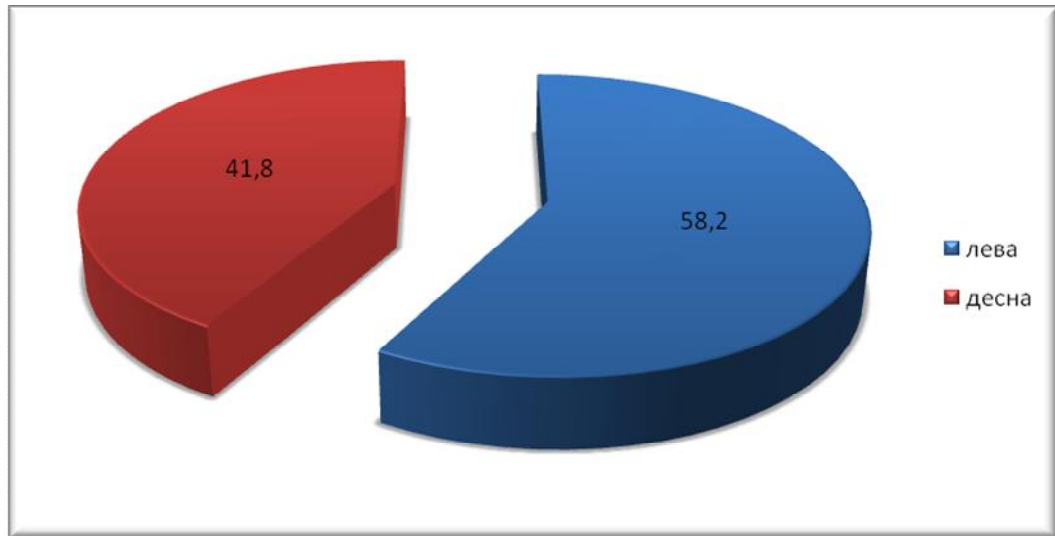
Возраст од - до	број	%
<30	1	0,9
31 -40	12	10,9
41 - 50	31	28,2
51- 60	41	37,3
61 -70	19	17,3
>71	6	5,4
вкупно	110	100.0

Графикон бр 2. Приказ на возрастните групи на пациентките со карцином на дојка



Дистрибуцијата на пациентите според локализацијата на примарниот тумор покажа дека кај нашите испитаници карциномот на дојката кај 41,8% се регистрира на десна дојка и 58,2% на левата дојка. (график 3)

Графикон бр 3. Приказ на локализацијата на примарниот тумор



Во најголем процент од 58,2% локализацијата на карциномот е во горно латерален квадрант на дојката, потоа следи локализацијата во долно латерален квадрант со 29,1%, горно медијален квадрант со 7,3% и долно медијален квадрант со 5,4 % (табела 5).

Табела 5. Приказ на локализацијата според квадрант на дојка

локализација	број	%
горно латерален	64	58,2
горно медијален	8	7,3
долно латерален	32	29,1
долно медијален	6	5,4
вкупно	110	100.0

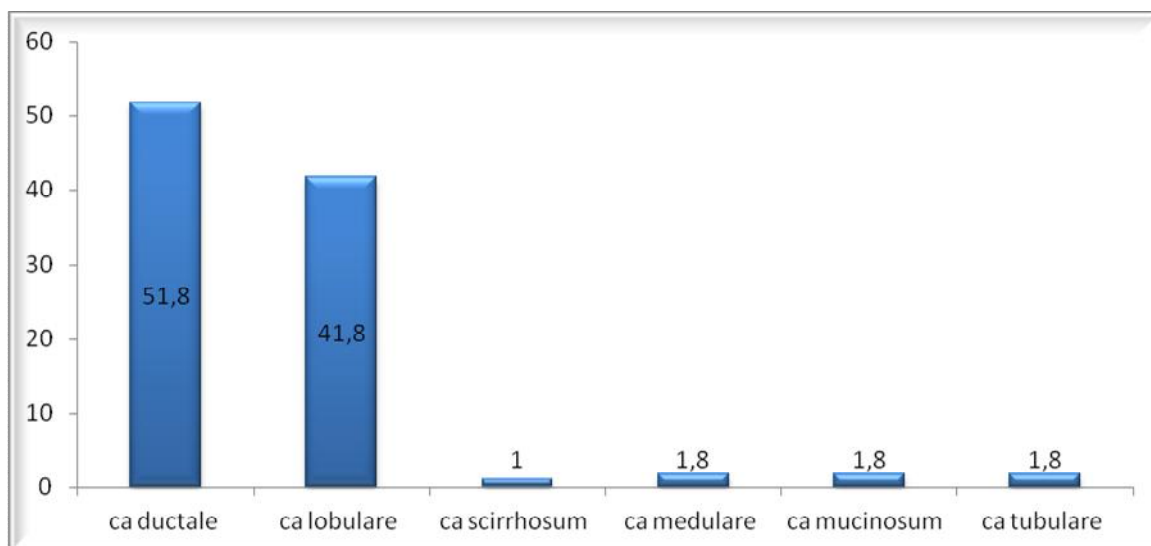
Процентуалната разлика помеѓу локализацијата на карциномот во горно латералниот квадрант верзус останатите модалитети на локализација во однос на квадрантите на дојката е доминантна и е статистички сигнификантна за $p < 0,05$. На левата дојка во најголем процент од 68,8% локализацијата на карциномот е горно латерално и процентуалната разлика помеѓу локализацијата на карциномот во горно латералниот квадрант на дојката верзус останатите квадранти е доминантна и е статистички сигнификантна за $p < 0,05$. На десната дојка локализацијата на карциномот е во горно латералниот квадрант застапена со 43,5%, а во долно латералниот квадрант со 41,3%. Процентуалната разлика помеѓу локализацијата на карциномот во горно и долно латерален квадрант на десната дојка верзус останатите два квадранта е доминантна и е статистички сигнификантна за $p < 0,05$.

Од типот на карцином најзастапен кај пациентките е Ca ductale со 51,8% (табела 6, график 4)

Табела 5. Приказ на типот на карцином на дојка

тип на карцином	број	%
ca ductale	57	51,8
ca lobulare	46	41,8
ca scirrhosum	1	0,9
ca medulare	2	1,8
ca mucinosum	2	1,8
ca tubulare	2	1,8
вкупно	110	100.0

Графикон бр 4. Приказ на типот на карцином на дојка



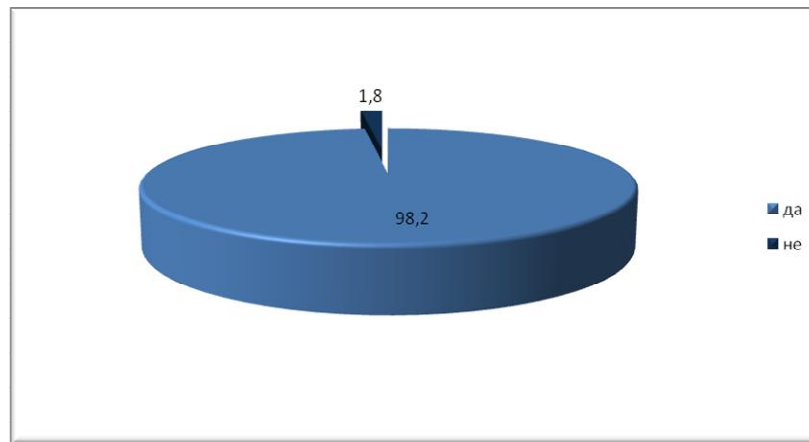
Кај 98,2% (108) од пациентите се детектирани СЛЈ, а кај 1,8% (2) од пациентите не се детектирани СЛЈ (сентинелен лимфен јазол). Процентуалната разлика која се регистрира е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0000$) (табела 6 и график 5)

Табела 6. Пациентки со карцином на дојка кај кои се детектирани СЛЈ

детектирани/ СЛЈ	број	%
Да	108	98,2
не	2	1,8
Вкупно	110	100.0

СЛЈ беше детектиран кај 97,6% од пациентите со периауреоларна и кај 98,2% од пациентите со применета комбинирана периауреоларна и перитуморска апликација на трасерот. Разликата помеѓу двата модалитета на апликација не беше статистички сигнификантна ($p=0,67$).

Графикон бр 5. Пациентки со карцином на дојка кај кои се детектирани SLN



Кај сите 110 пациентки со карцином на дојка е применето и метиленско сино како дополнителен трасер. Анализата на метиленското сино како засебен трасер, покажа пониска детекциска рата од 91,6 % (99 од вкупно 108 детектирани СЛЈ со методот со радиоколоид, беа истовремено и пребоени со метиленско сино, додека, пак, останатите 9 не беа пребоени). (табела 7) Во нашата студија не беа детектирани СЛЈ пребоени само со метиленско сино, а без uptake на радиоколоид.

Табела 7. Приказ на СЛЈ пребоени со метиленско сино

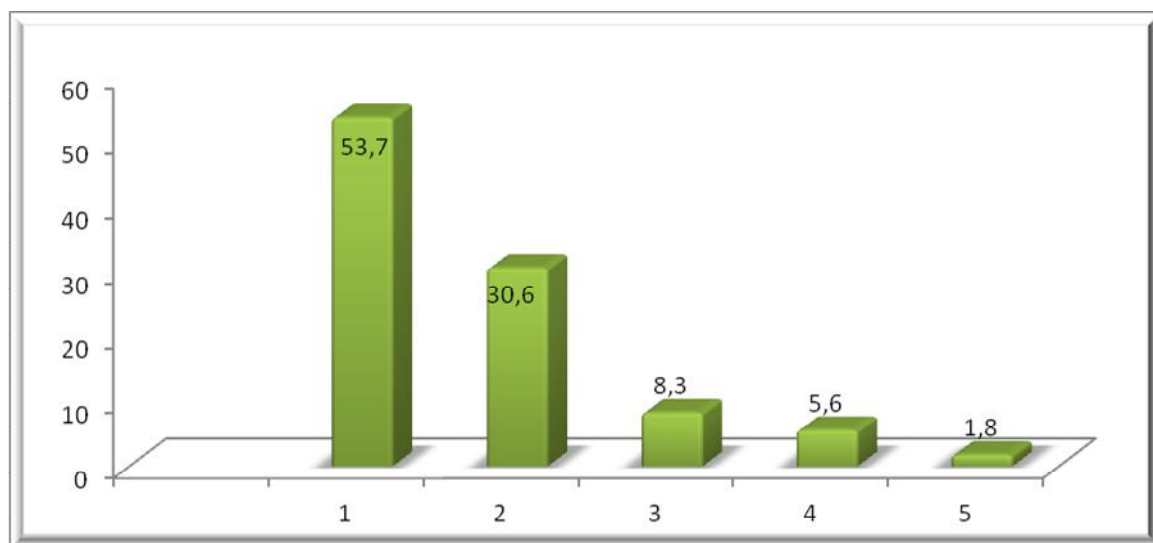
пребоени	број	%
да	99	91,6
не	9	8,4
вкупно	108	100.0

Кај повеќе од половина од пациентките со карцином на дојка т.е. кај 53,7% е детектиран по еден сентинелен лимфен јазол, кај 30,6% по два СЛЈ, кај 8,3% по три СЛЈ, кај 5,6% по четири и кај двајца пациенти по пет СЛЈ (табела 8 и график 6).

Табела 8. Приказ на број на детектирани сентинелни лимфни јазли - СЛЈ кај пациентки со карцином на дојка

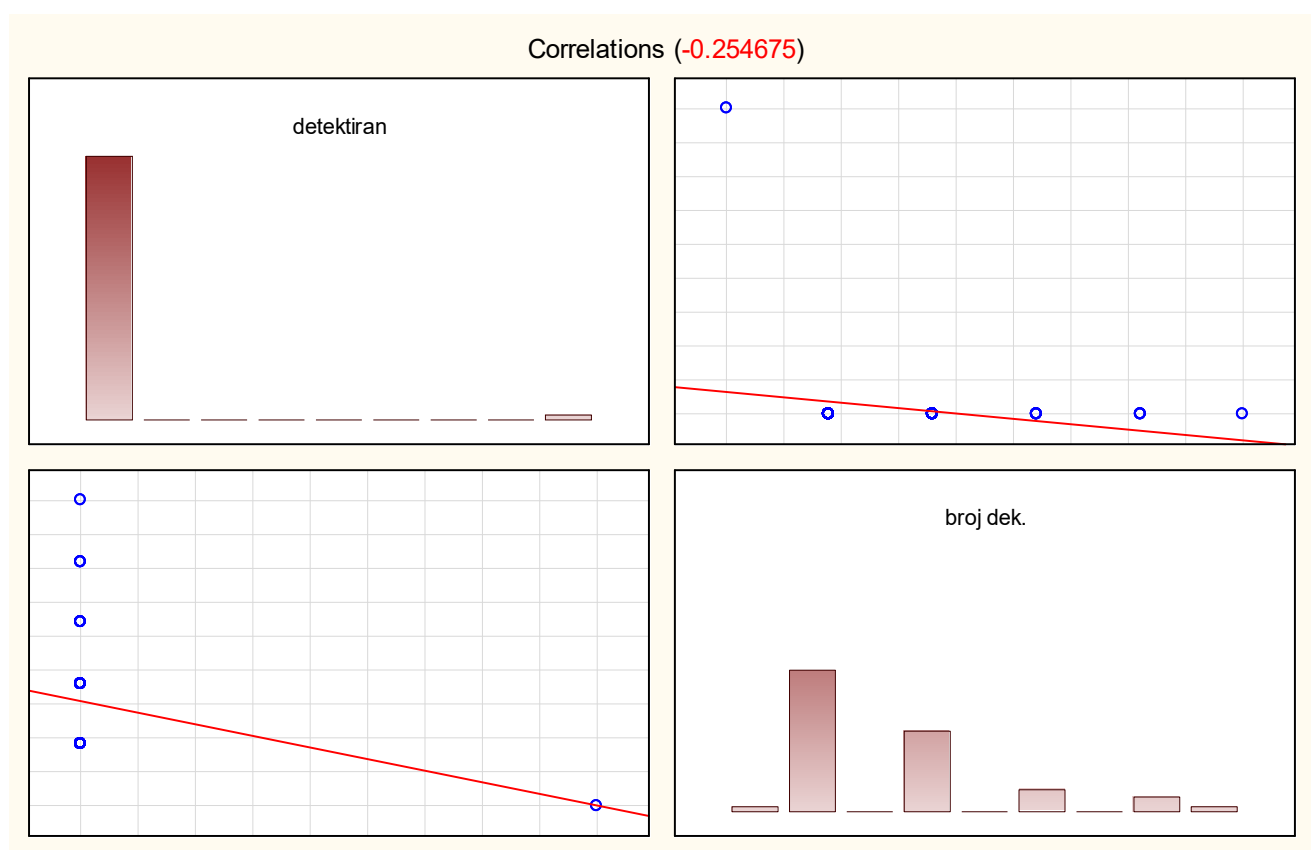
Број	Број	%
еден	58	53,7
два	33	30,6
три	9	8,3
четири	6	5,6
пет	2	1,8
вкупно	108	100.0

Графикон бр 6. Приказ на број на детектирани сентинелни лимфни јазли - СЛЈ кај пациентки со карцином на дојка



Според Spearman Rank Order Correlations се регистрира слаба негативна ранк статистички сигнификантна корелација (-0,254675) помеѓу број на детектирани СЛЈ во однос на позитивитетот на СЛЈ. (график 7)

Графикон бр 7. Приказ на корелација на број на детектирани СЛЈ во однос на позитивитет на СЛЈ

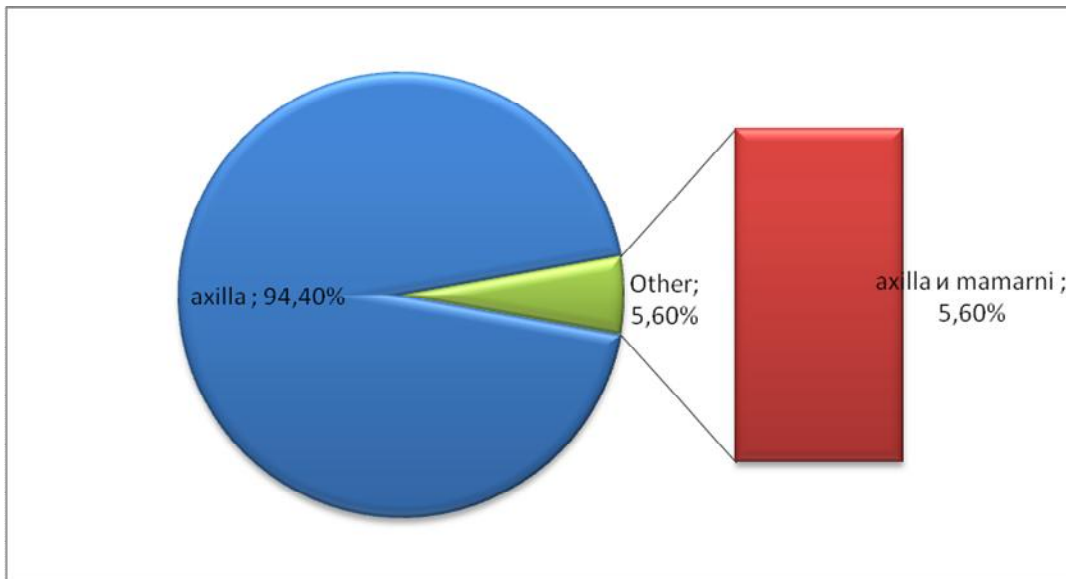


Во најголем процент сентинелни лимфни јазли (СЛЈ) 94,4% се локализирани аксиларно, а само 5,6% се локализирани аксиларно и долж a.mammaria interna. (табела 9, график 7)

Табела 9. Приказ на локализација на сентинелни лимфни јазли (СЛЈ)

локализација на СЛЈ	број	%
axilla	102	94,4
axilla и мамарни	6	5,6
Вкупно	108	100.0

Графикон бр 8. Приказ на локализација на сентинелни лимфни јазли



СЛЈ кои се локализирани аксиларно во најголем дел потекнуваат од тумор кој е локализиран во горно латерален квадрант на дојката 58,8%, со 30,4% потекнуваат од тумор кој е локализиран во долно латерален квадрант на дојката, со 5,9% потекнуваат од тумор кој е локализиран во горно медијален квадрант на дојка и со 4,9% потекнуваат од тумор кој е локализиран во долно медијален квадрант. Процентуалната разлика која се регистрира е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0000$). СЛЈ кои се локализирани аксиларно и мамиларно во најголем дел потекнуваат од тумор

кој е локализиран во горно медијален и долно медијален квадрант на дојката во 75,5% од случаите. Процентуалната разлика која се регистрира е статистички сигнификантна за $p < 0,05$.

Ех tempore евалуацијата на СЛЈ беше негативна кај 88% од пациентите, при што кај нив беше применет презервирачки хируршки протокол. Кај 12% од пациентите СЛЈ беше позитивен и тие беа подложени на комплетна аксиларна лимфаденектомија (дисекција).

Табела 10. Приказ на ех tempore хистопатолошки наод на сентинелни лимфни јазли - СЛЈ

наод	број	%
позитивен	13	12,0
негативен	95	88,0
вкупно	108	100.0

Графикон бр 9. Приказ на ех tempore хистопатолошки наод на сентинелни лимфни јазли



Деталната хистопатолошка анализа со имунохистохемиско боење покажа метастатско зафаќање на 1 СЛЈ, кој на ех tempore анализата беше класифициран како негативен (лажно негативен). Кај овој пациент беше изведена комплетна аксиларна лимфаденектомија во втор акт.

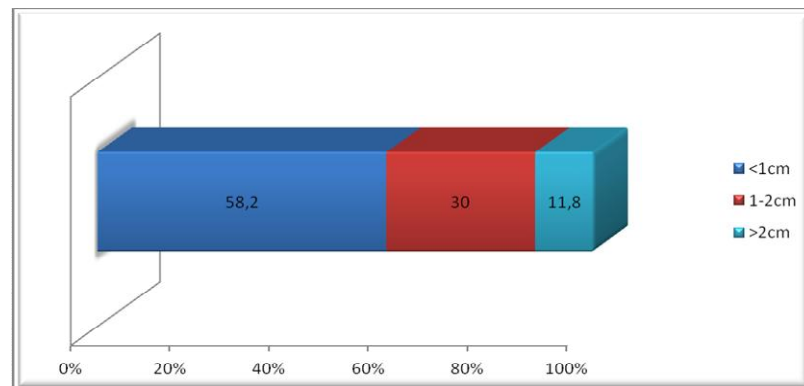
Кај 4 СЛЈ кои беа касифицирани како позитивни на ех tempore анализата беа детектирани микрометастази (0,2-2 мм), и кај нив исто така беше изведена комплетна лимфаденектомија на регионалниот лимфен базен.

Кај 58,2% од пациентките примарниот тумор е со големина под 1см., кај 30,0% е со големина од 1 до 2 см. и 11,8% е со големина над 2 см. (табела 11, график 9)

Табела 11. Приказ на големина на примарен тумор

големина	број	%
<1см.	64	58,2
1 - 2	33	30,0
>2	13	11,8
вкупно	110	100.0

Графикон бр 10. Приказ на големина на примарен тумор



Статистичката анализа на добиените податоци покажа силна корелација помеѓу големината на примарниот тумор и метастатското зафаќање на СЛЈ ($p < 0,001$). Бројот на пациенти со позитивни СЛЈ сигнификантно растеше со порастот на големината на примарниот тумор ($p < 0,03$), а бројот на пациенти со негативни СЛЈ сигнификантно опаѓаше со порастот на големината на примарниот тумор ($p < 0,01$). (табела 12)

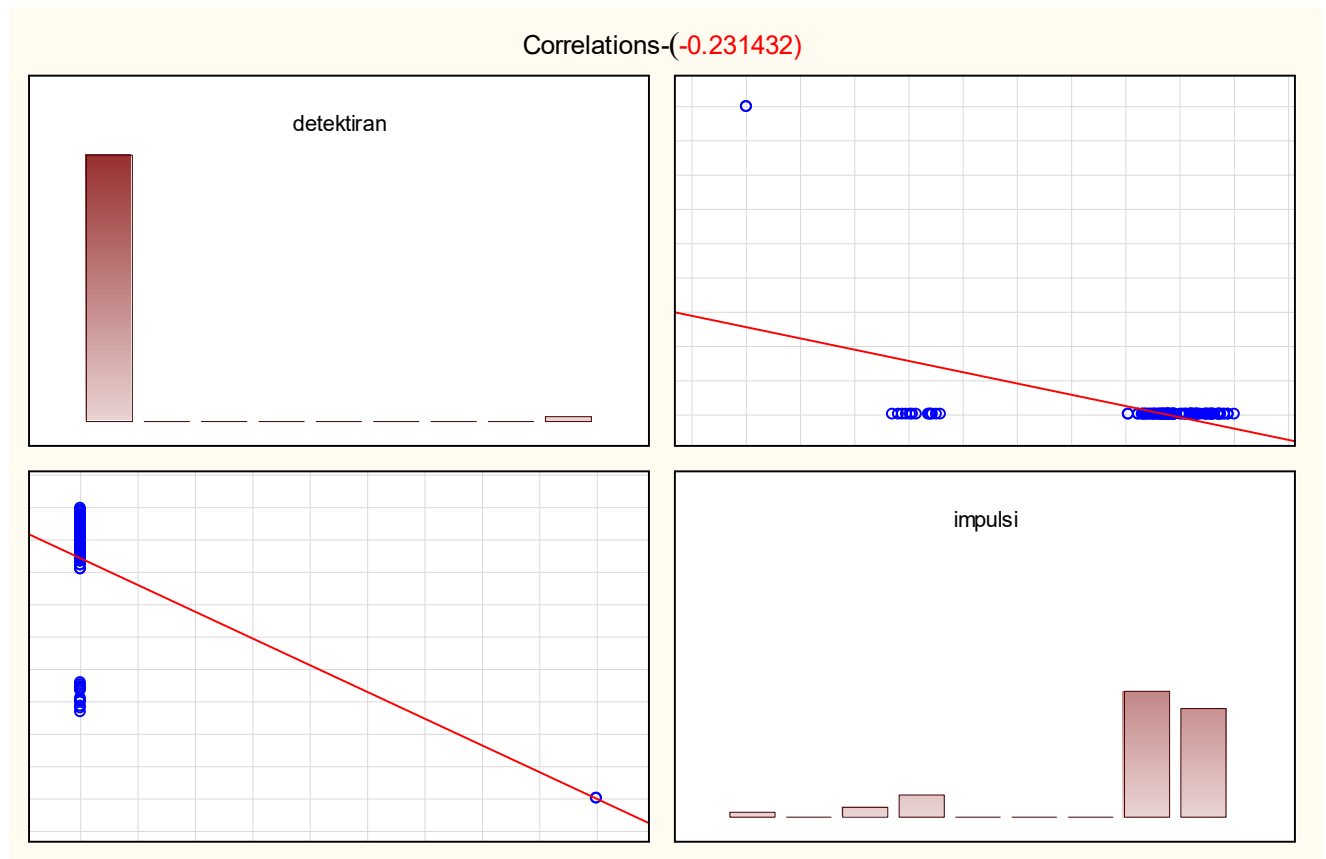
Корелација помеѓу големина на туморот и метастатско зафаќање на СЛЈ		
Големина на туморот и статус на СЛЈ	Број на пациенти	Процент
Positive SLN; Tu \leq 1cm.	1	0,9%
Positive SLN; Tu 1-2 cm.	3	2,8%
Positive SLN; Tu > 2 cm.	10	9,3%
Negative SLN; Tu \leq 1 cm.	61	56,5%
Negative SLN; Tu 1-2 cm.	30	27,7%
Negative SLN; Tu > 2 cm.	3	2,8%
Вкупно	108	100%

Табела 12. Корелација помеѓу големината на примарниот тумор и метастатското зафаќање на СЛЈ

Прифаќањето (uptake) на радиоколоид беше поголемо кај СЛЈ кои акумулираа метиленско сино во компарација со оние кои не го акумулираа (1643 ± 321 counts/10 sec vs 526 ± 128 counts/10 sec, $p < 0,001$). СЛЈ со помал аптејк на радиоколоид почесто имаа метастаски депозити $p < 0,01$ споредбено

со СЛЈ кои имаа повисок аптејк и беа најчесто без метастаски депозити $p < 0,05$. Ваквите наоди, најверојатно, се должат на метастатската деструкција на лимфните јазли. (график 11)

Графикон бр 11. Приказ на корелација на импулси во СЛЈ во однос со позитивитетот на СЛЈ



Според Spearman Rank Order Correlations се регистрира негативна ранк статистички сигнификантна корелација (-0,231432) помеѓу импулси во СЛЈ во однос со позитивитетот на СЛЈ.

Сензитивноста на методот за детекција на СЛЈ во нашата студија изнесува 92,86%, 95% CI (0,66613-0,9982), при што ја означува можноста за откривање метастаски промени во лимфните јазли. Негативната предиктивна вредност изнесува 98,9%, 95% CI (0,934439-0,99945), а лажно негативна

вредност изнесува 1,05%, 95% CI (0,00055-0,065561). Глобалната точност на методот изнесува 99%. Од вкупно 110 пациенти, кај 108 беше пронајден сентинелниот лимфен јазол, при што стапката на индентификација изнесува $108/110 \times 100 = 98,2\%$. Вистински позитивни се 13 субјекти, лажно негативен е 1 и вистински негативни се 94 од вкупно 108 субјекти каде е детектиран СЛЈ. (табела 13) Презервирачка хируршка интервенција беше изведена кај 94/110 (85,5%) од пациентите.

Табела 13. Анализа на дијагностичките параметри

	сентинелни лимфни јазли		вКУПНО
	+	-	
+	13a	0c	13
-	1b	94d	95
вКУПНО	14	94	108

	Estimated Value	95% Confidence Interval	
		Lower Limit	Upper Limit
Prevalence	0.12963	0.075249	0.211243
Sensitivity	0.928571	0.641681	0.99626
Specificity	1	0.951073	1
For any particular test result, the probability that it will be:			
Positive	0.12037	0.068198	0.200511
Negative	0.87963	0.799489	0.931802
For any particular positive test result, the probability that it is:			
True Positive (Positive Predictive Value)	1	0.716557	1
False Positive	0	0	0.283443
For any particular negative test result, the probability that it is:			
True Negative (Negative Predictive Value)	0.989474	0.934439	0.99945
False Negative	0.010526	0.00055	0.065561

Детекциската (идентификациската) моќ на SPECT/CT модалитетот покажа статистички сигнификантна предност во однос на планарната сцинтиграфија. (табела 14)

SPECT/CT верзус планарна сцинтиграфија			
Variable (Detected lymph nodes)	Breast carcinoma	Melanoma	P value
SLN (Planar)	1,6 ± 0,4 (r 1-10)	2 ± 0,3 (r 1-9)	< 0,001
SLN (SPECT/CT)	1,8 ± 1,4 (r 1-12)	2,3 ± 1,4 (r 1-10)	

Табела 14 . Број на детектирани СЛН (SPECT/CT во однос на планарна сцинтиграфија)

6.2 МАЛИГЕН МЕЛАНОМ

Вкупно во главната студија беа анализирани 80 пациенти со малиген меланом, од кои 60 пациенти беа анализирани со планарната сцинтиграфска методологија, додека, пак, 20 пациенти со SPECT/CT методолошка техника (функционална и морфолошка дијагностика) на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина-Скопје.

Пред започнување на главната студија, беше изведена пилот студија (крива на учење) на 30 пациенти со идентичен дизајн (кај сите пациенти беше применет 1% раствор на метиленско сино и радиоколоид - nanopized sentiscint sulphur colloid обележан со ^{99m}Tc) како и во главната студија (81). Беа вклучени 16 мажи и 14 жени, на средна возраст од 47 ± 9 години, предоперативно класифицирани како T1b / T2+ тумори (1-4mm), N0, M0, (средна дебелина по Breslow од 2,1 мм) кои во целост ги исполнија инклузиските критериуми.

Кривата на учење ги прикажа следниве резултати: детекциска рата 100%, сензитивност од 91,7%, специфичност од 100%, точност од 98,1%, негативна предиктивна вредност од 97,6% и лажно негативна рата од 2,5%. Беа детектирани и отстранети вкупно 52 сентинелни лимфни јазли (2 ± 1 СЛЈ по пациент) од кои 40 СЛЈ беа негативни на депозити, а 12 сентинелни лимфни јазли кај вкупно 5 пациенти (16,7%), после детална патохистолошка анализа – H&E бојење и имунохистохемија, беа позитивни на метастази и кај овие пациенти беше индицирана и реализирана комплетна (радикална) регионална лимфаденектомија во базенот каде што беше детектиран СЛЈ.

Овие првични прелиминарни резултати на пилот студијата корелираа со научно објавените факти и публикации во светската литература и беа индикатор дека главната студија има основа да биде спроведена. (табела 1 и табела 2)

Позитивни ЛЈ		Негативни ЛЈ	
Вистински (+) - a	11	Вистински (-) - d	40
Лажно (-) - c	1	Лажно (+) - b	/
<i>Вкупно</i>	12		40

Табела 1. Детектирани и хистопатолошки анализирани СЛЈ

Параметар	Формула	Вредност
Сензитивност	$[a / (a+c)] \times 100$	91,7%
Точност	$[(a+d) / (a+b+c+d)] \times 100$	98,1%
Негативна предиктивна вредност	$[d / (d+c)] \times 100$	97,6 %
Детекциска рата	30/30 pt x 100	100%

Табела 2. Статистички параметри врз основа на анализираниите СЛЈ

Предоперативниот стејџинг на пациентите кои беа вклучени во главната студија (80 пациенти, средна возраст 50 ± 19 год., средна дебелина по Breslow од 1,9 мм), нивната дистрибуција според пол и локализација на примарниот тумор, големината на примарниот тумор и карактеристиките на истиот во целост ги следеа детерминираниите инклузиски критериуми (T1b / T2+ тумори (1-4mm), N0, M0). (табела 3)

Број на пациенти: 80		
Пол	Машки	(33 pts) 41,25 %
	Женски	(47 pts) 58,75 %
Локализација на тумор	Рака	(28 pts) 35%
	Нога	(32 pts) 40%
	Тело	(20 pts) 25%

Табела 3. Дистрибуција според пол и локализација на примарен тумор

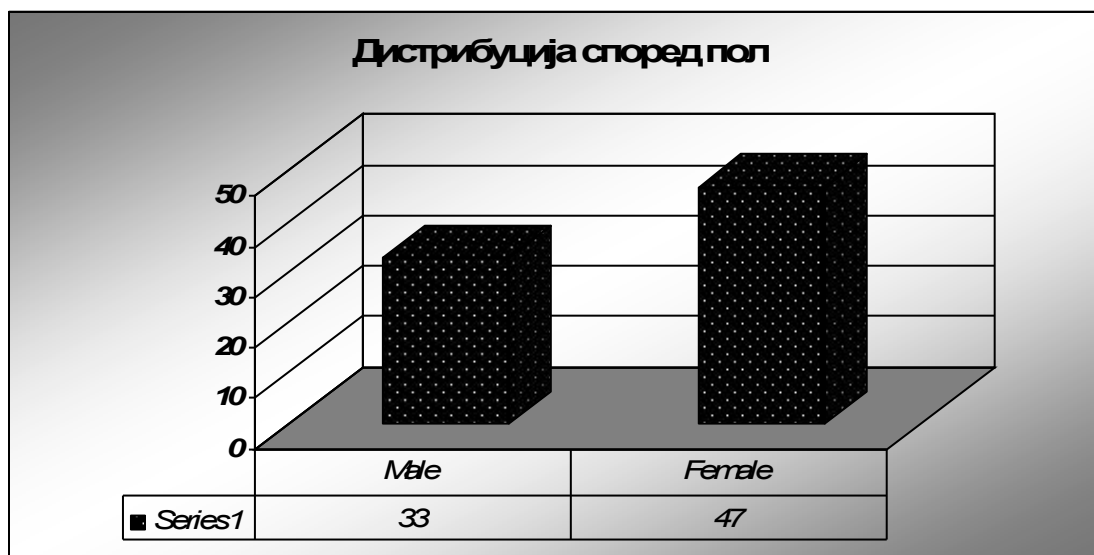


График 1. Дистрибуција според пол

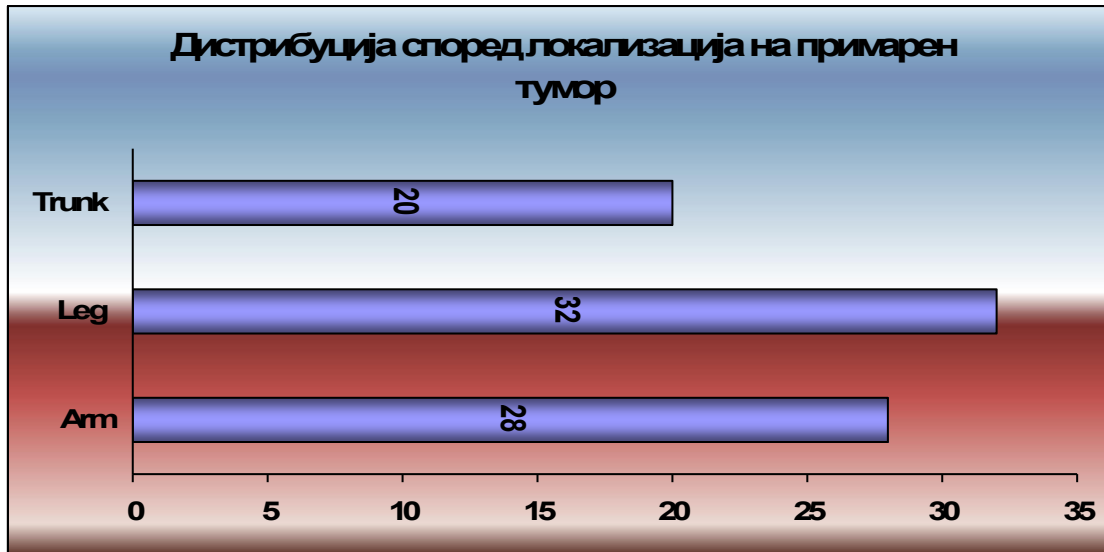


График 2. Дистрибуција според локализација на примарен тумор

Број на пациенти: 80		
Breslow thickness (mm)	1,01 – 2	(43 pts) 53,75%
	2,01 – 4	(37 pts) 46,25%
Clark level	3	40pt (50%)
	4	26pt (32,5%)
	5	14pt (17,5%)

Табела 4. Дистрибуција на пациентите според дебелината на примарниот тумор и нивото според Кларк



График 3. Дистрибуција според дебелина на примарен тумор (Breslow)

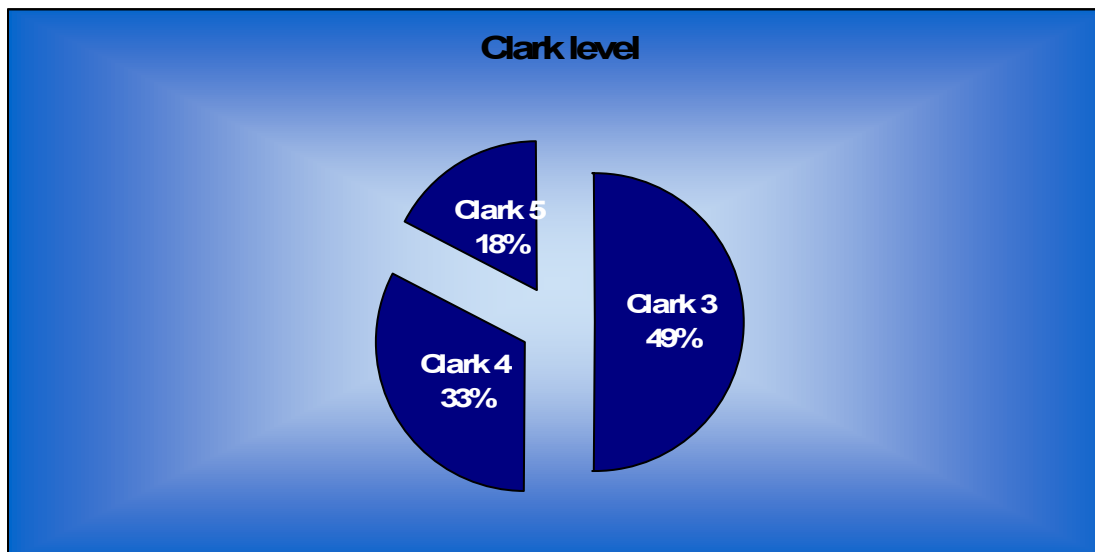


График 4. Дистрибуција според нивото на Кларк

Просечниот број на патохистолошки анализирани сентинелни лимфни јазли беше 2 ± 1 по пациент (сите пациенти имаа најмалку 1 или повеќе анализирани лимфни јазли, златен стандард, според препораките на AJCC – American Joint Cancer Committee / UICC – United International Cancer

Committee). Идентификацијата на СЛЈ во нашето истражување, користејќи го двојниот метод со радиоколоид и метиленско сино, беше успешна кај сите 80 пациенти. Со тоа, детекциската (идентификациската) рата во студијата изнесуваше 100%. Вкупно беа детектирани и анализирани 162 сентинелни лимфни јазли, од кои 107 СЛЈ (кај 52 пациенти) беа негативни, а 55 СЛЈ (кај 28 пациенти) беа позитивни на метастатски/микрометастатски депозити.

Корелацијата помеѓу одредени индивидуални варијабли и позитивноста на СЛЈ на метастатски депозити е прикажана во табела 5.

Variable	Examined group		P value SLN+/SLN-
	Positive SLN	Negative SLN	
Возраст	50 ± 19	51 ± 15	0.87
Пол			0.64
машки	11 (13,75%)	22 (27,5%)	
женски	17 (21,25%)	30 (37,5%)	
Tumor area (mm²)	315.4 ± 30.6	208.9 ± 10.5	0.25
Локализација на тумор			0.13
рака	8 (10%)	20 (25%)	
нога	11 (13,75%)	21 (26,25%)	
тело	9 (11,25%)	11 (13,75%)	
Tumor thickness (mm)			0.004
1.01 – 2	7 (8,75%)	36 (45%)	
2.01 – 4	21 (26,25%)	16 (20%)	
Clark level			0.02
3	2 (2,5%)	38 (47,5%)	
4	17 (21,25%)	9 (11,25%)	
5	9 (11,25%)	5 (6,25%)	
Лимфоцитна инфилтрација			0.46
no	16 (20%)	22 (27,5%)	
mild	12 (50%)	30 (37,5%)	
severe	0	0	
Улцерација			0.03
(-)	9 (11,25%)	37 (46,25%)	
(+)	19 (23,75%)	15 (18,75%)	

Табела 5. Приказ на варијаблите на пациентите и туморот во корелација со позитивитетот на СЛЈ

Во однос на зависните варијабли СЛЈ(+) или СЛЈ(-), беше извршена бинарна логистичка регресиска анализа на независните варијабли на пациентите во корелација со позитивитетот на СЛЈ. (табела 6)

Варијабла	Sig	Exp (B)	95% CI
Возраст	0.861	0.996	0.953–1.041
Пол	0.731	0.971	0.923–1.004
Tumor area (mm ²)	0.279	0.998	0.994–1.002
Локализација на тумор			
рака	0.561	0.210	0.017–1.023
нога	0.582	0.160	0.024–1.063
тело	0.577	0.400	0.016–1.017
Tumor thickness (mm)	0.02	1.895	0.948–3.787
Clark level			
3	0.021	9.9	1.431–83.614
4	0.017	10.5	1.514–72.811
5	0.045	9.0	0.873–92.763
Лимфоцитна инфилтрација	0.261	0.400	0.081–1.976
Улцерација	0.654	1.4	0.321–6.109

Табела 6 . Бинарна регресиска анализа на варијаблите на пациентите во однос на корелација на истите со позитивитетот на СЛЈ

Статистичката анализа на нашите податоци прикажа силна корелација помеѓу големината на примарниот тумор и метастатското зафаќање на СЛЈ. Бројот на пациенти со позитивни СЛЈ растеше сигнификантно со порастот на големината на примарниот тумор ($p < 0,01$).

Користејќи го t test-от за континуирани варијабли и χ^2 test-от за категоријски варијабли, добивме вредности за медијана на Breslow дебелина на туморот од 1,9 мм кај СЛЈ(-) и 3,3 мм кај СЛЈ(+) пациенти. Со тоа се потврди уште еднаш позитивната корелација на дебелината на туморот со статусот на СЛЈ (колку е поголема дебелината на примарниот тумор, толку е веројатноста поголема за метастатско зафаќање на СЛЈ $p = 0,03$).

Иако лимфоцитната инфилтрација на туморот во целина не покажа статистички сигнификант предикција на статусот на СЛЈ како независен предиктор (корелација $p=0,46$; бинарна регресиона анализа $p=0,261$), сепак, поделбата на оваа варијабла на неколку градациски степени (слаба инфилтрација, умерена инфилтрација и солидна инфилтрација) и дополнителната статистичка анализа (univariant regression analysis) на истите, покажа сигнификантна корелација помеѓу СЛЈ(-) и повисокиот степен на лимфоцитна инфилтрација ($p=0,03$).

Варијабла	B	SE	Wald	df	p	Odds.ratio	95% CI
Breslow	0.33	0.16	4.28	1	0.04	1.40	1.02-1.92
Li infiltration	-0.096	0.44	4.72	1	0.03	0.38	0.16-0.91

Табела 7. Униваријантна регресиска анализа на фактори предиктори на статусот на СЛЈ

Со секој пораст на дебелината на туморот според скалата на Breslow, веројатноста за појава на СЛЈ(+) се зголемува за 1,4 пати. Позитивниот имунолошки одговор (присуството на лимфоцитна инфилтрација) ја намалува веројатноста за појава на СЛЈ(+) за 38% во споредба со пациентите кадешто нема имунолошки одговор (лимфоцитна инфилтрација).

Статусот на СЛЈ се покажа како најсигнификантен предиктор за 5 годишно преживување и редукција на ризикот за рецидив на болеста. Пациентите со СЛЈ(-) имаа 5 годишно преживување од 95,5% споредено со пациентите со СЛЈ(+) кадешто овој параметар беше 76,9%. Кај пациентите со СЛЈ(-) ризикот за рецидив беше редуциран за 19,8% споредено со пациентите со СЛЈ(+).

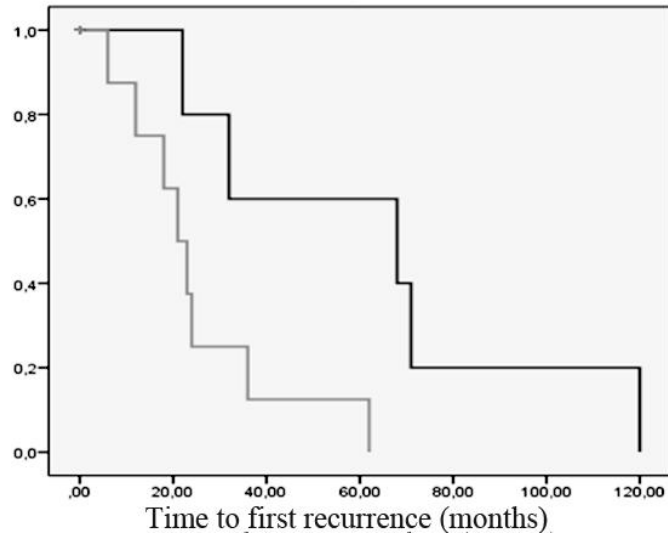


График 5. Каплан Маерова крива на 5 годишно преживување и период без рецидив на болеста кај пациенти со СЛЈ(-) (болдирана крива) и СЛЈ(+) (неболдирана крива)

СЛЈ со поголем аптејк на радиоколоид (2312 ± 762) импулси во 10 секунден интервал беа најчесто без метастатски депозити ($p < 0,05$). СЛЈ со послаб аптејк на радиоколоид (734 ± 321) импулси во 10 секунден интервал, најчесто беа позитивни на метастатски депозити ($p < 0,01$). Овие податоци ја наметнаа квантификацијата на прифаќањето на колоидните партикли од страна на СЛЈ како статистички сигнификантен и дополнителен независен предиктор на статусот на СЛЈ во смисла на присуство или отсуство на метастатски депозити во истиот.

Сензитивноста на методот за детекција на СЛЈ во главната студија изнесува 96,55%, 95% CI (0,66613-0,9982), при што ја означува можноста за откривање метастаски промени во лимфните јазли. Негативната предиктивна вредност изнесува 98,07%, 95% CI (0,934439-0,99945), а лажно негативна вредност изнесува 1,96%, 95% CI (0,00055-0,065561). Глобалната точност на методот изнесува 98,75%. Од вкупно 80 пациенти, кај сите 80 беше

пронајден сентинелниот лимфен јазол, при што стапката на индентификација изнесува 100%. Вистински позитивни се 28 субјекти, лажно негативен е 1 и вистински негативни се 51 од вкупно 80 субјекти каде е детектиран СЛЈ. (табела 8) Презервирачка хируршка интервенција беше изведена кај 51/80 (63,75%) од пациентите.

Табела 8. Анализа на дијагностичките параметри

	сентинелни лимфни јазли		вкупно	
	+	-		
+	28a	0c	28	
-	1b	51d	52	
вкупно	29	51	80	
		Estimated Value	95% Confidence Interval	
			Lower Limit	Upper Limit
	Prevalence	0.12963	0.075249	0.211243
	Sensitivity	0.96551	0.641681	0.99626
	Specificity	1	0.951073	1
For any particular test result, the probability that it will be:				
	Positive	0.12037	0.068198	0.200511
	Negative	0.87963	0.799489	0.931802
For any particular positive test result, the probability that it is:				
	True Positive (Positive Predictive Value)	1	0.716557	1
	False Positive	0	0	0.283443
For any particular negative test result, the probability that it is:				
	True Negative (Negative Predictive Value)	0.98076	0.934439	0.99945
	False Negative	0.01960	0.00055	0.065561

Детекциската (идентификациската) моќ на SPECT/CT модалитетот покажа статистички сигнификантна предност во однос на планарната сцинтиграфија и кај детекцијата на СЛН кај пациентите со малигнен меланом, слично како и кај пациентите со карцином на дојка. (табела 9)

SPECT/CT верзус планарна сцинтиграфија			
Variable (Detected lymph nodes)	Breast carcinoma	Melanoma	P value
SLN (Planar)	1,6 ± 0,4 (r 1-10)	2 ± 0,3 (r 1-9)	< 0,001
SLN (SPECT/CT)	1,8 ± 1,4 (r 1-12)	2,3 ± 1,4 (r 1-10)	

Табела 9. Број на детектирани СЛН (SPECT/CT во однос на планарна сцинтиграфија)

6.3 КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

Вкупно во периодот од 36 месеци (2013–2015 година) беа оперирани елективно (итните пациенти со КРК не беа предмет на анализа) 94 пациенти со КРК. Од нив 45 пациенти ги исполнија предоперативните инклузиски критериуми за детекција на СЛЈ, а кај 40 пациенти беше спроведен конвенционален хируршки третман, без детекција на СЛЈ (контролна група). Интра- и постоперативно, уште 5 пациенти од групата со детекција на СЛЈ, беа исклучени од студијата поради некој од ексклузиските критериуми (1 пациент како резултат на микроскопска перитонеална карциноза, а 4 пациенти поради интензивна туморска инфилтрација или туморска перфорација), кои на предоперативниот стејџинг не беа откриени. Тоа нè води до вкупната бројка од 40 пациенти што влегоа во групата на сентинелен лимфен јазол (група СЛЈ). Вкупниот број на анализирани субјекти во студијата беше 80.

Пред започнување на главната студија, беше изведена пилот студија (крива на учење) на 10 пациенти со идентичен дизајн како и главната студија. Беа вклучени 6 мажи и 4 жени, на средна возраст од 63 ± 9 години, предоперативно класифицирани како стадиум 1 или 2 на КРК. Кривата на учење ги прикажа следниве резултати: детекциска рата 100%, точност од 90% и сензитивност од 87,5%. Овие првични прелиминарни резултати на пилот студијата корелираа со научно објавените факти и публикации во светската литература и беа индикатор дека главната студија има основа да биде спроведена.

Предоперативниот стејџинг на пациентите од групата со детекција на СЛЈ, кои беа вклучени во главната студија (40 пациенти, средна возраст 63 ± 14 години), нивната дистрибуција според пол и локализација на примарниот тумор, како и големината на примарниот тумор, беше во корелација со

инклузиските критериуми (T1-2, N0, M0 – особено пациенти со висок T2 стадиум) (Табела 1 и 2)

Број на пациенти: 40		
Пол	Машки	(27 pts) 67,5 %
	Женски	(13 pts) 32,5 %
Локализација на тумор	Лев колон	(20 pts) 50%
	Трансверзален колон	(10 pts) 25%
	Десен колон	(7 pts) 17,5%
	Ректум	(3 pts) 7,5%

Табела 1. Дистрибуција според пол и локализација на примарен тумор

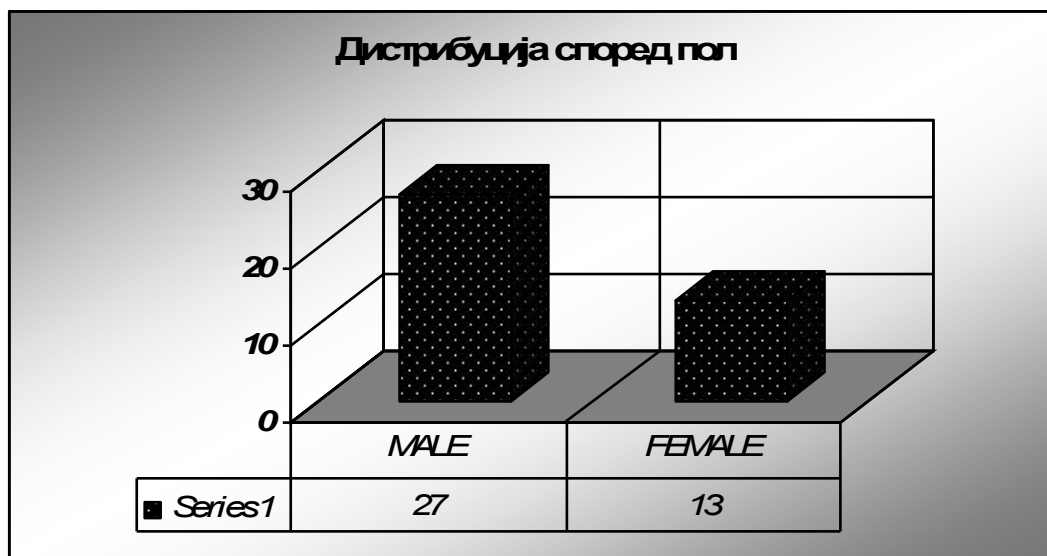


График 1. Дистрибуција според пол

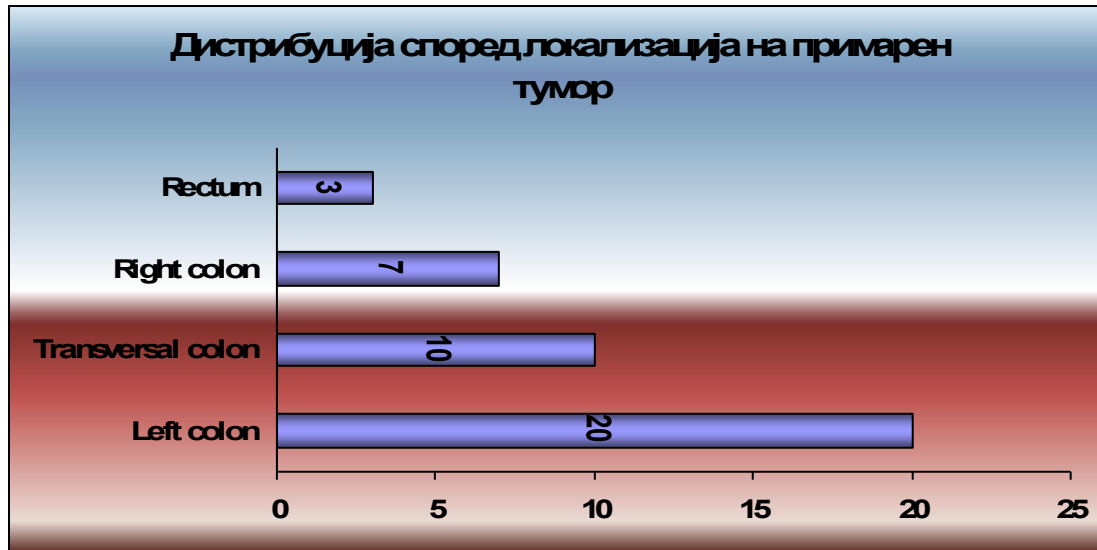


График 2. Дистрибуција според локализација на примарен тумор

Број на пациенти: 40		
Стадиум (преоперативен)	Stage I	(13 pts) 32,5%
	Stage IIA	(11 pts) 27,5%
	Stage IIB	(12 pts) 30%
	Stage IIC	(4 pts) 10%
Големина на примарен тумор	T1	(9pt) 22,5%
	T2	(6pt) 15%
	T3a/b	(22pt) 55%
	T4a	(3pt) 7,5%

Табела 2. Дистрибуција според предоперативен (релативен) стадиум и големина на примарниот тумор

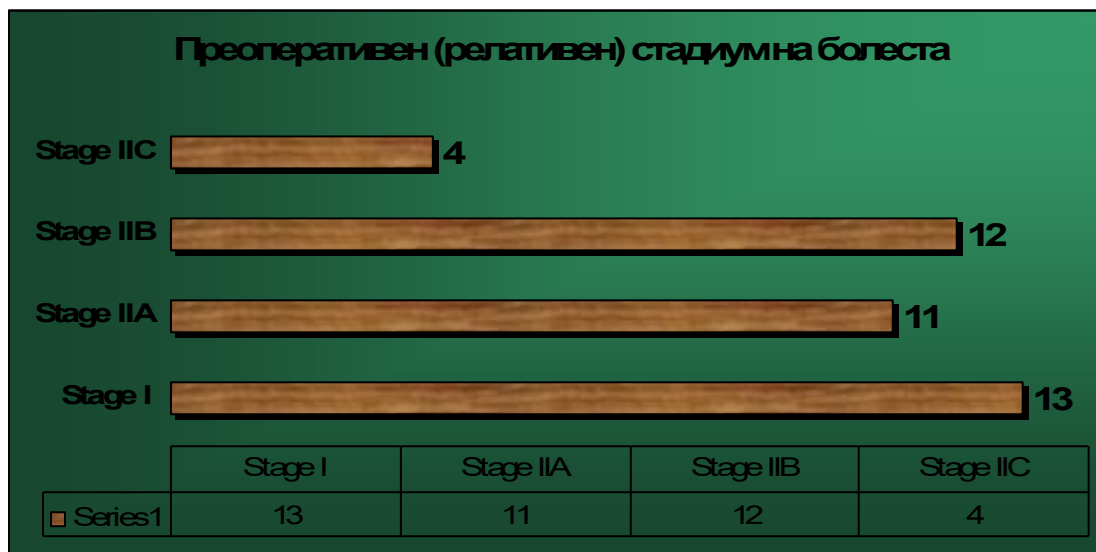


График 3. Преоперативен (релативен) стадиум на болеста



График 4. Големина на примарен тумор

Просечниот број на патохистолошки анализирани лимфни јазли беше 14 ± 2 (сите пациенти имаа најмалку 12 или повеќе анализирани лимфни јазли, што претставува златен стандард, според препораките на AJCC/UICC).

Идентификацијата на СЛЈ во нашата студија користејќи го методот со радиоколоид беше успешна кај 38 пациенти, додека кај 2 пациенти немаше приказ на СЛЈ. Со тоа, детекциската рата во нашата студија беше 95%. Кај 2 пациенти беа откриени повеќе од еден СЛЈ, односно 2 СЛЈ.

Дистанцата на детектираните СЛЈ во однос на примарната туморска локализација беше респективно: 1-3см кај 15 пациенти, 3-5см кај 13 пациенти и 5-10см кај 10 пациенти.

Хистопатолошката анализа на детектираните СЛЈ кај 38 пациенти ја прикажа следната дистрибуција: вистински позитивни 15 (СЛЈ е позитивен и/или некој од останатите регионални лимфни јазли се позитивни), вистински негативни 20 (СЛЈ е негативен и останатите регионални лимфни јазли се негативни), лажно негативни 3 (СЛЈ е негативен, но некој од регионалните лимфни јазли е позитивен) и лажно позитивни 0 (доколку се открие позитивен СЛЈ, истиот не може да се смета за лажно позитивен - патохистолошката анализа вклучува Н&Е боење, имунохистохемија и микроскопска анализа). (табела 3)

Позитивни ЛЈ		Негативни ЛЈ	
Вистински (+) – a	15	Вистински (-) – d	20
Лажно (-) – c	3	Лажно (+) – b	/
<i>Вкупно</i>	18		20

Табела 3. Дистрибуција на СЛЈ според хистопатолошката анализа

Целта на оваа студија беше да се имплементира методот за детекција на СЛЈ со радиоколоид кај пациентите со КРК и да се прикажат детекциската рата, сензитивноста, точноста, негативната предиктивна вредност и можноста за корекција на стејџингот. Резултатите од студијата ги прикажаа следните параметри:

Параметар	Формула	Вредност
Сензитивност	$[a / (a+c)] \times 100$	83,3%
Точност	$[(a+d) / (a+b+c+d)] \times 100$	92,1%
Негативна предиктивна вредност	$[d / (d+c)] \times 100$	86,95 %
Детекциска рата	$38/40 \text{ pt} \times 100$	95%

Табела 4. Статистички параметри врз основа на анализираните СЛЈ

Кај 5 пациенти (12,5%), СЛЈ беше единствениот позитивен лимфен јазол од сите анализирани лимфни јазли, што во литературата се смета за релативен upstaging. Детекцијата на метастази/микрорастази (N+) со имунохистохемија и користење на трите антители, после негативно хематоксилин и еозин пребојување (N0), беше позитивно кај 2 пациенти, што ги класифицираше истите во погорен стадиум (вистински upstaging) од 10%. Вкупната рата на корегирање на стадиумот кај пациентите вклучени во нашата студија, земајќи ги предвид релативниот и вистинскиот upstaging, изнесуваше 22,5%, што корелира со податоците објавени во литературата.

СЛЈ со поголем аптејк на радиоколоид (1821 ± 972) импулси во 10 секунден интервал беа најчесто без метастатски депозити ($p < 0,05$). СЛЈ со

послаб аптејк на радиоколоид (884 ± 431) импулси во 10 секунден интервал, најчесто беа позитивни на метастатски депозити ($p < 0,01$).

Статистичката анализа на нашите податоци прикажа силна корелација помеѓу големината на примарниот тумор и метастатското зафаќање на СЛЈ. Бројот на пациенти со позитивни СЛЈ растеше сигнификантно со порастот на големината на примарниот тумор ($p < 0,001$)

Корелација помеѓу големина на туморот и метастатското зафаќање на СЛЈ		
Големина на туморот и статус на СЛЈ	Број на пациенти	Процент
Positive SLN; Tu \leq 1cm.	2	5,2%
Positive SLN; Tu 1-2 cm.	6	15,8%
Positive SLN; Tu > 2 cm.	10	26,3%
Negative SLN; Tu \leq 1 cm.	16	42,1%
Negative SLN; Tu 1-2 cm.	3	7,9%
Negative SLN; Tu > 2 cm.	1	2,7%
Вкупно	38	100%

Табела 5. Корелација помеѓу големината на примарниот тумор и метастатското зафаќање на СЛЈ

7.0 ДИСКУСИЈА

7.1 КАРЦИНОМ НА ДОЈКА

Карциномот на дојка претставува 22,9% од сите карциноми кај женската популација и е одговорен за 13,7% од леталните исходи. (16) Според податоците на Министерството за здравство на Република Македонија, во нашата земја секоја година се дијагностицираат повеќе од 750 нови случаи на рак на дојка, најчесто кај жени кои спаѓаат во возрастната група од 45 до 49 години и од 55 до 59 години.

Просечната возраст на пациентките кои беа вклучени во нашата студија изнесува $52,8 \pm 10,3$ години. Најзастапена возраст со 37,3% е од 51 до 60 години, а потоа следува возраста од 41 до 50 години со 28,2%, што заедно претставува речиси 2/3 од вкупната бројка на испитаници. Овие податоци од нашето истражување се во согласност и корелираат со официјалните епидемиолошки карактеристики за карциномот на дојка во нашата земја. Сепак, загрижува фактот што бројката на пациенти во возрастната група под 40 години се презентираше со 11,8%, податок кој укажува на потенцијална зголемена инциденца на ова малигно заболување и кај помладите пациентки.

Почетната фаза на ракот на дојката, доколку се дијагностицира навремено, може да се излекува кај повеќе од 95% од заболените. Затоа, главниот фокус треба да се постави врз превенцијата и скрининг програмите со што ќе се овозможи детекција на ова малигно заболување во најраниот прв стадиум и со тоа сигнификантно ќе се зголеми стапката на 5 годишното преживување на пациентите како резултат на навремената и адекватно применета терапија.

Најважниот прогностички фактор за исходот на болеста, 5 годишното преживување, како и должината на периодот без рецидив на болеста, кај пациентите со карцином на дојка е **статусот на аксиларните лимфни жлезди**. Интересот за овој лимфен базен датира многу години пред откривањето на методите на лимфосцинтиграфија и сентинелна сцинтиграфска детекција, кога во склоп на проширената радикална мастектомија по Halsted се отстранувани и хистопатолошки анализирани и аксиларните и интрамамарните лимфни јазли. (53)

Современиот хируршки терапевтски пристап кон аксиларната јама, кај раниот стадиум на малигном на дојката, денес подразбира детекција на сентинелниот лимфен јазол. СЛЈ е првиот лимфен јазол во низата (ешалонот) јазли од лимфниот дренажен пат преку кој настанува лимфогената дисеминација на крациномот.

Детекцијата на СЛЈ и неговата интраоперативна ex tempore патохистолошка евалуација со висока сензитивност и специфичност ја мапира лимфната дренажа и дава валидна информација за лимфогеното метастазирање на туморот во локо-регионалните лимфни јазли.(54) Биопсијата на СЛЈ е прифатена како стандарден метод за евалуација на статусот на аксиларните лимфни јазли кај пациентите со карцином на дојка во стадиум I и стадиум II, без клинички знаци за локо-регионални или дистантни метастази. Речиси 75% од рано дијагностицираните случаи имаат бенефит од примената на оваа техника во смисла на намалување на морбидитетот од радикалната аксиларна дисекција.(17) Само доколку СЛЈ е зафатен со метастатски депозит, тогаш се изведува радикална аксиларна лимфаденектомија.

Воведувањето на концептот на ``жлезда стражар`` во клиничката практика овозможува **минимално инвазивен хируршки терапевтски пристап** во раниот стадиум на болеста, поштедувајќи ги пациентите од непотребна радикална лимфаденектомија и компликациите од истата.

За првпат методот на детекција на сентинелниот лимфен јазол е воведен од Krag et al., во 1993 година, со користење радиоколоид маркиран со технециум, со точност на резултатите од 89% (18).

Guliano et al., во 1994 користејќи боја – vital blue во својата студија презентираат точност на методот од 87% (19).

Albertini et al., во 1996 година, за прв пат објавуваат резултати во детекција на жлездата стражар при заедничко користење радиоколоид и боја vital blue (двоен метод на детекција), каде точноста била 97%. (20) Притоа, докажано е дека доколку “жлездата стражар” е позитивна, шансите да има позитивни жлезди меѓу останатите лимфни јазли од базенот е 40%, тврдење кое облигаторно наметнува изведување радикална аксилрана лимфаденектомија кај овие пациенти.

Сепак, и покрај континуираното и долгогодишно кумулативното искуство на ова поле, идеалната техника за локализација на СЛЈ допрва би требало да биде дефинирана.

Комбинираниот двоен метод со примена на метиленско сино и радиоколоид денес се смета како златен стандард за детекција на СЛЈ.(55) Детекциската (идентификациската) рата варира во зависност од типот на радиоколоид којшто се применува (големината на колоидните партикли) и од начинот на апликација (инјектирање) на препаратот.

Во неодамна објавената интернационална мултицентрична студија, вкупната детекциска рата изнесува 97%, а компарирањето на различните модалитети на апликација на трасерот го истакнува периреоларното интрадермално аплицирање како супериорен начин за мапирање на лимфната дренажа. (56)

Во нашата студија, детекциската рата во пилот студијата (кривата на учење) изнесуваше 100%, додека, пак, севкупната детекциска рата на крајот на студијата изнесуваше 98,2%. Кај 2 пациенти (1,8%) не успеавме да детектираме СЛЈ. Кај овие испитаници локализацијата на примарниот тумор

и во двата случаи беше во горно латералниот квадрант, едниот примарен тумор беше дуктален карцином, а другиот беше лобуларен карцином, додека, пак, големината на примарниот тумор во двата случаи беше над 2 см. Согласно со податоците од литературата, единствено големината на примарниот тумор би можела да интерферира со детекцијата на СЛЈ во смисла на афекција на лимфната дренажа поради туморска лимфоваскуларна инвазија што најчесто резултира со модификација на лимфната дренажа кон друг ешалон на лимфни јазли. (57)

СЛЈ во нашата студија беше детектиран кај 97,6% од пациентите со примена на периареоларна интрадермална апликација на радиоколоид и кај 98,2% од пациентите каде беше применета комбинирана периареоларна и перитуморска апликација на трасерот. Начинот на апликација влијае и врз презентацијата на лимфни јазли од базенот долж а. *mammaria interna* (подлабокото перитуморско инјектирање ја зголемува стапката на детектирани мамарни лимфни јазли).

Разликата помеѓу двата применети начина на апликација не беше статистички сигнификантна ($p=0,67$), па, според нашата студија, ниту една од овие две опции на администрирање на трасерот не доби статистички фаворизирана улога. Високата детекциска рата презентирана и за двата начина на инјектирање на колоидот, којашто корелира со литературните податоци, ги прави валидини за примена според слободен избор на истражувачот.

Наш избор во понатамошното практикување на методот за детекција на СЛЈ во клиничката практика кај пациентите со карцином на дојка ќе биде **комбинираната периареоларна и перитуморска апликација** на трасерот, како поради минимално подобрата детекциска моќ (докажана и во нашата студија), така и поради можноста за зголемена визуализација на лимфни јазли од базенот на а. *mammaria interna* (подлабока перитуморска инјекција).

Анализата на метиленското сино како засебен трасер во нашата студија, покажа пониска детекциска рата од 91,6% споредено со 98,2% кај радиоколоидот (99 од вкупно 108 детектирани СЛЈ со методот со радиоколоид беа истовремено и пребоени со метиленско сино, додека, пак, останатите 9 не беа пребоени). Хистопатолошката анализа детектираше метастатски депозит кај 5 СЛЈ кои беа маркирани со радиоколоид, а не беа пребоени со метиленско сино. Според овие податоци, може да се донесе заклучок дека примената на метиленско сино како поединечен трасер за детекција на СЛЈ не е препорачливо, а неговата примена е сугерирана само во комбинација со радиоколоид како двоен метод каде што придонесува за визуализацијата на СЛЈ интраоперативно и ја подобрува сензитивноста на методата.(58) Во нашата студија строго се водевме според овој принцип да не го применуваме метиленското сино како засебен и единствен трасер.

Научните податоци на ова поле укажуваат дека иако детекциската рата со примена само на метиленско сино како единечен трасер е задоволителна, сепак, сензитивноста е ниска, можноста да не се детектираат СЛЈ+ е значајна, а примената на радиоколоид во комбинација со метиленско сино како двоен метод, ги подобрува сигнификантно овие дијагностички компоненти.(59) Како резултат на малите партикли, метиленското сино патува низ лимфните садови со релативно интензивна динамика и рапидно преминува од првиот кон вториот ешалон лимфни јазли што резултира со поголем број на пребоени нодуси во оперативното поле и ја отежнува идентификацијата на вистинскиот сентинелен лимфен јазол.

Партиклите на радиоколоидот се поголеми и се движат низ лимфните садови со многу поспора динамика. Колку се истите покрупни, толку е поголем и **квантумот на импулси** во детектираните лимфни јазли, што се должи на нивниот побавен клиренс. Исто така, радиоколоидите се инкорпорираат во првиот ешалон на лимфни јазли по пат на фагоцитоза и остануваат ``заробени`` подолг временски интервал споредено со

метиленското сино, што дефинитивно влијае лимфните јазли детектирани на овој начин да бидат високоверојатно и веродостојно СЛЈ. Поголемиот квантум на импулси во СЛЈ овозможува подобра дијагностичка прецизност на методот бидејќи го анулира ефектот на интерференција, како од радиоактивноста на местото на апликација, така и од фонот. Доколку квантумот на импулси во СЛЈ е низок, детекциската моќ на методот ќе биде дискутабилна, особено во случај каде што СЛЈ е локализиран во близина на местото на апликација.

Детектираните СЛЈ во нашата студија, кои што беа пребоени со метиленско сино, покажуваа сигнификанто поголемо прифаќање на колоидните партикли споредено со оние коишто не беа пребоени ($p < 0,001$), што уште еднаш укажа на комплементарноста на овие два трасери и ја потврди нашата определба за примена на **двојниот метод (метиленско сино и радиоколоид)** за детекција на СЛЈ во секојдневната клиничка практика. Употребата на радиоколоид и боја, според реномираните мултицентрични студии, дава успешност во детекција на СЛЈ кај 98% од пациентите, без детекција на лажно негативни резултати (ALMANAC во UK, NSABP-32 во USA, RACS SNAC во Австралија). (60,25,29)

Дијагностичката тежина и валидност на методот што го применивме во студијата ги евалуиравме според неколку етаблирани статистички параметри: сензитивност, детекциска рата, точност, негативна предиктивна вредност и стапка на лажно негативни резултати.

Сензитивноста на методот за детекција на СЛЈ во нашата студија изнесува 92,86%, 95% CI (0,66613-0,9982), при што ја означува можноста за откривање на метастаски промени во лимфните јазли доколку се истите присутни и се однесува само на N+ пациенти.

Негативната предиктивна вредност изнесува 98,9%, 95% CI (0,934439-0,99945), при што ја одразува способноста според статусот на СЛЈ да се

предвиди дека нема метастатски депозити во останатите регионални лимфни јазли.

Лажно негативна вредност изнесува 1,05%, 95% CI (0,00055-0,065561) и истата е показател на тоа дали во останатите регионални лимфни јазли има зафаќање со метастатски депозити во услови кога СЛЈ е негативен. Интраоперативното отстранување на лимфните јазли коишто се плапабилни, а не се пребоени со метиленско сино, ниту пак прифаќаат радиоколоид, е од есенцијално значење за намалување на стапката на лажно негативни резултати.

Глобалната точност на методот изнесува 99% и ја одразува дијагностичката ефикасност на методот.

Од вкупно 110 пациенти, кај 108 беше пронајден сентинелниот лимфен јазол, при што стапката на идентификација изнесува 98,2%.

Вистински позитивни се 13 субјекти, лажно негативен е 1 и вистински негативни се 94 од вкупно 108 субјекти каде е детектиран СЛЈ.

Резултатите од нашата студија ја докажаа валидноста на методот и корелираа со податоците објавени во литературата, со што беа основа, како за воведување на техниката за детекција на СЛЈ во клиничката практика, така и за фаворизирање презервирачка минимално инвазивна хируршка техника за аксиларниот лимфен базен кај пациентите во ран стадиум на карцином на дојка. Во нашата студија, презервирачки хируршки пристап (селективна лимфаденектомија-отстранување само на СЛЈ), согласно со детекцијата на СЛЈ(-), беше применет кај 94 (85,5%) од пациентите. Радикална аксиларна лимфаденектомија беше применета кај 16 (14,5%) од пациентите, и тоа: 13 пациенти со детектиран СЛЈ(+), 1 пациент со лажно негативен СЛЈ и 2 пациенти кај кои што немаше успешна детекција на СЛЈ.

Според литературните податоци, во последните научни студии утврдено е дека во 40-50% од случаите со позитивни 1-2 “жлезди стражар”, зафатени со поединечни малигни клетки или

микрометастази (до 2 мм), останатите лимфни јазли се обично негативни, што условило кај селектирани случаи, кај кои со предвидувачки прогностички табели за зафатеност на несентинелните лимфни јазли, оценети како ниско ризични, да може да не се изведе аксиларна лимфаденектомија, но, секако, ситемски да се третира болеста. (61,21) Сепак, дилемата останува дали микрометастазите и изолираните туморски клетки би требало да се третираат како метастатски депозити и дали пациентите кај кои што истите се детектирани би требало да бидат подложени на радикална лимфаденектомија.

Во тој контекст, се додека не се донесе заеднички дефинитивен научен консензус на ова поле, одлучивме ваквите субјекти во нашата студија да бидат хируршки третирани со комплетна аксиларна лимфна дисекција. Кај 4 (3,6%) пациентки од студијата, кај коишто СЛЈ беа касифицирани како позитивни на *ex tempore* анализата, по деталната хистопатолошка анализа беа детектирани микрометастази (0,2-2мм), и кај нив беше изведена комплетна лимфаденектомија на регионалниот лимфен базен.

Повеќе автори во своите публикации ја потврдуваат валидноста на методот за детекција на СЛЈ, прикажувајќи параметри за дијагностичка тежина (сензитивност, точност, детекциска рата и негативна предиктивна вредност) со кои што корелираат и резултатите од нашето истражување. Особен фокус се поставува на појавата на рецидив на болеста и стапката на 5 годишно преживување по успешно спроведена детекција и екстирпација на СЛЈ.

Veronezi et al. во својата студија од 2010 година укажуваат на рецидив во пазувната јама само кај 1,2% од пациенти подложени на биопсија на “жлезда стражар” по период на следење од 95 месеци. (22)

Во студиите од Van Rajk и Naik, докажано е со долго следење дека, доколку “жлездата стражар” е негативна, процентот на локален

рецидив е 0,25%, односно 0,4% респективно, што укажува на сигурноста на овој метод. (23,24).

NSABP-32 студијата со 8 годишно следење помеѓу пациенти со биопсија на “жлезда стражар” наспроти пациенти со аксиларна лимфаденектомија, укажува на несигнификантна разлика во петгодишното преживување (90,3% наспроти 91,8% соодветно). (25)

Последните студии укажуваат, дека, кај пациенти со големина на примарниот тумор T1-2, методот на детекција и биопсија на “жлезда стражар” се применува кај 70% од пациентите, а кај 65% тоа е крајна процедура (нема потреба од радикална аксиларна лимфаденектомија). (62)

Соодветно, бројни студии недвосмислено потврдуваат дека методот на детекција и биопсија на “жлезда стражар” репрезентативно го одредува статусот на аксилараната јама со лажно негативни резултати кај помалку од 2%. (28, 63, 64, 65)

Giuliano AE et al од American College of Surgeons Oncology Group, во својата студија ја компарираат ратата на преживување кај радикалната аксиларна дисекција и изоставување на истата кај пациентки со детектиран СЛЈ(-). Заклучокот е дека биопсијата на СЛЈ е сигурен метод и доколку се докаже СЛЈ(-), нема разлика во преживувањето помеѓу пациентките со поштедна и оние со радикална аксиларна лимфна дисекција. (66)

ASCO препораките укажуваат дека доколку се применува стандардизирана постапка за детекција и биопсија на “жлезда стражар”, со радиоколоид и боја, сигурноста за точна дијагностика на аксиларниот статус е над 90%, со значајно помал морбидитет и несакани ефекти наспроти аксиларната лимфаденектомија.

Тоа е повод по 2000 година методот на детекција и биопсија на “жлезда стражар” да стане дел од хируршките протоколи во многу

земји и да се инкорпорира како стандардна процедура во одрдување на аксиларниот статус при малигном на дојка во сите позначајни гајдлајнси (водичи) во светот.

Krag DN et al. во нивната мултицентрична рандомизирана студија NSABP B-32 го компарираат методот за детекција на СЛЈ и конвенционалната радикална аксиларна лимфна дисекција кај пациенти со клинички негативни лимфни јазли. (25) Како заклучок се истакнува дека доколку аксиларните СЛЈ се без метастатски депозити на *ex tempore* хистопатолошката евалуација, доволно е да се изведе само селективна лимфаденектомија (да се отстрани само СЛЈ), но доколку се детектирани метастатски депозити, обигаторно е да се изведе радикална аксиларна лимфна дисекција. Овие автори потврдуваат дека техниката за детекција на СЛЈ е минимално инвазивна процедура, но и дека истовремено е прецизен, сигурен и веродостоен метод за проценка на статусот на аксиларниот лимфен базен. Како краен заклучок се наведува дека оваа дијагностичка процедура може да се смета како успешна алтернатива на конвенционалната радикална аксиларна лимфна дисекција.

Во тој контекст, **постоперативните компликации** како лимфедем, сероми, инфекции, парестезии или ограничено движење би можеле да се одбегнат кај сите оние пациенти кои се во ран стадиум на болеста, а нивните СЛЈ се негативни на метастатски депозити. Ова е силен аргумент во прилог на **презервирачките хируршки интервенции и концептот на минимална инвазивна хирургија** наспроти радикалниот хируршки пристап. Во нашата студија немаше компликации кај ниту една пациентка по изведувањето на методот за детекција на СЛЈ, со што се потврди минималната инвазивност на оваа дијагностичка техника. Радијационото оптоварување за пациентот, според податоците во литературата изнесува 0,005 mSv, додека, пак, за персоналот изнесува $0,04 \pm 0,01$ mSv по изведени 80 интервенции, што е

значително под дозволениот минимум и уште еден дополнителен аргумент за минималната инвазивност на методот. (67)

Според најновите гайдлајнси на ASCO (American society of clinical oncology) од 2014 година, пациентите со негативни СЛЈ, доколку не постојат дополнителни ризик фактори (голем или локално инвазивен примарен тумор, агресивна биологија на туморот, инфламаторен карцином, генетска предиспозиција), не би требало да подлежат на радикална аксиларна лимфна дисекција. Пациентите со позитивни СЛЈ обигаторно треба да подлежат на радикална аксиларна лимфна дисекција.

Бројот на детектирани СЛЈ е во тесна корелација со големината на колоидните партикли. Во нашата студија, бројот на детектирани СЛЈ беше поголем кај пациентите кадешто големината на колоидните партикли беше помала (Re-S-colloid-Tc99m) во споредба со колоидите со покрупни партикли (^{99m}Tc-SENTI-SCINT). Кај повеќе од половина од пациентките со карцином на дојка, т.е. кај 53,7% е детектиран по еден сентинелен лимфен јазол, кај 30,6% по два СЛЈ, кај 8,3% по три СЛЈ, кај 5,6% по четири и кај само двајца пациенти по пет СЛЈ. Според Spearman Rank Order Correlations се регистрира статистички слабо сигнификантна (од негативен ранк) корелација помеѓу бројот на детектирани СЛЈ во однос на позитивитетот на СЛЈ. Кај пациентите со поголем број на детектирани СЛЈ, веројатноста за детекција на метастатски депозити во истите беше поголема ($p=0,05$). Литературните податоци даваат објаснување дека ова би можело да се должи на напреднатиот стадиум на болеста, каде што како резултат на метастатското зафаќање на лимфните јазли и консекутивната деструкција на нивната цитоархитектоника од туморските метастатски депозити, доаѓа до редистрибуција на лимфната дренажа и кон други ешалони на лимфни јазли. (68)

СЛЈ со помал аптејк на радиоколоид почесто имаа метастаски депозити $p < 0,01$ споредбено со СЛЈ кои имаа повисок аптејк и беа најчесто

без метастаски депозити $p < 0,05$. Ваквите наоди, најверојатно, се должат на метастатската деструкција на лимфните јазли и нивната нарушена цитоархитектоника од туморските депозити, па, според тоа, респективно истите прифаќаат помал квантум на колоидни партикли. (69) Овие податоци ја наметнаа квантификацијата на прифаќањето на колоидните партикли од страна на СЛЈ како **статистички сигнификантен и дополнителен независен предиктор** на статусот на СЛЈ кај карциномот на дојка, во смисла на присуство или отсуство на метастатски депозити во истиот.

Статистичката анализа на добиените податоци покажа силна корелација помеѓу големината на примарниот тумор и метастатското зафаќање на СЛЈ ($p < 0,001$). Бројот на пациенти со позитивни СЛЈ сигнификантно растеше со порастот на големината на примарниот тумор, а бројот на пациенти со негативни СЛЈ сигнификантно опаѓаше со порастот на големината на примарниот тумор ($p < 0,01$). Ваквите наоди се во корелација со туморската биологија (поголемата димензија на примарниот тумор најчесто е асоцирана со понапредната фаза на болеста) и ја истакнуваат големината на примарниот тумор како сигнификантен предиктивен фактор за статусот на СЛЈ.

Според податоци од литературата, испитувани се повеќе фактори и карактеристики на туморот, во насока на предикција на статусот на СЛЈ, како што се: присуство на естрогенски рецептори, присуство на прогестеронски рецептори, вредности на Ki67, HER2 позитивитет, AGFR-C, p53, Fabp1 и Сур2A13. Во нашата студија, како сигнификантни предиктори на статусот на СЛЈ, во смисол на присуство или отсуство на метастатски депозити во истиот, се наметнаа големината на примарниот тумор и квантификацијата на аптејкот на колоидни партикли во истиот. Останатите фактори не беа предмет на нашето истражување.

Во најголем процент во нашата студија, од 58,2% локализацијата на карциномот (примарниот тумор) е во горно латерален квадрант на дојката,

потоа следи локализацијата во долно латерален квадрант со 29,1%, горно медијален квадрант со 7,3% и долно медијален квадрант со 5,4 %. Процентуалната разлика помеѓу локализацијата на карциномот во горно латералниот квадрант верзус останатите модалитети на локализација во однос на квадрантите на дојката е доминантна и е статистички сигнификантна за $p < 0,05$. На левата дојка во најголем процент од 68,8% локализацијата на карциномот е горно латерално и процентуалната разлика помеѓу локализацијата на карциномот во горно латералниот квадрант на дојката верзус останатите квадранти е доминантна и е статистички сигнификантна за $p < 0,05$. На десната дојка локализацијата на карциномот во горно латералниот квадрант е застапена со 43,5%, а во долно латералниот квадрант со 41,3%. Процентуалната разлика помеѓу локализацијата на карциномот во горно и долно латерален квадрант на десната дојка верзус останатите два квадранти е доминантна и е статистички сигнификантна за $p < 0,05$.

СЛЈ во нашата студија кои се локализирани аксиларно во најголем дел потекнуваат од тумор кој е локализиран во горно латерален квадрат на дојката 58,8%, со 30,4% потекнуваат од тумор кој е локализиран во долно латерален квадрат на дојката, со 5,9% потекнуваат од тумор кој е локализиран во горно медијален квадрат на дојка и со 4,9% потекнуваат од тумор кој е локализиран во долно медијален квадрат. Процентуалната разлика којашто се регистрира е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0000$).

СЛЈ кои се локализирани аксиларно и мамиларно во најголем дел потекнуваат од тумор кој е локализиран во горно медијален и долно медијален квадрат на дојката во 75,5% од случаите. Процентуалната разлика која се регистрира е статистички сигнификантна за $p < 0,05$. Ваквите податоци од нашата студија само ја потврдуваат анатомската лимфна дренажа на дојката каде што латералните квадранти дренираат најчесто кон лимфниот

базен на аксилата, додека, пак, медијалните квадранти дренираат кон лимфниот базен на a. mammaria interna.

Во студиите на Uren и Kawase се укажува дека најчесто “жлездата стражар” е локализирана во пазувната јама (94%), но кај останатите е екстрааксиларно, пред се во базенот на артерија мамарија интерна. (26,27)

Во поново време, статусот на интрамамарните лимфни јазли се наметнува како важен предиктор во градацијата на (N) стадиумите кај карциномот на дојка и во модификацијата на постоперативните терепевтски протоколи.(70) Доколку се позитивни, речиси секогаш се асоцирани со **полоша прогноза на болеста и со рedefинирање на адјувантните онколошки протоколи.** (71,72) Визуализацијата на интрамамарните лимфни јазли е ретка и клиничкото значење на метастазите/микрометастазите во базенот на овој лимфен дренажен пат сеуште не е прецизно дефинирано (73). Интересот и за овој дренажен пат датира многу години пред воведувањето на лимфосцинтиграфијата и методот за детекција на СЛП, кога при проширената радикална мастектомија по Halsted, покрај аксиларните, биле екстирпирани и интрамамарните лимфни јазли и истите биле хистопатолошки анализирани.(54) Првичните анализи на лимфните јазли од овој базен укажуваат дека доколку се открие метастатски депозит во истите, секогаш корелира со полош исход, поагресивна варијанта на карцином или со помала стапка на преживување. (73).

Shen et al. во својата студија ги истакнуваат метастатски позитивните интрамамарни лимфни јазли како независен прогностички фактор за намалување на стапката на 5 годишно преживување.(74).

Guth et al. and Hogan et al. во 2 различни студии докажуваат дека пациентите со позитивни интрамамарни лимфни јазли имаат поагресивни тумори, со повисока рата на лимфоваскуларна инвазија и аксиларни метастази (75,73).

Пациентите со позитивни интрамамарни и негативни аксиларни лимфни јазли имаат слично 10 годишно преживување, приближно 60%, како и пациентите со позитивни аксиларни лимфни јазли (76,77) Овој факт ја фаворизира потребата од детекција и на статусот на интрамамарните лимфни јазли и секогаш треба да се има предвид и можната дренажа кон овој лимфен базен со цел да не се превиди една **високо ризична подгрупа** на пациенти со негативни аксиларни, а позитивни интрамамарни лимфни јазли. Последните клинички студии сугерираат вклучување на постоперативна адјувантна терапија или радиотерапија кај оваа подгрупа на пациенти (78)

Ефектите од вклучување на радиотерапија врз стапката на преживување кај пациентите со позитивни интрамамарни лимфни јазли се предмет на проучување на големата клиничка студија спроведена од European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC 22922). Резултатите покажуваат сигнификантно подобрување на стапката на преживување при вклучување адјувантен радиотераписки протокол. Селекцијата на пациентите вклучени во оваа студија е врз основа на дијагностицирани позитивни интрамамарни лимфни јазли детектирани со методот за откривање на СЛЈ. (79)

Дилемата дали позитивните интрамамарни лимфни јазли корелираат со статусот на аксиларните лимфни јазли сеуште е научна енигма.

Во нашата студија беа детектирани интрамамарни сентинелни лимфни јазли кај 6 пациенти (5,6%) од вкупно 108 пациенти кај коишто беа детектирани СЛЈ. Кај ниту еден од овие 6 пациенти не беше детектирана дренажа ексклузивно само кон базенот на а. *mammaria interna*, туку истовремено беа детектирани и СЛЈ во аксиларниот базен. Кај 3 (50%) пациенти аксиларните сентинелни лимфни јазли беа позитивни на метастатски депозит, додека кај останатите 3 (50%) истите беа негативни.

Претходните истражувања на ова поле покажуваат различни комбинации на метастатско зафаќање на овие два лимфни базени: негативни

мамарни и негативни аксиларни, позитивни мамарни и негативни аксиларни и позитивни мамарни и позитивни аксиларни лимфни јазли. Досега во литературата нема објавено податоци за негативни мамарни и позитивни аксиларни лимфни јазли. Овој факт ја истакнува дилемата за можна примарна дренажа на карциномот на дојка кон мамарните лимфни јазли и останува научен предизвик кој треба да се разреши во иднина.

Во тој контекст, Vijan et al. во својата студија потврдуваат дека пациентите со позитивни мамарни јазли имаат висока инциденца на аксиларни метастатски депозити и ја презентираат хипотезата дека можеби мамарните јазли се сентинелни јазли за аксиларните (80)

Според податоците во литературата, доколку мамарните СЛЈ јазли се позитивни, а аксиларните СЛЈ се негативни, радикалната аксиларна дисекција би можела да се одбегне. Екстензитетот на аксиларната дисекција би требало да биде базиран на статусот на аксиларните СЛЈ.

Клиничкото значење на позитивните мамарни СЛЈ јазли сеуште не е прецизно дефинирано. Понатамошни детални анализи на поголеми серии пациенти ќе придонесат за разјаснување на оваа клиничка дилема. Дијагнозата на мамарните СЛЈ го подобрува нодалното стејцирање кај карциномот на дојка и открива една подгрупа на пациенти со висок ризик кај кои е индицирана постоперативна адјувантна хемо- и радиотерапија. Клиничката одлука за радикална аксиларна дисекција би требало да базира на статусот на аксиларните СЛЈ дури и кога мамарните СЛЈ се позитивни на метастатски депозити.

Примената на SPECT/CT модалитетот во нашата студија ни овозможи истовремена функционална и морфолошка дијагностичка информација (тродимензионален приказ на регијата од интерес и егзактна анатомска локализација на СЛЈ). Детекциската (идентификациската) моќ на SPECT/CT модалитетот покажа статистички високо сигнификантна предност во однос на планарната сцинтиграфија ($p < 0,001$), како во однос на детекциската рата,

така и во однос на сензитивноста и точноста, и со тоа се наметна како техника од избор во понатамошните наши истражувања на полето на детекција на СЛЈ. Прецизната предоперативна SPECT/CT анатомска локализација на СЛЈ влијаеше на точноста на позиционирањето и намалувањето на екстензитетот на хируршкиот рез, допринесувајќи на тој начин кон минимално инвазивниот хируршки концепт.

Во последните години, на полето на детекцијата на СЛЈ и радионасочената минимално инвазивна хирургија се направени револуционерни откритија. Синтетизирани се нови т.н. хибридни трасери коишто претставуваат стабилни комплекси на радиоколоид и флуоресцентни компоненти. Концептот на идентификација на СЛЈ, којшто досега базираше на 2 чекори: **ВИДИ** (пребоеност со метиленско сино) и **СЛУШНИ** (звучен сигнал од гама детекторската сонда), сега е надополнет со уште еден чекор **ВИДИ** (интраоперативна флуоресценција). На овој начин максимално се зголемува прецизноста на оперативната техника, а со тоа дополнително се фаворизира концептот на минимално инвазивната радионасочена хирургија.

7.2 МАЛИГЕН МЕЛАНОМ

Меланомот претставува тип на карцином кој предоминантно ја зафаќа кожата, иако може да се презентира секаде каде што постојат пигментни клетки во организмот, вклучително и на ретка локализација како што е окото.

Малигните меланоми претставуваат 5% од карциномите кај мажите и 4% кај жените, а, воедно, се шести најчест тип на малигнитет кај машката популација и седми најчест тип кај женската популација. Инциденцата е во константен пораст и во моментов изнесува 13 / 100.000 население. Се карактеризира со висока агресивност и можност за дисеминација како по

лимфен пат, така и хематогено. Појавата може да биде како врз основа на веќе постоечки невус (бемка), така и de novo во отприлика 30% или една третина од случаите.

Присуството на метастатски депозити во регионалните лимфни јазли е **најважен прогностички фактор** за пациентите во ран стадиум на малигнен меланом. Доколку се докаже присуство на метастази / микрометастази во лимфните јазли, пациентите се класифицирани како N+ или стадиум III на болеста, според TNM класификацијата, и подлежат на радикална регионална лимфаденектомија. Се додека регионалните лимфни јазли се негативни на депозити, т.е. N0, според TNM класификацијата станува збор за стадиум II на болеста и хируршка интервенција (локорегионална лимфаденектомија) не е индицирана.

Кај 20% од пациентите со среден степен на дебелина на меланомите ќе се јави метастатска болест во базенот на лимфни јазли во кој што примарно дренира туморот. (82,83) Затоа, од круцијално значење е правилната проценка на статусот на регионалните лимфни јазли, а со тоа и правилен стејџинг на болеста и селекција на пациентите кои би имале бенефит од регионална лимфаденектомија и соодветен постоперативен тераписки протокол.

Концептот на СЛЈ кај малигните меланоми е широко прифатена, минимално инвазивна процедура, и дава свој придонес особено за **стејџингот на болеста** кога се присутни окултни метастази (микрометастази) во лимфните јазли, без клинички манифестации на метастатска болест. Резултатите од мета анализите во литературата покажуваат висока сензитивност и специфичност на методот од 97,3% до 98,6%, со лажно негативна рата од 2% до 3,4% и појава на рецидив во 5 годишен интервал кај 7,5% од пациентите кај кои е применета методот за биопсија и екстирпација на СЛЈ. (45, 84)

Пилот студијата или кривата на учење во нашето истражување прикажа резултати кои во целост корелираа со податоците кои се објавени во светската литература: детекциска рата од 100%, сензитивност од 91,7%, специфичност од 100%, точност од 98,1%, негативна предиктивна вредност од 97,6% и лажно негативна рата од 2,5%. Беа детектирани и отстранети вкупно 52 сентинелни лимфни јазли (2 ± 1 СЛЈ по пациент) од кои 40 СЛЈ беа негативни на депозити, а 12 сентинелни лимфни јазли кај вкупно 5 пациенти (по детална патохистолошка анализа – Н&Е боење и имунохистохемија) беа позитивни на метастази и кај овие пациенти беше индицирана и реализирана комплетна (радикална) регионална лимфаденектомија во базенот каде што беше детектиран СЛЈ.

Од вкупно 30 анализирани пациенти во нашата пилот студија, предоперативно класифицирани како T1b / T2+ тумори (1-4mm), N0, M0, и во условно стадиум II од болеста, кај 5 (16,7%) пациенти, како резултат на примената на методот за детекција на СЛЈ со радиоколоид, беше изведено **рестејцирање** во стадиум III од болеста (N+ според TNM класификацијата), регионална лимфаденектомија и адекватен постоперативен онколошки терапевтски протокол. Само кај еден пациент, методот за детекција на СЛЈ прикажа лажно негативен резултат (СЛЈ беше негативен, а во регионалните лимфни јазли се докажа метастатска болест). Кај овој пациент, лажно негативниот резултат, најверојатно, се должеше на големината на примарниот тумор (T3a според TNM класификацијата, Breslow скор 3,6 мм дебелина, Clark level 4). Резултатите од нашата студија покажаа силна, статистички сигнификантна корелација помеѓу големината на примарниот тумор и позитивитетот на регионалните лимфни јазли, што оди во прилог на претходното тврдење.

Во главната студија беа вклучени 80 пациенти (T1b / T2+ (1-4mm), N0, M0), во условно предоперативен стадиум II од болеста, кои во целост ги исполнија инклузиските критериуми. Кај сите субјекти беа детектирани и

патохистолошки анализирани во просек 2 ± 1 СЛЈ по пациент (вкупно 162 СЛЈ), при што кај 28 (35%) испитаници беа докажани СЛЈ(+) и истите беа **рестејцирани** (класифицирани како стадиум III, N+) и подложени на радикална регионална лимфаденектомија и адекватен постоперативен онколошки терапевтски протокол. Сензитивноста на методот за детекција на СЛЈ во главната студија изнесуваше 96,6%, негативната предиктивна вредност изнесуваше 98,1%, а лажно негативната рата изнесуваше 1,96%. Глобалната точност на методот изнесуваше 98,8%. Од вкупно 80 пациенти, кај сите 80 беше пронајден сентинелниот лимфен јазол, при што стапката на идентификација изнесуваше 100%. Вистински позитивни беа 28 субјекти, лажно негативен 1 и вистински негативни 51 од вкупно 80 субјекти каде беше детектиран СЛЈ. И во главната студија, кај пациентот со лажно негативен резултат, големината на примарниот тумор беше T3a според TNM класификацијата, Breslow скорот 3,2 мм дебелина, а Clark level 4, што, најверојатно, беше причина за ваквиот наод. Презервирачка хируршка интервенција во главната студија беше изведена кај 51/80 (63,75%) од пациентите.

ASCO (American Society of Clinical Oncology) и SSO (Society of Surgical Oncology), во 2012 година ги утврдија и воведоа гайдлајнсите за примена на методот за детекција на СЛЈ кај малигниот меланом. (85) Според оваа мета анализа, детекцијата на СЛЈ како метод е препорачан кај сите меланоми со средна дебелина (Breslow 1-4 mm) на било која анатомска локализација кај пациентот, со клинички негативни регионални лимфни јазли и без дистантни метастази. Примената на методот кај оваа група пациенти дава точен стејџинг на болеста, особено кога се присутни окултни метастази (микрометастази) во лимфните јазли, без клинички манифестации на метастатска болест.

Кај меланомите со дебелина (T4, Breslow > 4mm), примената на овој метод се препорачува за контрола на регионалното проширување на болеста

и евентуално upstaging што ќе има доминантна улога во одредување на постоперативните онколошки терапевтски протоколи, но само кај оние пациенти со клинички негативни регионални лимфни јазли и без дистантни метастатски депозити.

Кај меланоми со дебелина (T1, Breslow < 1mm) нема доволно научни податоци базирани на докази за рутинска примена на овој метод кај сите пациенти. Сепак, кај одредена подгрупа пациенти со висок ризик, како што е: улцерирани тумор, висок митотски индекс од > 1 митоза / мм² и дебелина на туморот од 0,75-0,99 мм, методот се препорачува за проценка на статусот на регионалните лимфни јазли.

Во нашата студија, кај сите пациенти, во целост беа почитувани препораките на ASCO и SSO при изборот и селекцијата на пациентите во смисол на инклузивните и ексклузивните критериуми.

Детекцијата на СЛЈ како метод е асоцирана со ниска рата на компликации (86, 81) што ја прави процедурата **сигурна и со низок ризик за изведување** по здравјето на пациентите. Во литературата најчесто се споменува формирањето на сером во 1,7% од случаите и анафилактичка реакција (од најчесто блага алергиска реакција, до многу ретко појава на анафилактичен шок) кон метиленското сино, присутна кај 1% од субјектите. (87) Уште поретко како компликација се споменува трајно ``тетовирање`` на кожата. Во нашата студија, единствено беше забележано присуство на пролонгирана лимфореа кај 3 пациенти (2,7%), што спонтано се повлече во период од 21 ден постоперативно. Вкупната рата на компликации за методот на детекција на СЛЈ во светски размери, според реномираната студија MSLT I се движи помеѓу 5-10% од случаите, споредено со ратата од 32,7% кај методот на елективна радикална лимфаденектомија. (88) Проспективната рандомизирана студија со висок научен импакт, The Sunbelt Melanoma trial, исто така пркажува ниска стапка на компликации

при примената на методот за детекција на СЛЈ од 4,6% компарирано со 23,3% кај елективната лимфаденектомија. (89)

Правилната класификација на пациентите со СЛЈ(-) во стадиум I или II на болеста, и оние со СЛЈ(+) во стадиум III на болеста е од есенцијално значење и дава придонес на три нивоа (90,91):

- Подобен и прецизен стејџинг на пациентите;
- Регионална контрола на болеста;
- Правилен избор на адјувантен тераписки проткол;

AJCC (American Joint Committee on Cancer), во 2002 година, постави дијагностички алгоритам и гајдлајнси за стејџинг на меланомите со директна корелација помеѓу стадиумот на болеста и прогнозата на истата. (92,93) Според овој алгоритам, присуството на нодални метастази N+ (рестејдирање на пациентите од стадиум II во стадиум III на болеста) се смета како **најсилен независен предиктивен фактор за преживување на пациентите.** Ревизијата и надополнувањето на овие гајдлајнси резултираше со нивно ново надградено издание во 2009 година, каде посебен фокус е посветен на N сегментот од TNM класификацискиот систем, во смисла на процена на прогностичката вредност врз преживувањето на присутни микрометастази и / или изолирани туморски клетки (детектирани со методот за мапирање на СЛЈ) во лимфните јазли компарирано со присуството на макрометастази во истите. (94)

Концептот на СЛЈ кај малигните меланоми го дава својот најголем допринос токму овде, во стејџингот на болеста кога се присутни окултни метастази (микрометастази) во лимфните јазли, без клинички манифестации на метастатска болест. Затоа ревидираното и надградено издание на AJCC гајдлајнсите од 2009 година особено внимание им посветува на **микрометастазите и изолираните туморски клетки** и нивното

прогностичко влијание врз 5 годишното преживување на пациентите (доколу е позитивна само една од анализираниите лимфни жлезди на микрометастази, тогаш преживувањето е над 70%, а доколку се зафатени 4 или повеќе лимфни жлезди, преживувањето сигнификантно опаѓа на 39%).

Во тек е голема мултицентрична студија MSLT II (multicenter selective lymphadenectomy trial) која треба да го докаже позитивниот **терапевтски ефект** на оперативното отстранување на детектираните СЛЈ(+) и / или регионалната лимфаденектомија, како и ефектот што овие интервенции го имаат на 5 годишното преживување. Двете најголеми проспективни рандомизирани студии (MSLT I и The Sunbelt Melanoma Trial) презентираат позитивитет на метастатско / микрометастатско зафаќање од 16 до 18% на останатите несентинелни лимфни јазли од истиот базен, кај пациентите кај кои СЛЈ бил позитивен и била индицирана и спроведена регионална лимфаденектомија. (88,89)

Мултицентричната ретроспективна студија на Wong et al. ги анализира пациентите со позитивен СЛЈ(+), но без спроведена регионална лимфаденектомија и презентира регионална нодална метастатска болест кај 15% од овие пациенти. (95)

Од претходно изнесеното, може да се заклучи дека ризикот за појава на регионални нодални метастази во базенот каде што припаѓа и СЛЈ, доколку СЛЈ е позитивен, а не се изврши регионална лимфаденектомија, изнесува 15-20%. (96) Кај пациентите каде бил спроведен методот за детекција на СЛЈ и наодот покажал СЛЈ(+), па следствено била реализирана регионална лимфаденектомија, 5 годишното преживување е сигнификантно поголемо и изнесува 72,3% компарирано со 52,4% кај пациентите без спроведен метод за детекција на СЛЈ, коишто развиле клинички манифестна регионална нодална болест. (hazard ratio 0,51; 95% CI, 0,32 to 0,81; p = 0,04). (88)

Во нашата студија, кај сите пациенти каде што беше детектиран СЛЈ(+) (28/80 пациенти), беше спроведена и регионална лимфаденектомија во насока на сведување на можноста за рецидив на болеста на минимум. Статусот на СЛЈ кај нашите испитаници се покажа како најсигнификантен предиктор за 5 годишно преживување и редукција на ризикот за рецидив на болеста. Пациентите со СЛЈ(-) имаа 5 годишно преживување од 95,5% споредено со пациентите со СЛЈ(+) каде што овој параметар беше 76,9%. Кај пациентите со СЛЈ(-) ризикот за рецидив на болеста беше редуциран за 19,8% споредено со пациентите со СЛЈ(+).

Morton et al. во својата студија на 10 годишно следење на 2001 пациенти со примарен кожен меланом, поделени во 2 групи (група со биопсија на СЛЈ и консекутивна регионална лимфаденектомија и група без биопсија на СЛЈ, но со клиничка опсервација) го потврдуваат бенефитот од примената на овој метод кај пациентите класифицирани како T1b / T2+ (1-4mm), N0, M0. (97) Во групата пациенти со биопсија на СЛЈ, 10 годишното преживување е сигнификантно поголемо $71,3 \pm 1,8\%$ споредено со $64,7 \pm 2,3\%$ кај опсервациската група (HR 0,76; 95% CI 0,62 to 0,94; $p=0,01$). Пациентите со СЛЈ(+) имаат сигнификантно помало 10 годишно преживување од $62,1 \pm 4,8\%$, споредено со $85,1 \pm 1,5\%$ кај пациентите со СЛЈ(-) (HR 3,09; 95% CI 2,12 to 4,49; $p<0,001$). Мултиваријантната анализа на податоците од оваа студија го истакнува статусот на СЛЈ како најсилен предиктор за рецидив на болеста или за летален исход.

Неколку клиничко-патолошки карактеристики на пациентите или туморите се идентификувани како **независни прогностички фактори** кои влијаат врз појавата на рецидив на болеста и / или врз ратата на преживување. (98,99,100) Такви фактори се: возраста, полот, локализацијата на туморот, дебелината на туморот според Breslow, инвазијата според Clark, присуството на улцерации, митотичкиот индекс, васкуларната инвазија и

присуството на тумор инфилтрирачки лимфоцити. Статусот на СЛЈ, е исто така, потенциран како силен независен прогностички фактор од кој што зависи исходот на болеста и / или преживувањето. (101)

Повеќе научни студии ја испитуваат корелацијата помеѓу карактеристиките на пациентот / туморот и присуството на метастатски депозити во СЛЈ. (102,103,104) Податоците од литературата ја издвојуваат дебелината на туморот според Breslow како најважен поединечен прогностички фактор за исходот кај малигните меланоми, поверодостоен дури и од нивото на инвазија според Clark. (99) Според податоците од нашата студија, Breslow и Clark скорот покажува сигнификантна позитивна корелација со присуството на метастатски депозити во СЛЈ (поголемата дебелина на туморот $p = 0,004$ и поголемото ниво на туморска инвазија $p = 0,02$ асоцираа со поголем број на детектирани СЛЈ+). Високиот Breslow скор беше асоциран со СЛЈ(+) кај 41,7% од пациентите компарирано со 5,6% од пациентите со СЛЈ(-). Нивото на инвазија според Clark степен 4 беше статистички сигнификантно асоцирано со СЛЈ(+) кај 58,3% од пациентите ($p=0,017$), додека, пак, кај 66,7% од пациентите со СЛЈ(-) беше детектиран Clark степен 3 ($p=0,021$).

Присуството на улцерации кај примарниот тумор ја зголеми веројатноста за детекција на СЛЈ(+) за 1,4 пати во нашата студија, презентирајќи ја оваа туморска карактеристика како сигнификантен предиктор на статусот на СЛЈ ($p = 0,03$).

Туморската инфилтрација со лимфоцити рефлектира специфичен имун одговор на домаќинот кон малигниот меланом како резултат на препознавањето од страна на имуниот систем, или на тумор-асоцираните антигени на површината на антиген презентирачките клетки, или, пак, на антигените на површината на самите туморски клетки. Биолошкото значење на овој имун одговор тригериран од Т клетките е секогаш асоцирано со регресија или прогресија на инвазивните туморски маргини. Повеќе студии

прикажуваат корелација помеѓу инфилтрацијата со лимфоцити и подобрата прогноза кај меланомите. (105,106)

Присуството на лимфоцитна инфилтрација секогаш е асоцирано со активација на одбрамбените механизми на пациентот кон малигниот меланом и во нашата студија беше детектирано како фактор кој ја намалува можноста за детекција на СЛЈ(+) за 0,4 пати. Кај 77,3% од нашите испитаници со СЛЈ(-) беше детектирано присуство на умерен степен на лимфоцитна инфилтрација, што беше статистички сигнификантно ($p=0,003$).

СЛЈ со поголем uptake на радиоколоид (2312 ± 762) импулси во 10 секунден интервал беа најчесто без метастатски депозити ($p<0,05$). СЛЈ со послаб аптејк на радиоколоид (734 ± 321) импулси во 10 секунден интервал, најчесто беа позитивни на метастатски депозити ($p<0,01$). Овие податоци ја наметнаа квантификацијата на прифаќањето на колоидните партикли од страна на СЛЈ како статистички сигнификантен и дополнителен независен предиктор на статусот на СЛЈ и кај пациентите со малигнен меланом, во смисла на присуство или отсуство на метастатски депозити во истиот.

Детекциската (идентификациската) моќ на SPECT/CT модалитетот, и кај пациентите со малигнен меланом, покажа статистички високо сигнификантна предност во однос на планарната сцинтиграфија ($p<0,001$), како во однос на детекциската рата, така и во однос на сензитивноста и точноста, и со тоа се наметна како техника од избор во понатамошните наши истражувања на полето на детекција на СЛЈ.

7.3 КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

Колоректалниот аденокарцином (КРК) претставува втор најчест малигном кај женската популација (9,2% од сите дијагностицирани

неоплазми) и трет најчест малигном кај машката популација (10% од сите дијагностицирани неоплазми). Според СЗО, ова малигно заболување е класифицирано на високото четврто место како причина за летален исход помеѓу неопластичните процеси, веднаш зад карциномот на белите дробови, карциномот на желудникот и карциномот на црниот дроб.

Во моментов, претставува водечка причина за морбидитетот и морталитетот во гастроинтестиналната онкологија на западниот свет. Во Република Македонија, колоректалниот карцином се јавува со инциденца од околу 25,7 на 100.000 популација. Овој податок ја вбројува нашата земја во групата земји со средна до висока инциденца за ова заболување, што кореспондира со инциденцата во останатите европски земји. Секоја година нови 500-600 случаи на колоректален карцином се дијагностицираат во Република Македонија. Загрижува фактот дека речиси 75% од истите, во моментот на дијагностицирањето, се наоѓаат во висок трет стадиум на болеста, односно со клинички детектабилни метастази во регионалните лимфни јазли.

Постојаниот прогрес во раното и навремено дијагностицирање и третманот на овие пациенти, сигнификантно ја зголеми стапката на преживување во последните децении и таа сега надминува 60%. (107,108) Иако во последната декада се бележат големи напори за подобро разбирање на механизмите на оваа неоплазма на генетско и на молекуларно ниво (109), многу малку молекуларни компоненти станаа дел од клиничката практика, без оглед што за дел од нив постојат бројни научно базирани докази.

Поради овој факт, сè уште, стејџингот базиран на големината на туморот (T), статусот на лимфните јазли (N) и статусот на далечните метастази (M) остануваат најсилниот прогностички фактор за стапката на преживување кај болните од КРК.

За пациентите што подлежат на куративни хируршки ресекции, статусот на лимфните јазли (постоењето или отсуството на метастази во нив)

претставува **најважен прогностички фактор.** (110) Следствено на тоа, огромни напори се вложени во диференцирањето на квалитативните (присуство или отсуство на метастатска/микрометастатска болест) и квантитативните (број на детектирани и анализирани жлезди) аспекти за проценка на лимфните јазли. На тоа поле, повеќе не смееме никако да се водиме според застарениот принцип на едноставна дистинкција - болест со „позитивни јазли“ (pN+) и болест со „негативни јазли“ (pN0).

Ваквите истражувања во минатите децении доведоа до тоа принципите на лекување на карциномот на колонот и на ректалниот карцином да станат различни, односно дивергентни.(111) Современиот стандард за нега кај ректалниот карцином вклучува предоперативен стејџинг - визуализација со магнетна резонанца и ендоскопски ултразвук. Јасни критериуми се утврдени за примена на предоперативна адјувантна радиохемотерапија, а стандард во хируршката техника стана ТЕМ (трансанална ендоскопска микрохирургија). Исто така, во хируршките протоколи за ректалниот карцином се инкорпорирани и квалитативни индикатори (маркери) што ја вклучуваат проценката на циркумференцијалната маргина на ресекција, па со тоа прогнозата за периодот на преживување на ректалниот карцином денес ја надминува прогнозата кај пациентите со карцином на колонот. Во поново време, концептот на сентинелниот лимфен јазол (жлезда стражар) и модерниот дијагностички модалитет FDG-PET/CT даваат силен придонес кон пре-/интраоперативниот стејџинг и кај карциномот на колон, а со тоа и кон подобрувањето на стапката на преживување и кај овие пациенти.

Сепак, и кај пациентите со ректален карцином, како и кај пациентите со карцином на колонот, статусот на лимфните јазли сè уште претставува најкорисен, а истовремено и најоспоруван предиктивен фактор. Без разлика на огромниот труд вложен за пронаоѓање стандарди за тоа колку минимум лимфни јазли би требало да се отстранат и да се анализираат, вклучително и факторите што влијаат на овој алгоритам, и без разлика што тие препораки

денес би требало да се стандард во третманот на пациентите со КРК, сепак остануваат неразјаснети многу важни прашања.

Имено, кај пациентите во стадиум II на болеста, кои немаат метастази во своите лимфни јазли, односно се N(-), забележана е стапка на локален рецидив од околу 25-30%, а, исто така, голем дел од пациентите што се во висок втор стадиум имаат помало петгодишно преживување од 72,2% отколку пациентите во низок III стадиум на болеста од 83,4%. (112) Се наметнува прашањето: дали овие пациенти, доколку биле правилно стејцирани, односно биле пронајдени метастази во нивните лимфни јазли (миграција од II во III стадиум на болеста), со што би била индицирана и спроведена адјувантна хемотерапија кај истите, би имале подобра стапка на петгодишно преживување?

Адјувантната хемотерапија значително го продолжува преживувањето на пациентите во стадиум III на болеста, но е со мал бенефит за пациентите со стадиум II на болеста (настрана нејзината токсичност, несаканите ефекти и цената која е висока), поради што тие своето лекување го завршуваат само со куративна хируршка ресекција.

Во обид да се надмине погоре евидентираниот проблем, вложени се значителни средства во спроведување многубројни различни мултицентрични истражувања. Во тој контекст, според препораките на AJCC (American Joint Cancer Committee) од нејзиното 7 издание, кое е денес сеуште во активна употреба, хемотерапијата се зема во предвид како опција и кај пациенти во II стадиум кои имаат повеќе предефинирани и идентификувани ризик-фактори: лоша диференцијација на туморот, генетска предиспозиција, позитивна фамилијарна анамнеза, перфорирани или егзулцерирани тумори, агресивна биологија на туморот и недоволен број семплирани лимфни јазли. Сепак, дури и кај ваквите случаи, перзистира научниот консензус дека **одлуката за хемотерапија првенствено треба да биде базирана на статусот на лимфните жлезди.**

Од друга страна, зачудува фактот дека токму овој постигнат консензус, истовремено е и основа за најсилно научно конфронтирање, и сè уште нема јасно дефиниран научен став за тоа колку лимфни јазли минимум треба да се отстранат и да се анализираат, кои се факторите што влијаат врз нивното изолирање, колку детално треба тие патохистолошки да се анализираат, што точно означуваат метастазите во лимфните јазли и каква е улогата на микрометастазите и изолираните туморски клетки врз прогнозата и преживувањето на пациентите.

Одговорот на овие прашања е основниот концепт на сентинелното мапирање кај колоректалниот карцином. Тоа е **концепт за правилна дијагноза и стејцинг кај пациентите, без било какво намалување на опсегот на хируршката ресекција.** Дилемата е дали тој лимфен јазол/јазли можеме да го/ги детектираме и со детална, фокусирана и екстензивна негова/нивна патохистолошка анализа да одговориме на најважното прашање: има или нема метастатски депозити во него/нив?

Нашата студија беше дизајнирана како лонгитудинална контролирана проспективна и имаше за цел да ја испита валидноста на методот за детектирање на сентинелниот лимфен јазол кај пациенти со КРК со примена на ^{99m}Tc -обележан колоид. Од вкупно регистрирани 94 пациенти, предоперативните инклузиски критериуми ги исполнија 85 пациенти, а од нив петмина отпаднаа од студијата по интра- / постоперативната детекција на некој од ексклузивните критериуми. Тоа нè носи кон конечниот број од 80 пациенти, 40 субјекти во контролната група каде што не беше вршена детекција на СЛЈ и 40 субјекти кај кои што беше спроведен методот за детекција на СЛЈ чија валидност беше испитувана. Субјектите од контролната група беа подложени на идентична хируршка интервенција – тотална мезоколична или мезоректална ексцизија со комплетна регионална лимфаденектомија (екстензитет и хируршки пристап), како и субјектите каде беше детектиран СЛЈ, но анализата на екстирпираниите регионални лимфни

јазли кај нив беше спроведена единствено со класичниот (конвенционален) патохистолошки метод на Н&Е пребојување (на 1-2 пресеци). За разлика од субјектите од контролната група, патохистолошката анализа на лимфните јазли кај пациентите каде што беше детектиран СЛЈ, освен Н&Е пребојување (на повеќе пресеци, минимум 4), вклучуваше и имунохистохемија (со примена на 3 антители). Анализата на резултатите од контролната група ќе послужи за компарација на стапката на 5 годишното преживување и должината на периодот без појава на болест (рецидив) помеѓу двете групи субјекти.

Мора да се напомене дека сите 40 пациенти, кај кои што беше применет методот за детекција на СЛЈ, беа оперирани од еден хирург, во една институција и од еден ист специјалист по нуклеарна медицина беше спроведено сентинелното мапирање, што ја прави оваа студија со висок импакт, особено ако се земе предвид дека сите објавени публикации се со мал број пациенти, најчесто изведени мултицентрично и од поголем број хирурзи.

Останува и фактот дека инкорпорирањето на субјектите во студијата беше тешко бидејќи бараше пациенти со низок стадиум на болеста, наспроти реалноста што околу 75% од пациентите при првичната дијагноза се веќе во трет стадиум на болеста со афектирани лимфни јазли. Затоа, во иднина, посебен фокус треба да се посвети на **скрининг програмите**, што ќе овозможи навремена дијагноза на неопластичниот процес и следствено адекватен хируршки и/или онколошки третман што сигнификантно ќе ја зголеми стапката на 5 годишното преживување.

Во нашата студија беа анализирани сите аспекти поврзани со статусот на регионалните лимфни јазли како сигнификантен прогностички фактор за егзактниот стејџинг и пост терапискиот исход на пациентите со КРК, факторите што влијаат врз бројот на изолирани лимфни јазли, а посебен фокус беше насочен врз идентификација и процена на валидноста на

сентинелниот лимфен јазол, upstaging-от со примена на имунохистохемиска анализа и детекцијата на евентуално присутната аберантна лимфна дренажа.

7.3.1 БРОЈ НА ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ

Во нашата студија, средниот број изолирани лимфни јазли по пациент во целата група со КРК е $15,57 \pm 6,2$, додека, пак, во групата со СЛЈ средно се изолирани 14 ± 2 лимфни јазли (од 12 до 16). И во двете групи вкупниот број изолирани лимфни јазли е повисок или еднаков со актуелните препораки според АЈСС за облигаторен минимум од 12 изолирани и анализирани лимфни јазли за правилен стејџинг на болеста.

Иако не постои јасно дефиниран и општо прифатен консензус околу прашањето што претставува соодветен број на изолирани лимфни јазли по извршена куративна хируршка интервенција кај пациентите со КРК, сепак, со цел да се постави унифициран клинички стандард, постигнат е договорен консензус за **облигаторен минимум од 12 лимфни јазли**, кој, воедно, претставува и најчеста референца кај најголемиот број истражувачи на ова поле.

Во 1990 година, во извештајот на работната група за изготвување оперативни гајдлајнси се инкорпорираше препорака кон Светскиот конгрес на гастроентерологија во Сиднеј, дека најмалку 12 лимфни јазли треба да бидат изолирани за да може да се направи правилен стејџинг на пациент со колоректален карцином. (113,114)

Оттогаш, куративната хирургија на колоректалниот канцер тежнее да изолира најмалку 12 лимфни јазли, но, сепак, адекватен број изолирани јазли е постигнат само кај околу 60% од пациентите, дури и кај најсовремените отворени и лапароскопски хируршки интервенции. (115)

Седмото ревидирано издание на препораки според американскиот заеднички комитет за канцер (AJCC) сугерира да се изолираат најмалку 10–14 лимфни јазли за соодветен стејдинг на пациентите со КРК.

Постојат бројни публикации што околу оптималниот број изолирани лимфни јазли не се согласуваат со консензусот од минимум 12 жлезди. Неколку студии ја истражувале и ја детектирале поврзаноста меѓу адекватниот број изолирани лимфни јазли и стапката на преживување. (116)

Le Voyer et al. во својата студија покажале дека кај пациентите што имаат 1–3 позитивни лимфни јазли на метастатски депозити, има апсолутно подобрување во стапката на вкупното преживување од 23% доколку повеќе од 40 јазли биле анализирани, наспроти анализата на помалку од 10 лимфни јазли ($p < 0,0001$). Истовремено, кај пациентите со повеќе од четири позитивни лимфни јазли, петгодишната стапка на преживување по анализата на > 35 наспроти анализата на < 35 лимфни јазли била 71% наспроти 51% респективно ($p < 0,002$). (117)

Chen et al. укажале дека средната стапка на преживување кај карциномот на колон кога 1–7, 8–14 и ≥ 15 лимфни јазли биле анализирани изнесува 46%, 52% и 67% консекутивно ($p < 0,001$). (118)

Vather et al. известуваат дека средниот број на испитани лимфни јазли кај пациенти во трет стадиум на болеста, со летален исход во период од пет години, изнесувал 13,1 наспроти 14,8 кај оние што преживеале ($p < 0,0001$).

Goldstein et al. откриле дека бројот на пациенти со позитивни лимфни јазли продолжил да се зголемува сè додека 17 до 20 јазли не биле испитани, што довело до заклучок дека треба да бидат испитани најмалку 17 јазли. (119)

Wong et al. откриле дека на пациентите со негативни лимфни јазли им бил испитан далеку помал број жлезди отколку на пациентите со позитивни јазли (14 наспроти 20) и препорачуваат дека треба да се испитаат најмалку 14 лимфни јазли. (120)

7.3.1.1 Фактори што влијаат на бројот на изолирани лимфни јазли

Недоволниот број на изолирани лимфни јазли по хируршкиот третман се поврзува со пониска стапка на преживување според многу истражувања и затоа овој параметар претставува **мерка за квалитет** при лекувањето на КРК. За факторите што влијаат врз квантумот на изолирани лимфни јазли постои екстензивна анализа во научната јавност. (121,122,123,124,125,126) Сепак, и денес кога ќе се случи недоволен број лимфни јазли да се изолираат во примерокот (< 12) вината се бара кај хирургот (неквалитетно изведена операција), кај патологот (лошо ракување со примероците), кај болницата (низок квалитет на болниците со мал обем на работа и скромно искуство на хирургот), кај пациентите (постари пациенти, обезни или итни пациенти), кај локацијата на туморот (повеќе јазли изолирани при локализација во десниот колон), па дури и кај биологијата на туморот (генетски предиспозиции поврзани со можноста да се изолираат повеќе јазли). Повеќето од овие фактори беа предмет на анализа и во нашата студија.

Хирургот како фактор. Логично е дека, колку е поекстензивна лимфаденектомијата при операцијата на пациентот, толку се зголемува и бројот на изолирани лимфни јазли во примерокот.

Во студијата на Lane et al. спроведена меѓу членовите на Здружението за колопроктологија на Велика Британија и Ирска, откриено е дека стапката на локален рецидив кај колоректалниот карцином се намалила кога операцијата била изведена од трениран искусен специјалист. (127)

Скорешна студија во Норвешка покажува дека во текот на 2007 и на 2008 година, доволен број од 12 лимфни јазли биле евалуирани само кај 69% од пациентите. (128) Било заклучено дека хирурзите што имаат помалку од 25 ресекции на колонот во текот на една година преставуваат независен

предиктор за недоволно изолирање лимфни јазли (≤ 8 семплирани лимфни јазли).

Во нашата студија просечно беа изолирани 14 ± 2 лимфни јазли по пациент и со тоа е постигнат адекватен хируршки третман и правилен стејџинг на пациентите. Почитуван е оптималниот минимум од 12 изолирани лимфни јазли кај сите пациенти според препораките на AJCC. Ова може да се објасни со фактот што хирургот работи во универзитетска клиника од терциерно ниво и годишно оперира повеќе од 25 карциноми на дебелото црево (31,3 во текот на нашата студија).

Патологот како фактор. Од правилното постапување со препаратот, аналитичките методи што се на располагање, како и од неговата посветеност, патологот е значаен фактор за бројот на изолирани лимфни јазли.

За да се зголеми идентификацијата на лимфните јазли кај примерокот, тестирани се повеќе различни аналитички техники. (129,130) Алтернатива на конвенционалното чистење на масното ткиво е употребата на модифициран метод на фиксирање, кој обично се применува како постфиксирачки агенс. Станува збор за употреба на мешавина од глацијална оцетна киселина, етанол, вода и формалдехид (GEWF). Бројот на ваквите истражувања е прилично мал и иако е забележано сигнификантно зголемување во бројот на изолирани лимфни јазли, сепак, за апсолутниот број на изолирани јазли не се информира конзистентно во студиите. (131,132,133)

Од резултатите на Iversen et al. се заклучува дека со употребата на GEWF растворот, во текот на 12–24 часа се зголемил бројот на изолирани лимфни јазли од 9 на 15 кај карциномот на колон и од 10 на 16 кај карциномот на ректум, но без да се зголеми процентот на пациенти со стадиум III на болеста. (134) Патолозите известиле дека кога се користел GEWF растворот тие потрошиле помалку време на идентификација на лимфните јазли во примерокот, но дека зголемениот број лимфни јазли ќе

доведе следствено до зголемување на временскиот интервал потребен за патохистолошка анализа на истите.

Cawthorn et al. покажаа дека вкупниот број идентификувани лимфни јазли во мезоректумот на ректалните препрати, по чистењето на масното ткиво (среден број $23,1 \pm 1,18$) бил сигнификантно повисок споредено со две групи на пациенти кај кои не се примениле техниките на чистење на масното ткиво (група 1: средно $13,1 \pm 0,86$ и група 2: средно $10,5 \pm 0,6$; $p < 0,001$). (135).

Во нашата студија, од страна на патологот, беше користен GEWF растворот за изолација на ЛЈ и бројот на детектирани, екстирпирани и патохистолошки анализирани ЛЈ беше во корелација со оптималниот минимум пропишан со препораките на AJCC.

Демографијата на пациентите, биологијата на туморот и генетските карактеристики како фактор. Се мисли дека индексот на телесната маса (BMI) има поврзаност со бројот на изолирани лимфни јазли, а студиите на ова поле се со различни резултати.

Една студија (136) покажа намален број изолирани лимфни јазли кај пациенти со поголема телесна тежина (BMI >24), додека друга студија (137) покажа дека нема статистички сигнификантна разлика меѓу пациентите со нормална и со покачена телесна тежина, но дека сепак има поголем број изолирани лимфни јазли кај пациентите со тежина под нормалната (BMI <18).

Трета студија, пак, не наоѓа сигнификантна корелација помеѓу неколку истражени антропометрички карактеристики и изолирањето на лимфните јазли (138), така што влијанието на градбата на телото, висината и тежината остануваат дискутабилни како параметри, без јасно дефиниран научен консензус околу нивното влијание врз бројот на изолирани лимфни јазли. Во нашата студија BMI не беше предмет на анализа.

Локализација на примарниот тумор. Во неколку различни научни истражувања, локацијата на туморот на колонот се поврзува со разликите во бројот на изолираните лимфни јазли. Туморите од десната страна на колонот одамна се поврзуваат со поголем број изолирани лимфни јазли (139,140) и многумина сметаат дека тоа е резултат на екстензитетот на оперативната интервенција, поголемиот примерок (со тоа и повеќе јазли) при десна хемиколектомија отколку при ресекција на сигмата. (141)

Во нашата студија, статистичката анализа ја потврди како сигнификантна разликата во просечниот вкупен број изолирани лимфни јазли во зависност од локализацијата на туморот во целата група испитаници ($F=5,3$; $p=0,043$). Оваа разлика се должи на значајно поголем просечен број изолирани лимфни јазли при локализација на туморот во десниот колон во однос на ректална локализација.

Возраст на пациентите. Кај студиите што се базираат на голема популација и кои вклучуваат повеќе од 153.000 пациенти, истражувачите откриле дека возраста, локацијата на туморот и големината на туморот влијаат на бројот на изолираните лимфни јазли. (142)

Понатаму, тие откриле и дека за секоја декада повеќе во возраста на пациентите, имало намалување за околу 9% во бројот на изолирани лимфни јазли и кај канцерот на колон и кај ректалниот канцер. Кај канцерот на колон лоциран на десната страна имало, во просек, 34% повеќе изолирани лимфни јазли отколку кај туморите на ректумот или на сигмоидниот колон. Не може да се утврди дали тој помал број изолирани јазли може да се поврзе со должината на примерокот, бидејќи податоците од SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) студијата не ја документираат должината на примерокот.

Во нашата студија и статистички се потврдува дека вкупниот просечен број извадени лимфни јазли кај испитаниците со колоректален карцином не зависи сигнификантно од нивната возраст ($F=0,006$; $p=0,99$) во целата група.

Големина и карактеристики на примарниот тумор. Големината и карактеристиките на туморот се поврзуваат со бројот на изолираните лимфни јазли. Оваа поврзаност била поочигледна кај карциномот на колон отколку кај ректалниот карцином. Споредено со T1 туморите, процентот на намалување на бројот на изолирани јазли за T2, T3 и T4 бил 11%, 24% и 18% кај канцерот на колон, додека кај ректалниот канцер процентот изнесувал 7%, 20% и 16% респективно.

Во нашата студија бројот на лимфните јазли беше анализиран во однос на карактеристиките на туморот. Тоа што е забележливо од статистичката анализа на резултатите е дека со зголемувањето на стадиумот на болеста, несигнификантно се намалува бројот на изолираните лимфни јазли. Сепак, со зголемување на T стадиумот на примарниот тумор, се намалува апсолутниот број на изолирани лимфни јазли. Статистичката анализа на нашите податоци прикажа силна корелација помеѓу големината на примарниот тумор и метастатското зафаќање на СЛЈ. Бројот на пациенти со позитивни СЛЈ сигнификантно растеше со порастот на големината на примарниот тумор.

Исто така, со зголемувањето на N стадиумот несигнификантно се намалува и бројот на изолираните лимфни јазли. Можно објаснување за овој податок е дека кај пациентите со напредната болест полесно се изолираат позитивни лимфни жлезди. Според препораките на AJCC системот највисокиот број позитивни лимфни жлезди што треба да се одреди е 7, и по исполнувањето на овој број нема понатамошна потреба да се трага по дополнителни лимфни жлезди надвор од екстензитетот на предвидената хируршка оперативна маргина, бидејќи тоа дополнително нема и не може да го зголеми/промени стадиумот на болеста.

Кај помалите тумори, тенденција на патолозите е да пронајдат што повеќе лимфни јазли во препаратот со намера кај некој од нив да се изолираат можни метастатски депозити, па, следствено на тоа, бројот на

изолираните јазли е поголем. Во нашата студија, сепак, немаше сигнификантна значајност на овие испитувани параметри.

Микросателитската нестабилност е поврзана со повеќе клинички и патолошки карактеристики на карциномот на дебелото црево и доколку истата постои, се зголемуваат шансите за развој на карцином во проксималниот колон. (143) Тоа што е интересно за нас е дека неколку понови студии укажуваат на поврзаноста помеѓу микросателитската нестабилност и зголемениот број на изолирани лимфни јазли во примерокот. (144,145) Јасно е дека и самата биологија на туморот понекогаш може да влијае на вкупниот број изолирани лимфни јазли во примерокот. Овој параметар не беше предмет на анализа во нашата студија.

Предоперативен неоадјувантен третман Интенцијата на неоадјувантната хемо- и радиотерапија е да се постигне намалување на примарниот тумор (downstaging) и поврзаните метастази во лимфните јазли. Но примената на истата, воедно, доведува и до фиброза на лимфните садови, прави пречки во идентификацијата на лимфните јазли преку палпација и е поврзана со намалувањето на големината на нормалните лимфни јазли, како и на јазлите зафатени со метастатски депозити. Кај ректалниот канцер, иако се работи за посакуваниот ефект од третманот, тоа е во контрадикција со примарната цел за постигнување максимален број изолирани лимфни јазли, бидејќи оваа терапија сигнификантно го намалува бројот на пронајдените жлезди. Некои автори дури известуваат и за комплетно отсуство на лимфните јазли кај примероците на ректален карцином по примената на неоадјувантна хемо-/радио терапија, каков што е случајот со Nabr-Gama et al. (146) Токму затоа, пациентите кои примиле неоадјувантна терапија беа предоперативно исклучени (ексклузионен критериум) од нашето испитување на сентинелен лимфен јазол.

Lymph node ratio (LNR). Со оглед на фактот дека најважниот прогностички фактор за пациентите со КРК (статусот на регионалните

лимфни жлезди) зависи од повеќе варијабли, многу автори се обиделе да пронајдат дополнителни прогностички критериуми, кои би имале сигнификантна прогностичка вредност во одлучувањето за понатамошниот третман на пациентите. Оттука, во поново време, се истражуваат нови прогностички (предиктивни) фактори, а некои од предложените методи се: (147,148,149)

- вкупниот број лимфни јазли (LNT);
- бројот на позитивни лимфни јазли (LNP);
- бројот на негативни лимфни јазли (LNN);
- соодносот на позитивните лимфни јазли и сите изолирани (LNR).

Помеѓу овие фактори, LNR (Lymph node ratio) е, можеби, најдобро истражуваниот и тој особено се однесува на стејџингот кај пациентите со стадиум III на болеста, кои во исто време се и најбројната група пациенти. LNR, дефиниран како сооднос меѓу позитивните јазли и бројот на вкупно изолираните лимфни јазли, бил предложен за да го стратифицира исходот на пациентите во стадиум III.

Скоро направениот системски преглед на 16 студии, кој вклучува 33.984 пациенти, ја сумира улогата на LNR кај пациентите во стадиум III на колон или ректален карцином. Во сите студии, LNR бил идентификуван како независен прогностички фактор кај пациентите во стадиум III на болеста. Прогностичката поделба што се постигнала со LNR била супериорна во однос на таа добиена од бројот само на позитивните лимфни јазли. Како таков, LNR дозволува валидна прогностичка стратификација кај пациентите во стадиум III на колоректален канцер. (151)

Слични резултати се добиени и кај серија од речиси 1.800 пациенти, каде што LNR распознал (открил) групи пациенти со дивергентни можности за преживување кај сите pN-групи. (150) Потенцијалниот бенефит од LNR е можен начин за надминување на проблемите што произлегуваат од едноставното апсолутно опсервирање само на позитивните лимфни јазли. Но

сепак, мора да се потенцира дека е ова фактор што ги зема предвид единствено позитивните пациенти, во трет или повисок стадиум на болеста, и не може да се примени кај оние пациенти што немаат метастази во своите лимфни јазли.

Овој фактор не може да се одговори на дилемите што се јавуваат кај напреднатите тумори во II стадиум во однос на малите тумори во III стадиум на болеста.

7.3.2 СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ КАЈ КРК

Минатата декада се случија бројни револуционерни откритија на полето на молекуларната онкологија и туморската имунологија. Долго очекуваните прогресивни иновации во тие дисциплини конечно донесоа успех за многу пациенти, додека, пак, обемот на податоците собрани низ генетски и имунолошки есеи порасна во квантитативна смисла. Во таа насока, повторно се врати ентузијазмот за испитување на сентинелниот лимфен јазол и неговото значење кај многу солидни неоплазми, вклучително и кај КРК.

Како и многу други методи, биопсијата на сентинелниот лимфен јазол се појави од основните насоки кои биле присутни во онкологијата подолго време. Очигледната специфична, секвенционална прогресија на канцерот прво кон регионалните лимфни јазли и потоа кон далечните локации била препознаена веќе извесно време, па дури и идејата за „сентинелниот“ јазол кај одредени малигноми е позната повеќе децении. Искрата што ја промени практиката во целиот свет дојде од Доналд Мортон и колегите, кои ја демонстрираа техниката што може со голема сигурност да го следи специфичниот пат на дренирање од локацијата на примарниот тумор до еден јазол или помал број на лимфни јазли. Ваквиот пристап имаше две круцијални импликации: прво, евалуацијата на регионалните лимфни јазли

можеше да се изведе со минимален морбидитет и второ, малиот број сентинелни лимфни јазли овозможуваше ултра-детална хистопатолошка контрола на болеста.

Кај канцерот на дојка и кај меланомот комплетната дисекција на јазлите во минатото претставуваше стандард, иако контроверзен стандард. Контроверзен бидејќи голем број пациенти (кои имале негативни лимфни јазли) немаат корист од овој тип на оперативна интервенција, освен да се здобијат со сознание за нивниот статус на низок ризик. Со сентинел јазолот идентична или дури и поточна информација се добива со минимална инвазивност, намален морбидитет и следствено подобрен квалитет на живот постоперативно. Можноста безбедно да се избегне тотална дисекција на регионалните лимфни јазли претставува огромна предност во третманот на пациентите.

Другиот важен аспект на СЛЈ-испитувањето е зголемената контрола на детектираните и изолирани лимфни јазли, која, се чини, засега е потценета. И покрај комплетната хируршка дисекција, некои лимфни јазли може да не бидат пронајдени во препаратот од страна на патологот, а проценката на јазлите што се идентификувани е генерално ограничена на примена на хематоксилин-еозин слајд (на 1-2 пресеци на лимфниот јазол).

Со побројните пресеци, најмалку 4, (multislice H&E анализа) и имунохистохемиските обојувања применети ексклузивно на сентинелните лимфни јазли, точноста на стејдирањето е зголемена.

Проспективно и перспективно, апликативната примена на овој ултрастејдинг, освен што дозволува безбедно да се изостави комплетната регионална дисекција на лимфните јазли кај пациентите со карцином на дојка и меланом, истата би овозможила и пациентите со КРК, кои имаат вистински негативни лимфни јазли, да бидат поштедени од непотребната примена на хемотерапија и нус ефектите што ја следат истата.

Суштината на концептот на СЛЈ кај пациентите со КРК се базира врз дефинитивна потврда на:

- **Отсуство на метастатски депозити** во регионалните лимфни јазли кај пациентите класифицирани преоперативно (релативно) како втор стадиум на болеста, и со тоа потврда на нивниот дефинитивен стадиум II на болеста (со што истите би биле поштедени од несаканите ефекти на непотребната примена на адјувантна хемотерапија);
- **Присуство на метастатски/микростатски депозити** во регионалните лимфни јазли кај пациентите класифицирани преоперативно (релативно) како втор стадиум на болеста, и со тоа надградување на нивниот дефинитивен стадиум на болеста (upstaging) во стадиум III (со што истите би биле подложени на адјувантна хемотерапија и би имале бенефит од истата во смисла на подобрување на стапката на 5 годишно преживување и должина на периодот без рецидив на болеста);

Засега, единствената причина за одредување на СЛЈ кај КРК е токму правилната дијагноза (ultrastaging) на лимфните јазли, чија важност за пациентите веќе ја нагласивме. Промена во екстензитетот на хируршката интервенција нема. Но, сепак, кога ќе се спомене зборот „сентинел“, како по правило сите веднаш помислуваат на процедура што ќе доведе до промена во хируршките стандарди во лекувањето на пациентите, односно до намалување на екстензитетот на операцијата (изоставување на лимфаденектомијата), поради што многу хирурзи се непотребно негативно напорени кон концептот на СЛЈ кај КРК. Практично и да нема напишан труд на оваа тематика кој во својот вовед или дискусија јасно не се оградува

од идејата за помал екстензитет на лимфаденектомија, притоа истакнувајќи ја точната дијагноза како единствен мотив за истражувањето.

Главниот проблем со кој се соочува оваа идеја кај КРК во моментот е **клиничкото значење на откриените микрометастази** во сентинелните лимфни јазли. Но, со последната направена метаанализа од 2012 година од тимот од Хајделберг, Германија, предводена од Nuh N.Rahbari (152), се направи голем исчекор напред кон разјаснувањето и на оваа дилема. Во оваа метаанализа биле вклучени 39 релевантни студии, со вкупно 4087 пациенти. Кај сите пациенти е спроведено одредување на сентинелниот јазол и ultrastaging со имунохистохемија или со RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction) методот. Оваа метаанализа откри дека молекуларната детекција на микрометастази и поединечни туморски клетки во лимфните јазли е асоцирана со полошо целосно преживување на пациентите (HR, 2,20; 95% CI, 1,43 to 3,40), преживување специфично за болеста (HR, 3,37; 95% CI, 2,31 to 4,93), и преживување без рецидив на болеста (HR, 2,24; 95% CI, 1,57–3,20).

Во студијата на Arne E. Farden et al., спроведена на 126 пациенти кои конвенционално биле означени без метастази во лимфните јазли (N0), по направен ultrastaging со имунохистохемија, кај 5% од нив (6/126) биле пронајдени микрометастази, а кај 26% (33/126) биле пронајдени поединечни туморски клетки. Петгодишното следење на овие пациенти открило дека стапката на локален рецидив била поголема кај оние со микрометастатска болест отколку кај оние без истата – 23% спрема 7% ($p = 0,01$). Исто така, вкупното петгодишно преживување било сигнификантно помало кај пациентите со микрометастази отколку кај оние без микрометастази, и тоа 75% наспрема 93% респективно ($p = 0,012$). Во студијата авторите заклучуваат дека присуството на микрометастатска болест во лимфните јазли е независен прогностички фактор за појава на локален рецидив и намалено петгодишно преживување на пациентите со КРК. (153)

Saha и соработниците се единствени што во своето истражување вклучиле и постоперативна хемотерапија кај пациентите кај кои со СЛЈ мапирање се откриени микрометастази. Овие пациенти биле следени две години и било забележано дека стапката на локален рецидив кај пациентите со детектиран СЛЈ била 7%, споредена со 25% кај пациентите што не поминале низ СЛЈ мапирање. (154)

Но, и покрај сè почестите вакви резултати во бројни студии, засега микрометастазите, а особено поединечните туморски клетки, не се сметаат за вистински метастази и во денешните онколошки препораки не ја менуваат одлуката за адјувантна терапија. Сепак, со сериозна научна работа веруваме дека доказите ќе надвлдаат и тоа ќе се промени, тргнувајќи од логичното размислување дека пациент со микрометастази во своите лимфни јазли и пациент без микрометастази во своите лимфни јазли не може да имаат иста прогноза, а со тоа следствено ниту идентичен тераписки пристап.

Испитувањата што ни стојат на располагање денес, а кои се користат за пронаоѓање на микрометастазите во лимфните јазли, се: употреба на повеќеслојни пресеци на изолирните лимфни јазли, имунохистохемиските боење и RT-PCR методот. Но, сите овие методи се макотрпни за изведба и многу скапи кога би се спроведувале на сите изолирани лимфни јазли во примерокот и оттука произлегува идејата за испитување само на сентинелниот јазол. Наместо сите јазли да се испитуваат за микрометастази, може да се детектира сентинелен лимфен јазол, кој ќе му послужи на патологот за фокусирана детална патохистолошка анализа.

Но за да влезе овој концепт во клиничка употреба, потребно е најпрво да знаеме каква е сензитивноста на ваквото испитување (ако постојат метастази, истите да бидат пронајдени кај СЛЈ), негативната предиктивна стапка (ако нема метастази во регионалните јазли, тогаш со која веројатност сентинелот тоа ќе го исклучи), точноста (совпаѓење на статусот на СЛЈ со останатите регионални лимфни јазли) и конечно да пронајдеме техника со

која идентификацијата на СЛЈ ќе биде можна кај секој пациент, односно детекцијата да биде 100%. За да се потпреме цврсто врз доказите што ни ги дава испитувањето на сентинелниот јазол, мора да се помине низ упорна и макотрпна научна анализа на овие параметри. Мора да докажеме дека СЛЈ кај КРК, исто како и СЛЈ кај дојката и малигниот меланом, е валиден за инкорпорирање во хируршките и во онколошките гајдлајнси.

Кај дојката и кај меланомот сензитивноста и негативната предиктивна вредност се преку 90% и сè додека тоа не се постигне и за СЛЈ кај пациентите со КРК, не може да се очекува препорака за негова рутинска клиничка употреба. Во моментот во науката се презентирани бројни студии што имаат различни резултати, кои се спротивставени меѓу себе и кои се со различна стапка на сензитивност од ниски 58% (155) до високи 100%. (156,157,158,159) Во тој контекст, објаснување се наоѓа во отсуството на стандардизиран протокол за апликативна примена на оваа методолошка техника, хетерогеноста во дизајнот на научните студии од оваа тематика и особено во искуството на хирурзите и специјалистите по нуклеарна медицина и нивниот тренинг во практикувањето на методот. Сепак, со тек на време, особено по раѓањето на новите иницијативи за овие истражувања, ваквите дискрепанции би требало да се елиминираат и да се добијат објективни научни резултати.

Во нашата студија како метод за пронаоѓање на сентинелниот лимфен јазол кај КРК го користевме субмукозното ендоскопско аплицирање на радиоактивен колоид обележан со ^{99m}Tc. Причината поради која што беше потребно да се аплицира колоидот ендоскопски е предоперативното мапирање на лимфната туморска дренажа преку динамската сцинтиграфска компонента и евентуална детекција на аберантна дренажа кај пациентите.

Стапката на детекција, или идентификација на сентинелниот јазол беше 95%, односно од вкупно 40 пациенти, кај 38 беше пронајден сентинелен јазол. Ова е важен резултат, бидејќи за разлика од методот со

метиленско сино, каде што СЛЈ се изолираат минимум четири по пациент, со нашиот метод тој број е сведен на само еден, а ретко на два СЛЈ, што во практика би значело пофокусирана скапа анализа на помалку сентинелни јазли. Пациентите кој кои што не беше детектиран СЛЈ беа субјекти со ректален карцином. Најголем дел од истражувачите го исклучуваат ректалниот карцином од методот за мапирање на СЛЈ како резултат на непредвидливата лимфна дренажа, којашто многу често е аберантна и не го следи анатомскиот лимфен тек. Во нашата студија беа вклучени и пациенти со ректален карцином, но од вкупно 3 вклучени субјекти, кај 2 од нив немаше успешна детекција на СЛЈ. Бројката на пациенти со ректален карцином во нашата студија беше мала, па затоа не може да се донесе статистички сигнификантен заклучок дали овие пациенти треба да бидат инволвирани во постапката за сентинелното лимфно мапирање. Потребни се мултицентрични проспективни студии со далеку поголем број на субјекти, за да може да се донесе заклучок по ова прашање, кој што ќе биде истовремено и статистички сигнификантен и базиран на докази. Во литературата се споменати и други можни причини за неуспешно мапирање на СЛЈ, како што се: големината на примарниот тумор и некомплетна/неправилна субмукозна апликација на трасерот. И кај двата пациенти каде што мапирањето на СЛЈ беше неуспешно, големината на примарниот тумор беше Т3, што, можеби, дополнително придонесе кај овие субјекти да не биде детектиран СЛЈ.

Најголем број сентинелни лимфни јазли беа пронајдени во опсег од 3 см. од примарниот тумор. Ваквата близина на сентинелите до местото на апликација на радиоактивниот колоид (примарниот тумор) во практиката малку го отежнува изолирањето на сентинелот, со оглед на тоа што гамасондата може да ја детектира и радиоактивноста од самиот тумор и местото на апликација, но со стекнување првично искуство, преку крива на учење, лесно се надминува овој проблем, особено доколку е вклучен специјалист по

нуклеарна медицина со солидно повеќегодишно искуство во ракување со гама детекторската сонда, како што беше случај во нашата студија.

Кај 35 од 38 пациенти статусот на СЛЈ корелираше со останатите регионални лимфни јазли, со што точноста на методот изнесуваше високи 92,1% или, *de facto*, можноста да се предвиди pN статусот на пациентот со испитување само на СЛЈ изнесува 92,1%. Негативната предиктивна вредност според анализата на резултатите од студијата изнесуваше 86,95%.

Тројцата пациенти кај кои статусот на сентинелот не се совпадна со останатите регионални лимфни јазли, се всушност, пациенти кај кои сентинелот предвидел негативен статус (не се пронајдени метастази), додека пак кај некој/и од регионалните лимфни јазли е пронајдена метастатска болест (СЛЈ бил лажно негативен). Поради овие три лажно негативни СЛЈ, од вкупно 38 пациенти со детектирани СЛЈ, сензитивноста на методот изнесува 83,3%. Сите 3 пациенти се мажи, иако поради малата бројка не е можно да се извлече некаква статистичка сигнификантност во однос на полот на пациентите како фактор на влијание. Тројцата пациенти се дистрибуирани низ трите возрасни групи на испитаниците, по еден во секоја, со што може да се заклучи дека возраста не игра улога во добивањето на лажно негативен резултат во нашата студија. Исто така, сите пациенти се во висок T стадиум, двајца со T3b и еден со T4a. Од ова може да се заклучи дека шансите за лажно негативен резултат се поголеми кај пациентите со напредната локална болест, односно поголем примарен тумор.

Кога би ги разгледувале само пациентите со T1 и T2 големина на примарен тумор, тогаш сензитивноста и негативната предиктивна стапка во нашата студија би биле 100%. Ова е во согласност и со испитувањето на некои други автори, кои методот го препорачуваат за тумори детектирани во најран стадиум. Кај повисокиот стадиум на болеста, некои од лимфните јазли целосно се заменети со туморски депозити, поради што и доаѓа до редистрибуција на лимфната дренажа кон нов ешалон на лимфни јазли (*skip*

метастази) кај коишто во тој конкретен момент сеуште нема метастатски депозити и следствено на тоа, се добиваат лажно негативни резултати.

Со употребата на трите антители за имунохистохемија, кај двајца од пациентите беа пронајдени микрометастази и поединечни туморски клетки. Миграцијата во повисок стадиум (upstaging) го претставува односот меѓу бројот на пациенти кај кои со употреба на имунохистохемија се пронајдени микрометастази (pNmi+) и бројот на пациенти кои со конвенционалното хематоксилин-еозин боење се означени ``дефинитивно`` како pN0. Со тоа миграцијата во повисок стадиум на болест (upstaging) во нашата студија изнесуваше 10% (2/20). Но, овде мора да се истакне дека кај пет пациенти (12,5%) сентинелот беше ексклузивно место на метастази (само СЛЈ беше позитивен од сите изолирани регионални јазли), што е од големо значење, бидејќи тој СЛЈ од страна на патологот можеби и не би бил пронајден со конвенционалната техника на анализа. Повеќе автори ова го сметаат за т.н. релативен upstaging и истиот е во прилог за самиот концепт на нашето истражување. Кога овој релативен upstaging би го додале на вистинскиот, по примерот на публикациите објавени на оваа тематика, тогаш вкупниот upstaging базиран на нашите резултати би изнесувал 22,5%.

Во нашата студија кај ниту еден пациент не докажавме постоење на аберантна лимфна дренажа, иако во некои студии таа се движи 1–7%. Во моментот, според денешните достапни дијагностички стандарди, а во корелација со литературните податоци, не се трага предоперативно по аберантна лимфна дренажа и единствено концептот на сентинелен лимфен јазол истата ја истражува системски. Примената на модерниот FDG-PET/CT модалитет во поново време добива се поголемо внимание и истиот би можел да даде придонесе во преоперативната процена на евентуално присутната аберантна лимфна дренажа, но само преку детекција на метаболно активни лимфни јазли на локација различна од очекуваниот регионален лимфен дренажен базен. Сепак, рутинската примена на овој дијагностички модалитет

за оваа намена е скапа, пропратена со радијациско оптоварување на пациентот и без можност за визуализација на аберантните лимфни садови како што тоа го овозможува динамската компонента од методата за детекција на СЛЈ.

Од добро изведените, мултицентрични, рандомизирани студии во науката особено се издвојува студијата на Stojadinovic et al. (160), која покажа дека конвенционалниот патолошки стејдинг е помалку ефективен од стејдингот што се базира на ex vivo биопсијата на сентинелниот лимфен јазол, употребувајќи метиленско сино како метод за идентификација. Нивната стапка на идентификација на сентинелниот лимфен јазол била 97%, иако осетливоста на методот била само 69%, а точноста 90,7%. Фокусираната анализа на сентинелниот лимфен јазол идентификувала метастази кај 57% од пациентите, споредено со 31% кај конвенционалниот стејдинг. Овој upstaging се состоел најмногу од изолирани туморски клетки и кластери (15 од 56 или 27%), а шест пациенти (11%) имале микрометастази (0,2–2мм) на сентинелниот лимфен јазол. Пет медицински центри во три земји учествувале во оваа студија со (слепи/blinded) централизиран патолошки испитувања. Студијата била добро дизајнирана и собирањето податоци било завршено според очекувањата. Силната страна на ова истражување се состои во тоа што еден од условите да се учествува во студијата била комплетирана формална обука на хирурзите за изведување на процедурата. Исто така, секој хирург работел на најмалку шест случаи (крива на учење) пред да стане дел од истражувањето и шест хирурзи ги извеле сите 82 биопсии на сентинелен лимфен јазол. Осетливоста на студијата е зголемена со тоа што најмалку четири лимфни јазли биле дефинирани како сентинели.

Во мултицентричната рандомизирана студија на Vilchik et al. е проценета прецизноста на фокусираната анализа на сентинелниот лимфен јазол преку повеќекратни пресеци и имунохистохемија во прв и во втор

стадиум на КРК, употребувајќи метиленско сино како метод за идентификација. Меѓу 2001 и 2005 година, 132 пациенти биле евалуирани во четири центри од терцијарно здравство со потврдена хируршка и патолошка експертиза во лимфатичното мапирање. Првичните резултати објавени во 2006 година покажале дека сентинелниот лимфен јазол бил успешно идентификуван во 96% од случаите, со среден број на детектирани три сентинелни лимфни јазли по пациент и целосен број на 14,5 испитани лимфни јазли по пациент, што е во согласност со денешните препораки за бројот на лимфни јазли што треба да бидат анализирани. Процентот на погрешно (лажно) оценети како негативни, дефиниран како можност да не се пронајде депозит кај сентинелниот лимфен јазол во присуство на метастази во другите јазли, бил 7,4% (6/81), што е во согласност со податоците од литературата за меланом и за рак на дојката. (161)

Wembenek et al. известуваат за проспективно мултицентрично испитување на 315 пациенти од 19 центри во Германија. Стапката на детекција на сентинелниот лимфен јазол, употребувајќи метиленско сино како метод за идентификација, била 85%, а осетливоста на идентификување на микрометастази била 54%. Фокусираната анализа на сентинелниот лимфен јазол апстејцирала 21% од случаите, со 16% изолирани тумоски клетки и 5% микрометастази. Аберантно дренирање било идентификувано кај 1,6% од пациентите. За разлика од студијата на Стојадиновиќ, биопсијата на сентинелниот лимфен јазол била спроведена *in vivo* и снимка со упатства им била дадена на сите хирурзи што учествувале во студијата. Стапката на детекција и осетливоста на биопсијата на сентинелниот лимфен јазол се зголемиле кога индексот на телесната маса кај пациентите бил под 24 и кога хирургот имал изведено најмалку 22 процедури на мапирање на СЛЈ.

Во студијата на Van der Zaag et al., работена со метиленско сино, сензитивноста на методот достигнала 88%, додека за имунохистохемија се користени три различни антители насочени кон pankeratin (Cam 5.2, keratin

20, Ver-EP4) со што првично обележаните лимфни јазли како No при употреба само на H&E боење се апстејцирани на N+ во 33%. (162)

Во студијата на Markl et al., работена со метиленско сино, стапката на детекција изнесува 78%, сензитивноста на методот 75%, додека upstaging е достигнат од 4% со употреба на антитела кон панкератин (MNF116). (163)

Неодамнешната метаанализа (од 2012 година) на Van der Zaag, во која се анализирани вкупно 57 релевантни трудови, покажува дека вкупната сензитивност на методот со метиленско сино за откривање на пациентите со позитивни лимфни јазли изнесува 69,6%. Стапката на идентификација изнесува 90,7%, додека употребата на имунохистохемиски методи за анализа на лимфните јазли дава upstaging во 18,9%. (164) Ниската стапка на сензитивност на методот со примена на метиленското сино како единствен трасер, ја наметнала потребата од воведување на колоидните трасери.

Од студиите што користеле радиокоolid како трасер за откривање на сентинелот кај КРК, а се многу малку на број, најдобро дизајнирана и изведена е студијата на van Scheltinga et al. Во оваа студија е користен Technetium albumin colloid (Nanocoll), кој е супсерозно инјектиран околу туморот, интраоперативно, по што со гама-сонда е изолиран СЛЈ. Во оваа студија стапката на детекција на СЛЈ изнесува високи 92,5%, точноста на методот е 95,6%, сензитивноста 85,7%, а негативната предиктивна вредност е 93,9%. Upstaging со употреба на имунохистохемија е постигнат кај 4 од 49 или кај 8,2% од пациентите, првично означени со H&E како No. (165)

Неодамнешна студија од Норвешка, од 2012 година, анализирала вкупно 14 пациенти со употреба на радиоактивен колоид обележан со ^{99m}Tc, кој по ендоскопски пат е инјектиран субмукозно околу туморот. Во оваа студија кај сите 14 пациенти е пронајден СЛЈ и со тоа стапката на идентификација била 100%. Точноста изнесувала 83%, сензитивноста 67%, додека пак негативната предиктивна стапка 87%. Била забележана аберантна

лимфна дренажа кај еден пациент. Со употреба на имунохистохемија биле апстејдирани 7% од пациентите. (166)

Во студијата на Kitigawa et al., работена со радиоколоид и преоперативна едноскопска апликација на трасерот, биле вклучени вкупно 56 пациенти. Стапката на идентификација на СЛЈ изнесувала 91% (51/56), а кај секој пациент средно биле изолирани 23,9 +/- 15,2 лимфни јазли. Средно биле изолирани по 3,5 сентинелни лимфни јазли по пациент. Точноста изнесувала 92% (47/51), а кај четворица пациенти имало лажно негативен резултат за СЛЈ. Авторите заклучиле дека употребата на радиоколоид е безбедна, а дека методот е погоден начин за ултрастејдинг кај T1 и T2 тумори на колонот, со оглед дека сите четири лажно негативни резултати се јавиле кај напреднати T3 тумори. (167)

За разлика од метиленското сино, кое сè уште најшироко се употребува како трасер за изолирање СЛЈ, методот со примена на радиоколоид има неколку предности. Прво, радиоколоидот има многу поголеми честички од метиленското сино, и неговата дифузија низ лимфниот систем е многу побавна, а со тоа се добиваат попрецизни резултати за детекција на СЛЈ. (168) Второ, кога се користи радиоколоид, нема потреба од директна визуализација како кај методот со метиленско сино, поради што сите антропометриски карактеристики што влијаат врз визуализацијата, како обезноста, на пример, се избегнати. (169) И како трето, можеби и најважно, со употребата на радиоколоидот може да се вклучат и сите ректални карциноми кај кои методот со метиленско сино има најлоши резултати, поради што многу студии ректалниот карцином не го вклучуваат во истражувањата. Пациенти со ректален карцином беа вклучени во нашата студија, но од вкупно 3, кај 2 пациенти детекцијата на СЛЈ беше неуспешна.

Во нашата студија СЛЈ со помал аптејк на радиоколоид, и кај КРК, почесто имаа метастаски депозити споредбено со СЛЈ кои имаа повисок аптејк и беа најчесто без метастаски депозити. Ваквите наоди најверојатно се

должат на метастатската деструкција на лимфните јазли и нивната нарушена цитоархитектоника од туморските депозити, па според тоа, респективно истите прифаќаат помал квантум на колоидни партикли. Овие податоци ја наметнаа квантификацијата на прифаќањето на колоидните партикли од страна на СЛЈ како статистички сигнификантен и дополнителен независен предиктор на статусот на СЛЈ и кај пациентите со КРК, во смисла на присуство или отсуство на метастатска болест во истиот.

Досега само групи истражувачи што посветено работат на промовирање на овој концепт успеваат да добијат посакувани резултати за сензитивноста и за негативната предиктивна стапка од над 90% консекутивно, со што методот би бил со слични резултати како кај меланомот и карциномот на дојка и со тоа оправдан за клиничка употреба.

Биопсијата на лимфните јазли е мултидисциплинарна процедура. Точното изведување на процедурата не е само резултат на вештината на хирургот, туку и патологот и специјалистот по нуклеарната медицина се, исто така, есенцијални компоненти. Кај патологот, точната проценка и соодветното обојување се неопходни не само за да бидат идентификувани метастазите туку и за да се избегнат лажно негативни резултати. Нуклеарно медицинските методи рапидно се модернизираат со напредокот на технологијата. Радиофармацевтските препарати во таа насока, секако, ќе играат важна улога. Во моментот се изведуваат студии и со флуоресцентни колоиди, кои се во функција да го направат сентинелното мапирање достапно и за минимално инвазивната лапароскопија, а исто така е достапен и SPECT/CT модалитетот којшто овозможува истовремена функционална и морфолошка дијагностичка информација. И, навистина, живееме во ера на минимално инвазивна медицина, која има како главна цел намалување на морбидитетот и побрзо закрепнување на пациентите по медицинските интервенции.

Имајќи предвид дека трансаналната ендоскопска микрохирургија (ТЕМ) е сè почеста кај пациентите бидејќи скрининг-програмите во развиените земји кај хирурзите носат сè поголем број пациенти со рана фаза на болеста, сентинелниот јазол и неговото место во хируршките протоколи добива се позначајна улога. Засега ТЕМ се препорачува кај пациентите со Т1 тумор, кој е добро диференциран и не поголем од 2 см. Кога би можеле да најдеме начин за испитување на сентинелниот јазол кај пациентите предоперативно, тогаш голем број од пациентите кои немаат метастази во лимфните јазли, а се со Т2 големина, би добиле можност за минимално инвазивна ТЕМ процедура што би било во духот на времето во кое живееме.

Модерните хируршки трендови и иднината на радионасочената микрохирургија базираат на т.н. GOSTT техника (guided operative scintigraphic tumor targeting). Во себе таа техника вклучува 2 компоненти: SLND (sentinel lymph node detection) и ROLL (radioguided occult lesion localisation). Комбинацијата од овие две компоненти беше основа за изведување на нашата студија т.н SNOLL техника (SLND+ROLL).

Испитувањето на сентинелниот лимфен јазол никогаш не би можело да ја замени радикалната хируршка ресекција во случаите кога е таа индицирана, но гледано во перспектива, ќе може да биде многу корисна дијагностичка техника во лекувањето на пациентите со низок стадиум на болеста. Токму овие пациенти се цел на сентинелното испитување, кое би требало да помогне во донесувањето одлуки за нивното лекување. Тоа се пациенти со најголеми шанси да бидат прекумерно хируршки третирани радикално, но, од друга страна, и премалку онколошки третирани доколку не ја добијат соодветната хемотерапија како резултат на неправилен стејџинг. Со оглед на тоа што ваквиот број пациенти се зголемува во континуитет преку скрининг програмите, би било добро преку вакви истражувања навремено да се адресираат дилемите очекувани во иднина.

Засега концептот на сентинелниот лимфен јазол кај КРК останува да биде потврден преку поголеми клинички, рандомизирани студии како валиден за клиничка употреба, со што значително би се зголемил медицинскиот арсенал за борба против ова тешко заболување.

Вклучувањето на SPECT/CT модалитетот и хибридните комплексни флуоресцентни трасери во концептот за детекција на СЛЈ кај КРК ќе доведе до сигнификантно зголемување на сензитивноста и точноста на методот. Следствено, ќе се отвори вратата за инкорпорирање на оваа техника во водичите за хируршки оперативен и онколошки постоперативен третман кај селектирани подгрупи на пациенти со КРК.

8.0 ЗАКЛУЧОЦИ

- Методата за детекција на СЛЈ кај карциномот на дојка, малигниот меланом и колоректалниот карцином покажа висока детекциона рата, сензитивност, специфичност, точност, негативна предиктивна вредност и ниска рата на лажно негативни резултати со што се валидираше како минимално инвазивен, сигурен, прецизен и точен дијагностички модалитет.
- Протоколот за оваа техника се стандардизираше и се инкорпорираше во рутинската пракса на нашиот институт како дел од сегментот на радионасочена хирургија.
- Двојниот метод на детекција на СЛЈ со примена на радиоактивно обележан колоид со ^{99m}Tc и метиленско сино даде највисока дијагностичка прецизност на оваа техника.
- Радиоколоидот покажа статистички сигнификантна супериорност во однос на метиленското сино. Начинот на апликација на колоидните партикли во голема мера влијае врз презентацијата на СЛЈ и неговата прецизна локализација.
- Метиленското сино не би требало да се користи како единствен и поединечен трасер со цел да се избегне можноста за зголемена рата на лажно негативни резултати.

- Преку фокусирана и екстензивна патохистолошка анализа на само еден или неколку сентинелни јазли (ultrastaging), може да се очекува миграција на пациентите (upstaging) во процент што би ја оправдал клиничката примена на оваа дијагностичка процедура.
- Методата најде клиничка примена во хируршките и онколошките водичи за минимално инвазивна презервирачка интервенција кај пациентите во рана фаза на карцином на дојка и малигнен меланом.
- Стандардизирање на протоколите и понатамошни рандомизирани проспективни клинички испитувања ќе доведат до валидирање на резултатите и инкорпорирање на оваа техника во водичите за хируршки оперативен и онколошки постоперативен третман кај селектирани подгрупи на пациенти со КРК.
- Преку големи, мултицентрични, рандомизирани клинички студии е потребно јасно да се дефинира улогата на микрометастазите (pNmi+) и изолираните туморски клетки (pNis+) како прогностички фактор кај пациентите со карцином на дојка, малигнен меланом и колоректален карцином.
- Квантификацијата на аптејкот на радиоколоид се наметна како статистички сигнификантен и независен предиктивен фактор за присуство или отсуство на метастатска болест во СЛЈ.
- Детекцијата на СЛЈ е мултидисциплинарен процес, кој ги вклучува нуклеарната медицина, хирургијата, патологијата и онкологијата, со единствена цел точен стејџинг, од којшто понатаму зависи екстензитетот на хируршката интервенција и онколошкиот третман.

- Вклучувањето на SPECT/CT модалитетот и хибридните комплексни флуоресцентни трасери во концептот за детекција на СЛЈ ќе доведе до сигнификантно зголемување на сензитивноста и точноста на методата.
- Концептот на минимално инвазивна радионасочена хирургија (GOSTT/SNOLL модалитетот) ќе биде основа за инкорпорирање на техниката за детекција на СЛЈ и кај останатите малигни неоплазми што е наша примарна цел во блиска иднина.

9.0 РЕФЕРЕНЦИ:

1. Zum Winkel K., Scheer K.E. Scintigraphic and dynamic studies of the lymphatic systems with radiocolloids. *Minerva Nucl.* 1965; 9: 390.
2. Strand SE, Persson BRR, et al. Particle sizing and biokinetics of interstitial lymphoscintigraphic agents. *Semin Nucl Med.* 1983; 13: 9-19.
3. Aselli G. De Lactibus sive Lacteis Venis. *Quarto Vasorum Mesarai Corum Genere Invento.* Milan: J. B. Bidellius; 1627.
4. Hewson W. An Inquiry into the Properties of the Blood. In: Gulliver G, ed. *The Works of William Hewson FRS.* London: Sydenham Society; 1846.
5. Bartholin T. De Lacteis Thoracis in Homine Brutisque Nuperrime Observatis. Martzan M, ed. Copenhagen: Hafniae; 1652.
6. Virchow R. *Die Krankhaften Geschwulste.* Berlin, Germany: August Hirschwald; 1863.
7. Virchow RLK. *Cellular Pathology 1859. Special Edition.* London: John Churchill; 1978: 204–207.
8. Gerota D. Zur Technik der Lymphgefassinjection. Eine neue injections Masse für Lymphgefass. *Polychrom Injunct Anat Anzeiger.* 1896;12:216–224.
9. Braithwaite LR. The flow of lymph from the ileocaecal angle, and its possible bearing on the cause of duodenal and gastric ulcer. *Br J Surg.* 1923; 11: 7-26.
10. Hudack SS, McMaster PD. The lymphatic participation in human cutaneous phenomena, *J Exp Med.* 1933; 57: 751-775.
11. Sage HH, Gozun BV. Lymphatic scintigrams: a method for studying the functional pattern of lymphatics and lymph nodes. *Cancer.* 1958; 11: 200-203.
12. Gould EA, Winship T, Philbin PH, et al. Observations on a “sentinel node” in cancer of the parotid. *Cancer.* 1960; 20: 77-78.
13. Cabañas RM. *El tratamiento ganglionar en el cancer del pene.* New York: 1975.
14. Aitken DE, Hinkle GH, Thurston MO, et al. A gamma-detecting probe for radioimmune detection of CEA-producing tumors. Successful experimental use and clinical case report. *Dis Colon Rectum.* 1984; 27: 279-282.

15. Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg.* 1992; 127: 392–399.
16. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg.* 1994; 220: 391-398.
17. Bilchik AJ, Giuliano A, Essner R, et al. Universal application of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in solid neoplasms. *Cancer J Sci Am.* 1998; 4: 351-358.
18. Veronesi U, Paganelli GT, Galimberti V, Viale G, Zurrada S, Bedoni M, Costa A, de Cicco C, Geraghty JG, Luini A, Sacchini V, Veronesi P. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet.* 1997; 349: 1864–1867.
19. Kuehn T, Bembenek A, Decker T, Munz DL, Sautter-Bihl ML, Untch M, Wallwiener D. Consensus Committee of the German Society of Senology. *Cancer.* 2005; 103: 451–461.
20. Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairbank JT. Surgical resection and radio localization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol.* 1993 Dec; 2(6):3 35-9.
21. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg.* 1994 Sep; 220(3): 391-8.
22. Albertini JJ, Lyman GH, Cox C, Yeatman T, Balducci L, Ku N, Shivers S, Berman C, Wells K, Rapaport D, Shons A, Horton J, Greenberg H, Nicosia S, Clark R, Cantor A, Reintgen DS. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. *JAMA.* 1996; 276(22): 1818-22.
23. Kohrt HE, Olshen RA, Bermas HR, et al. New models and online calculator for predicting non-sentinel lymph node status in sentinel lymph node positive breast cancer patients. *BMC Cancer.* 2008; 8: 66.
24. Veronesi U, Viale G, Paganelli G, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: ten-year results of a randomized controlled study. *Ann Surg.* 2010; 251: 595–600.

25. Van Rijk MC, Peterse JL, Nieweg OE, Oldenburg HS, Rutgers EJ, Kroon BB. Additional axillary metastases and stage migration in breast cancer patients with micrometastases or submicrometastases in SLN. *Cancer*. 2006; 107: 467–71.
26. Naik AM, Fey J, Gemignani M, et al. The risk of axillary relapse after sentinel lymph node biopsy for breast cancer is comparable with that of axillary lymph node dissection: follow-up study of 4008 procedures. *Ann Surg*. 2004; 240: 462–8.
27. Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, et al. Sentinel lymph node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2010; 11: 927–933.
28. Uren RF, Howman-Giles R, Chung D, Thompson JF. Nuclear medicine aspects of melanoma and breast lymphatic mapping. *Semin Oncol*. 2004; 31: 338–48.
29. Kawase K, Gayed IW, Hunt KK, et al. Use of lymphoscintigraphy defines lymphatic drainage patterns before sentinel lymph node biopsy for breast cancer. *J Am Coll Surg*. 2006; 203: 64–72.
30. Veronesi U., Galimberti V., Mariani L., Gatti G., Paganelli G., Viale G. et al. Sentinel node biopsy in breast cancer: early results in 953 patients with negative sentinel node biopsy and no axillary dissection. *Eur J Cancer*. 2005; 41: 231–237.
31. Mansel RE, Fallowfield L, Kissin M, et al. Randomized multicenter trial of sentinel node biopsy versus standard axillary treatment in operable breast cancer: the ALMANAC Trial. *J Natl Cancer Inst*. 2006; 98: 599–609.
32. Shen J, Hunt KK, Mirza NQ, Krishnamurthy S, Singletary SE, Kuerer HM, Meric-Bernstam F, Feig B, Ross MI, Ames FC, Babiera GV. Intramammary lymph node metastases are an independent predictor of poor outcome in patients with breast cancer. *Cancer*. 2004; 101: 1330–1337.
33. Guth AA, Mercado C, Roses DF, Hiotis K, Skinner K, Diflo T. Intramammary lymph nodes and breast cancer: a marker for disease severity, or just another lymph node? *Am J Surg*. 2006; 192: 502–505.

34. Hogan BV, Peter MB, Shenoy H, Horgan K, Shaaban A. Intramammary lymph node metastasis predicts poorer survival in breast cancer patients. *Surg Oncol.* 2010;19:11–16.
35. Intra M, Garcia-Etienne CA, Renne G, Trifro G, Rotmensz N, Gentillini OD, Galimberti V, Sagona A, Mattar D, Sangalli C, Gatti G, Luini A, Veronesi U. When sentinel lymph node is intramammary. *Ann Surg Oncol.* 2008; 15: 1304–1308.
36. Philip M Poortmans et al. Internal Mammary and Medial Supraclavicular Irradiation in Breast Cancer for the EORTC Radiation Oncology and Breast Cancer Groups. *N Engl J Med.* 2015; 373: 317-327.
37. Intra M, Garcia-Etienne CA, Renne G, Trifro G, Rotmensz N, Gentillini OD, Galimberti V, Sagona A, Mattar D, Sangalli C, Gatti G, Luini A, Veronesi U. When sentinel lymph node is intramammary. *Ann Surg Oncol.* 2008; 15: 1304–1308.
38. Kijima Y, Yohinaka H, Uenosono Y, Funasako Y, Ehi K, Yanagita S, Arima H, Kozono T, Arigami T, Natsugoe S, Aikou T. Intramammary sentinel lymph node in patients with breast cancer: Report of four cases. *Surg Today.* 2008; 38: 536–540.
39. Mathelin C, Tomasetto C, Rio MC, Chenard MP, Brettes JP, Guyonnet JL. Improvement in intramammary sentinel lymph node removal using a novel prototype hand held probe during breast conservative surgery. *Breast Cancer Res Treat.* 2005; 89: 305–308.
40. Tytle I, Hayes A, Kissin M. Intramammary sentinel lymph nodes in early breast cancer: can we find them and do they matter? *Eur J Surg Oncol.* 2003; 29: 6–8.
41. Gajdos C, Bleiweiss IJ, Drossman S, Tartter PI. Breast cancer in an intramammary sentinel node. *Breast J.* 2001; 7: 260–262.
42. Vijan SS, Hamilton S, Chen B, Reynolds C, Boughey JC, Degnim AC. Intramammary lymph nodes: Patterns of discovery and clinical significance. *Surgery.* 2009; 145: 495–499.

43. Stojanoski S et al. Internal Mammary Sentinel Lymph Nodes in Breast Cancer - Effects on Disease Prognosis and Therapeutic Protocols - A Case Report. *Maced. J. Med. Sci.* 2015; Vol 3(1): 139-142.
44. Bodenham D.C. Malignant melanoma. *British Journal of Dermatology.* 1968; Vol. 80 (3): 190–192.
45. Seaman William B., Powers William E. Studies on the distribution of radioactive colloidal gold in regional lymph nodes containing cancer. *Cancer.* 1955; Vol 8 (5): 1044–1046.
46. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, Foshag LJ, Cochran AJ. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg.* 1992 Apr; 127(4): 392-9.
47. Niebling MG, Pleijhuis RG, Bastiaannet E, Brouwers AH, Van Dam GM, Hoekstra HJ. A systematic review and meta-analyses of sentinel lymph node identification in breast cancer and melanoma, a plea for tracer mapping. *Eur J Surg Oncol.* 2016; 42(4): 466-73.
48. MacDonald JS. Adjuvant therapy of colon cancer. *CA Cancer J Clin.*1999; 49: 202–219.
49. Bilchik AJ, DiNome M, Saha S, et al. Prospective multicenter trial of staging adequacy in colon cancer. *Arch Surg.* 2006; 141: 527–534.
50. Weitz J, Koch M, Debus J, et al. Colorectal cancer. *Lancet.* 2005; 365: 153–165.
51. Benson AB III, Schrag D, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol.* 2004; 22: 3408–3419.
52. Quasar Collaborative Group, Gray R, Barnwell J, McConkey C, et al. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomized study. *Lancet.* 2007; 370: 2020–2029.
53. Saha S, Wiese D, Badin J, et al. Technical details of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer and its impact on staging. *Ann Surg Oncol.* 2000; 7: 120-124.
54. Wood TF, Tsioulis GJ, Morton DL, et al. Focused examination of sentinel lymph nodes upstages early colorectal carcinoma. *Am Surg.* 2000; 66: 998-1003.

55. William S. Halsted. The Results of Operations for the Cure of Cancer of the Breast Performed at the Johns Hopkins Hospital from June 1889 to January 1894. *Ann Surg.* 1894; 20(5): 497–555.
56. Maguire A, Brogi E. Сентинел ЛСМНХ Нодес фор Бреаст Царцинома: Ан Упдате он Цуррент Працтице. *Histopathology.* 2016; 68(1): 152–167.
57. He PS. et al. The combination of blue dye and radioisotope versus radioisotope alone during sentinel lymph node biopsy for breast cancer: a systematic review. *BMC Cancer.* 2016; 16: 107-119.
58. Weber JJ, Wong JH. Periareolar or Peritumoral Injection of Isosulfan Blue and the Effect on the Number of Sentinel Lymph Nodes Examined. *Am Surg.* 2017; 83(1): 98-102.
59. Kohl Schwartz AS, Leo C, Rufibach K, Varga Z, Fink D, Gabriel N. Does increased tumor burden of sentinel nodes in breast cancer affect detection procedure? *Eur J Surg Oncol.* 2013; 39(3): 266-72.
60. Garbay J.R, Skalli-Chrisostome D, Leymarie N, Sarfati B, Rimareix F, Mazouni C. The Role of Blue Dye in Sentinel Node Detection for Breast Cancer: A Retrospective Study of 203 Patients. *Breast Care.* 2016; 11(2): 128-32.
61. Stojanoski S et al. Sentinel lymph node detection in breast cancer - first experience. *Contributions.* 2015; 36(1): 145-51.
62. Barthelmes L. et al. Adverse reactions to patent blue V dye - The NEW START and ALMANAC experience. *Eur J Surg Oncol.* 2010; 36(4): 399-403.
63. Houvenaeghel G. et al. Impact of completion axillary lymph node dissection in patients with breast cancer and isolated tumor cells or micrometastases in sentinel nodes. *Eur J Cancer.* 2016; 67: 106-118.
64. Cipolla C, Graceffa G. et al. The prognostic value of sentinel lymph node micrometastases in patients with invasive breast carcinoma. *Ann Ital Chir.* 2015; 86: 497-502.
65. Wazir U et al. Towards optimal management of the axilla in the context of a positive sentinel node biopsy in early breast cancer. *World J Clin Oncol.* 2014; 5(5): 792-4.

66. Calhoun BC et al. Breast cancer detection in axillary sentinel lymph nodes: the impact of the method of pathologic examination. *Hum Pathol.* 2014; 45(12): 2497-501.
67. Jaffer S, Bleiweiss IJ. Evolution of sentinel lymph node biopsy in breast cancer, in and out of vogue? *Adv Anat Pathol.* 2014; 21(6): 433-42.
68. Giuliano AE, Ballman K, McCall L, Beitsch P, Whitworth PW, Blumencranz P, Leitch AM, Saha S, Morrow M, Hunt KK. Locoregional Recurrence After Sentinel Lymph Node Dissection With or Without Axillary Dissection in Patients With Sentinel Lymph Node Metastases: Long-term Follow-up From the American College of Surgeons Oncology Group (Alliance) ACOSOG Z0011 Randomized Trial. *Ann Surg.* 2016; 264(3): 413-20.
69. Klausen TL, Chakera AH, Friis E, Rank F, Hesse B, Holm S. Radiation doses to staff involved in sentinel node operations for breast cancer. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2005; 25(4):196-202.
70. Manca G, Rubello D, Tardelli E, Giammarile F, Mazzarri S, Boni G, Chondrogiannis S, Marzola MC, Chiacchio S, Ghilli M, Roncella M, Volterrani D, Colletti PM. Sentinel Lymph Node Biopsy in Breast Cancer: Indications, Contraindications, and Controversies. *Clin Nucl Med.* 2016; 41(2): 126-33.
71. Nelson KP, Choudhury KR, Coleman RE, Shipes SW, Siler WL, Hubble WL, Wong TZ. Does the preparation and utilization of ^{99m}Tc -sulfur colloid affect the outcomes of breast lymphoscintigraphy? *J Nucl Med Technol.* 2013; 41(2): 92-8.
72. Veronesi U, Paganelli GT, Galimberti V, Viale G, Zurrada S, Bedoni M, Costa A, de Cicco C, Geraghty JG, Luini A, Sacchini V, Veronesi P. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet.* 1997; 349: 1864–1867.
73. Kuehn T, Bembenek A, Decker T, Munz DL, Sautter-Bihl ML, Untch M, Wallwiener D. Consensus Committee of the German Society of Senology. *Cancer.* 2005; 103: 451–461.

74. Intra M, Garcia-Etienne CA, Renne G, Trifro G, Rotmensz N, Gentillini OD, Galimberti V, Sagona A, Mattar D, Sangalli C, Gatti G, Luini A, Veronesi U. When sentinel lymph node is intramammary. *Ann Surg Oncol*. 2008; 15: 1304–1308.
75. Hogan BV, Peter MB, Shenoy H, Horgan K, Shaaban A. Intramammary lymph node metastasis predicts poorer survival in breast cancer patients. *Surg Oncol*. 2010; 19: 11–16.
76. Shen J, Hunt KK, Mirza NQ, Krishnamurthy S, Singletary SE, Kuerer HM, Meric-Bernstam F, Feig B, Ross MI, Ames FC, Babiera GV. Intramammary lymph node metastases are an independent predictor of poor outcome in patients with breast cancer. *Cancer*. 2004; 101: 1330–1337.
77. Guth AA, Mercado C, Roses DF, Hiotis K, Skinner K, Diflo T. Intramammary lymph nodes and breast cancer: a marker for disease severity, or just another lymph node? *Am J Surg*. 2006; 192: 502–505.
78. Intra M, Garcia-Etienne CA, Renne G, Trifro G, Rotmensz N, Gentillini OD, Galimberti V, Sagona A, Mattar D, Sangalli C, Gatti G, Luini A, Veronesi U. When sentinel lymph node is intramammary. *Ann Surg Oncol*. 2008; 15:1304–1308.
79. Kijima Y, Yohinaka H, Uenosono Y, Funasako Y, Ehi K, Yanagita S, Arima H, Kozono T, Arigami T, Natsugoe S, Aikou T. Intramammary sentinel lymph node in patients with breast cancer: Report of four cases. *Surg Today*. 2008; 38: 536–540.
80. Mathelin C, Tomasetto C, Rio MC, Chenard MP, Brettes JP, Guyonnet JL. Improvement in intramammary sentinel lymph node removal using a novel prototype hand held probe during breast conservative surgery. *Breast Cancer Res Treat*. 2005; 89: 305–308.
81. Lievens Y. et al. A glance on quality assurance in EORTC study 22922 evaluating techniques for internal mammary and medial supraclavicular lymph node chain irradiation in breast cancer. *Radiotherapy and Oncology*. 2001; 60(3): 257-65.

82. Vijan SS, Hamilton S, Chen B, Reynolds C, Boughey JC, Degnim AC. Intramammary lymph nodes: Patterns of discovery and clinical significance. *Surgery*. 2009; 145: 495–499.
83. Noveski L et al. Sentinel lymph node mapping in patients with melanoma. *Acta mprohol*. 2012; 9(2): 34-37.
84. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 6199-6206.
85. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Multivariate analysis of prognostic factors among 2,313 patients with stage III melanoma: Comparison of nodal micrometastases versus macrometastases. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 2452-2459.
86. Valsecchi ME, Silbermins D, de Rosa N, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with melanoma: A meta-analysis. *J Clin Oncol*. 2011; 29: 1479-1487.
87. Wong SL. et al. Sentinel Lymph Node Biopsy for Melanoma: American Society of Clinical Oncology and Society of Surgical Oncology Joint Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*. 2012; 30: 2912-2918.
88. Wrightson WR, Wong SL, Edwards MJ, et al. Complications associated with sentinel lymph node biopsy for melanoma. *Ann Surg Oncol*. 2003; 10: 676-680.
89. Komenaka IK et al. Allergic reactions to isosulfan blue in sentinel lymph node mapping. *Breast J*. 2005; 11: 70-72.
90. Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF, et al. Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: Accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial. *Ann Surg*. 2005; 242: 302-311.
91. McMasters KM, Noyes RD, Reintgen DS, et al. Lessons learned from the Sunbelt Melanoma Trial. *J Surg Oncol*. 2004; 86: 212-223.
92. Balch CM, Morton DL, Gershenwald JE, et al. Sentinel node biopsy and standard of care for melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2009; 60:872-875.
93. Eggermont AM, Suci S, Santinami M, et al. Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation alone in resected stage III melanoma: Final results of EORTC 18991, a randomised phase III trial. *Lancet*. 2008; 372: 117-126.

94. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, et al. Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol.* 2001; 19: 3635-3648.
95. Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, et al. Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: Validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol.* 2001; 19: 3622-3634.
96. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Update on the melanoma staging system: The importance of sentinel node staging and primary tumor mitotic rate. *J Surg Oncol.* 2011; 104: 379-385.
97. Wong SL, Morton DL, Thompson JF, et al. Melanoma patients with positive sentinel nodes who did not undergo completion lymphadenectomy: A multi-institutional study. *Ann Surg Oncol.* 2006; 13: 809-816.
98. Kingham TP, Panageas KS, Ariyan CE, et al. Outcome of patients with a positive sentinel lymph node who do not undergo completion lymphadenectomy. *Ann Surg Oncol.* 2010; 17: 514-520.
99. Morton D.L. et al. Final Trial Report of Sentinel Node Biopsy versus Nodal Observation in Melanoma. *N Engl J Med.* 2014; 370(7): 599-609.
100. Cadili A, Dabbs K. Predictors of sentinel lymph node metastasis. *J Can Chir.* 2010; 53(1): 32–6.
101. Mitra A, Conway C, Walker C, et al. Melanoma sentinel node biopsy and prediction models for relapse and overall survival. *British Journal of Cancer.* 2010; 103: 1229–36.
102. Vaquerizo-Tejera A, Barrera-Vigo MV, Lopez-Navarro, Herrera-Ceballos E. Growth rate as a prognostic factor in localized invasive cutaneous melanoma. *JEADV* 2010; 24: 147–54.
103. Kovacevic P, Visnic M, Vlajkovic M, Kovacevic T, Visnic A. Sentinel node biopsy for skin melanoma. *Vojnosanit Pregl.* 2009; 66(8): 657–62.
104. Cecchi R, Buralli L, Innocenti S, Seghieri G, De Gaudio C. Sentinel lymph node biopsy in patients with thick (= 4 mm) melanoma: a single-centre experience. *JEADV.* 2007; 21: 758–61.

105. Nguyen CL, McClay EF, Cole DJ, et al. Melanoma thickness and histology predict sentinel lymph node status. *The American Journal of Surgery*. 2001; 181: 8–11.
106. Yazdi AS, Morstedt K, Puchta U, et al. Heterogeneity of T-cell clones infiltrating primary malignant melanomas. *Journal of Investigative Dermatology*. 2006; 126: 393–8.
107. Kruper LL, Spitz FR, Czerniecki BJ, et al. Predicting sentinel node status in AJCC stage 1/11 primary cutaneous melanoma. *Cancer*. 2006; 107: 2436–45.
108. Rao NMU, Lee SJ, Luo W, Mihm MC, Kirkwood JM. Presence of tumor infiltrating lymphocytes and a dominant nodule within primary melanoma are prognostic factors for relapse-free survival of patients with thick (T4) primary melanoma pathologic analysis of the E1690 and E1694 intergroup trials. *Am J Clin Pathol*. 2010; 133(4): 646–53.
109. Nedrebo BS, Soreide K, Eriksen MT, DorumLM, Kvaloy JT, Soreide JA, Korner H. Survival effect of implementing national treatment strategies for curatively resected colonic and rectal cancer. *Br J Surg* 2011; 98: 716–723.
110. Soreide K, Berg M, Skudal BS, Nedrebo BS. Advances in the understanding and treatment of colorectal cancer. *Discov Med*. 2011; 12: 393–404.
111. Soreide K, Nedrebo BS, Knapp JC, GlomsakerTB, Soreide JA, Korner H. Evolving molecular classification by genomic and proteomic biomarkers in colorectal cancer: potential implications for the surgical oncologist. *Surg Oncol* 2009; 18: 31–50.
112. Compton CC, Greene FL: The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. *CA Cancer J Clin*. 2004; 54: 295–308.
113. Nedrebo BS, Soreide K, Eriksen MT, KvaloyJT, Soreide JA, Kørner H: Excess mortality after curative surgery for colorectal cancer changes over time and differs for patients with colon versus rectal cancer. *Acta Oncol*. 2012; 52(5): 933–940.

114. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with new American Joint Committee on Cancer Sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst.* 2004; 96: 1408–1409.
115. Shia J, Wang H, Nash GM, Klimstra DS. Lymph node staging in colorectal cancer: revisiting the benchmark of at least 12 lymph nodes in r0 resection. *J Am Coll Surg.* 2012; 214: 348–355.
116. McDonald JR, Renehan AG, O'Dwyer ST, Haboubi NY: Lymph node harvest in colon and rectal cancer: current considerations. *World J Gastrointest Surg.* 2012; 4: 9–19.
117. Aslani N, Lobo-Prabhu K, Heidary B, Phang T, Raval MJ, Brown CJ: Outcomes of laparoscopic colon cancer surgery in a population-based cohort in British Columbia: are they as good as the clinical trials? *Am J Surg* 2012; 204: 411–415.
118. Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA: Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. *J Natl Cancer Inst.* 2007; 99: 433–441.
119. Le Voyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AL, Mayer RJ, Macdonald JS, Catalano PJ, Haller DG. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol.* 2003; 21: 2912-2919.
120. Chen SL, Bilchik AJ. More extensive nodal dissection improves survival for stages I to III of colon cancer: a population-based study. *Ann Surg.* 2006; 244: 602-610.
121. Goldstein NS, Weldon S, Coffey M, et al: Lymph node recovery from colorectal resection specimens removed for adeno carcinoma. Trends overtime and a recommendation for a minimum number of lymph nodes to be removed. *Am J Clin Pathol.* 1996; 106: 209-216.
122. Wong JH, Severino R, Honnebier MB, et al. Number of nodes examined and staging accuracy in colorectal carcinoma. *J Clin Oncol.* 1999; 17: 2896-2900.

123. Sinan H, Demirbas S, Ersoz N, Ozerhan IH, Yagci G, Akyol M, Cetiner S. Who is Responsible for inadequate lymph node retrieval after colorectal surgery: surgeon or pathologist? *Acta Chir Belg.* 2012; 112: 200–208.
124. Kuijpers CC, van Slooten HJ, Schreurs WH, Moormann GR, Abtahi MA, Slappendel A, Cliteur V, van Diest PJ, Jiwa NM. Better retrieval of lymph nodes in colorectal resection specimens by pathologists assistants. *J Clin Pathol.* 2013; 66: 18–23.
125. Frasson M, Faus C, Garcia-Granero A, Puga R, Flor-Lorente B, Cervantes A, Navarro S, Garcia-Granero E. Pathological evaluation of mesocolic resection quality and ex vivo methylene blue injection: what is the impact on lymph node harvest after colon resection for cancer? *Dis Colon Rectum.* 2012; 55: 197–204.
126. Mekenkamp LJ, van Krieken JH, Marijnen CA, van de Velde CJ, Nagtegaal ID. Lymph node retrieval in rectal cancer is dependent on many factors – the role of the tumor, the patient, the surgeon, the radiotherapist, and the pathologist. *Am J Surg Pathol.* 2009; 33: 1547–1553.
127. Bilchik AJ, Compton C. Close collaboration between surgeon and pathologist is essential for accurate staging of early colon cancer. *Ann Surg.* 2007; 245: 864–866.
128. Mathoulin-Pelissier S, Becouarn Y, Belleanne G, Pinon E, Jaffre A, Coureau G, Auby D, Renaud-Salis JL, Rullier E. Quality indicators for colorectal cancer surgery and care according to patient-, tumor-, and hospital-related factors. *BMC Cancer.* 2012; 12: 297.
129. Lane RHS, Thompson MR, Whatley P, et al. Effect of specialisation on outcome in patients having surgery for rectal cancer. *Gut.* 1999; 44(1): 63.
130. Nedrebo BS, Soreide K, Nesbakken A, Tandberg Eriksen M, Soreide JA, Korner H. Assessment of risk factors associated with poor lymph node harvest after colon cancer surgery in a national cohort. *Colorectal Dis.* 2013; 15: 301-308.
131. Svec A, Horak L, Novotny J, Lysy P. Re-fixation in a lymph node revealing solution is a powerful method for identifying lymph nodes in colorectal resection specimens. *Eur J Surg Oncol.* 2006; 32: 426–429.

132. Lindboe CF. Lymph node harvest in colorectal adenocarcinoma specimens: the impact of improved fixation and examination procedures. *APMIS* 2011; 119: 347–355.
133. Gregurek SF, Wu HH. Can GEWF solution improve the retrieval of lymph nodes from colorectal cancer resections? *Arch Pathol Lab Med.* 2009; 133: 83–86.
134. Newell KJ, Sawka BW, Rudrick BF, DrimanDK. GEWF solution. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 642–645.
135. Tasi CK, Chen CY, Liu CY, Wu YY. Reliability and effectiveness of GEWF solution in the identification of lymph nodes in specimens of colorectal carcinoma. *Int J Surg Pathol.* 2012; 20: 589–595.
136. Iversen LH, Laurberg S, Hagemann-MadsenR, Dybdahl H. Increased lymph node harvest from colorectal cancer resections using GEWF solution: a randomised study. *J Clin Pathol.* 2008; 61: 1203–1208.
137. Cawthorn SJ, Gibbs NM, Marks CG. Clearance technique for the detection of lymph nodes in colorectal cancer. *Br J Surg.* 1986; 73: 58-60.
138. Shibakita M, Yoshimura H, Tachibana M, Ueda S, Nagasue N. Body mass index influences long-term outcome in patients with colorectal cancer. *Hepatogastroenterology.* 2010; 57: 62–69.
139. Kuo YH, Lee KF, Chin CC, Huang WS, YehCH, Wang JY. Does body mass index impact the number of LNs harvested and influence long-term survival rate in patients with stage III colon cancer? *Int J Colorectal Dis.* 2012; 27: 1625–1635.
140. Nowaczyk P, Murawa D, Polom K, Waszyk- Nowaczyk M, Spychala A, Michalak M, Murawa P. Analysis of sentinel lymph node biopsy results in colon cancer in regard of the anthropometric features of the population and body composition assessment formulas. *Langenbecks Arch Surg.* 2012; 397: 779–786.

141. Merok MA, Ahlquist T, Royrvik EC, Tufteland KF, Hektoen M, Sjo OH, Mala T, Svindland A, Lothe RA, Nesbakken A. Microsatellite instability has a positive prognostic impact on stage II colorectal cancer after complete resection: results from a large, consecutive Norwegian series. *Ann Oncol.* 2013; 24(5): 1274-82.
142. Chou JF, Row D, Gonen M, Liu YH, SchragD, Weiser MR. Clinical and pathologic factors that predict lymph node yield from surgical specimens in colorectal cancer: a population based study. *Cancer.* 2010; 116: 2560–2570.
143. Bilimoria KY, Palis B, Stewart AK, Bentrem DJ, Freel AC, Sigurdson ER, Talamonti MS, Ko CY. Impact of tumor location on nodal evaluation for colon cancer. *Dis Colon Rectum.* 2008; 51: 154–161.
144. Steele SR, Chen SL, Stojadinovic A, Nissan A, Zhu K, Peoples GE, Bilchik A. The impact of age on quality measure adherence in colon cancer. *J Am Coll Surg* 2011; 213: 95–103; discussion 104–105.
145. Soreide K. High-fidelity of five quasi monomorphic mononucleotide repeats to high frequency microsatellite instability distribution in early-stage adenocarcinoma of the colon. *Anticancer Res.* 2011; 31: 967–971.
146. Belt EJ, Velde EA, Krijgsman O, Brosens RP, Tijssen M, van Essen HF, Stockmann HB, Bril H, Carvalho B, Ylstra B, Bonjer HJ, Meijer GA. High lymph node yield is related to microsatellite instability in colon cancer. *Ann Surg Oncol.* 2012; 19: 1222–1230.
147. Eveno C, Nemeth J, Soliman H, Praz F, de The H, Valleur P, Talbot IC, Pocard M: Association between a high number of isolated lymph nodes in T1 to T4 N0 M0 colorectal cancer and the microsatellite instability phenotype. *Arch Surg.* 2010; 145: 12–17.
148. Habr-Gama A, Perez RO, Proscurshim I, Rawet V, Pereira DD, Sousa AH, Kiss D, Cecconello I. Absence of lymphnodes in the resected specimen after radical surgery for distal rectal cancer and neoadjuvant chemoradiation therapy: what does it mean? *Dis Colon Rectum.* 2008; 51: 277-283.

149. Ceelen W, Van Nieuwenhove Y, Pattyn P. Prognostic value of the lymph node ratio in stage III colorectal cancer: a systematic review. *Ann Surg Oncol*. 2010; 17: 2847–2855.
150. Chang YJ, Chen LJ, Chung KP, Lai MS. Evaluation of lymph nodes in patients with colon cancer undergoing colon resection: a population-based study. *World J Surg*. 2012; 36: 1906–1914.
151. Ogino S, Nosho K, Irahara N, Shima K, Baba Y, Kirkner GJ, Mino-Kenudson M, Giovannucci EL, Meyerhardt JA, Fuchs CS. Negative lymph node count is associated with survival of colorectal cancer patients, independent of tumoral molecular alterations and lymphocytic reaction. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105: 420–433.
152. Danko ME, Bennett KM, Zhai J, Marks JR, Olson JA Jr. Improved staging in node positive breast cancer patients using lymph node ratio: results in 1,788 patients with long-term follow-up. *J Am Coll Surg*. 2010; 210: 797–805.
153. Berger AC, Sigurdson ER, LeVoyer T, Hanlon A, Mayer RJ, Macdonald JS, Catalano PJ, Haller DG. Colon cancer survival is associated with decreasing ratio of metastatic to examined lymph nodes. *J Clin Oncol*. 2005; 23: 8706-8712.
154. Rahbari NN, Bork U, Motschall E, et al. Molecular detection of tumor cells in regional lymph nodes is associated with disease recurrence and poor survival in node-negative colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol*. 2012; 30: 60–70.
155. Faerden AE, Sjo OH, Bukholm IR, et al. Lymph node micrometastases and isolated tumor cells influence survival in stage I and II colon cancer. *Dis Colon Rectum*. 2011; 54: 200-206.
156. Saha S, Seghal R, Patel M, Doan K, Dan A, Bilchik A, et al. A multicenter trial of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer: prognostic implications for nodal staging and recurrence. *Am J Surg*. 2006; 191: 305–310.
157. Esser S, Reilly WT, Riley LB, et al. The role of sentinel lymph node mapping in staging of colon and rectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2001; 44: 850–856.

158. Bilchik AJ, Saha S, Wiese D, et al. Molecular staging of early colon cancer on the basis of sentinel node analysis: a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol.* 2001; 19: 1128–1136.
159. Bilchik AJ, Trocha SD. Lymphatic mapping and sentinel node analysis to optimize laparoscopic resection and staging of colorectal cancer: an update. *Cancer Control.* 2003; 10: 219–223.
160. Trocha SD, Nora DT, Saha SS, et al. Combination probe and dye directed lymphatic mapping detects micrometastases in early colorectal cancer. *J Gastrointest Surg.* 2003; 7: 340–346.
161. Wood TF, Saha S, Morton DL, et al. Validation of lymphatic mapping in colorectal cancer: in vivo, ex vivo and laparoscopic techniques. *Ann Surg Oncol.* 2001; 8: 150–157.
162. Stojadinovic S, Nissan A, Protic M, et al. Prospective randomized study comparing sentinel lymph node evaluation with standard pathological evaluation for the staging of colon carcinoma: results from the United States Military Cancer Institute Clinical Trials Group Study GI-01. *Ann Surg.* 2007; 245(6): 846-57.
163. Bilchik AJ, Di Nome M, Saha S, et al. Prospective multicenter trial of staging adequacy in colon cancer. *Arch Surg.* 2006; 141: 527–534.
164. Van der Zaag ES, Kooij N, van de Vijver MJ, Bemelman WA, Peters HM, Buskens CJ. Diagnosing occult tumour cells and their predictive value in sentinel nodes of histologically negative patients with colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2010; 36: 350-357.
165. Märkl B, Arnholdt HM, Jähnig H, Spatz H, Anthuber M, Oruzio DV, Kerwel TG. A new concept for the role of ex vivo sentinel lymph nodes in node-negative colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2010; 17: 2647-2655.
166. Van der Zaag ES, Bouma WH, Tanis PJ, Ubbink DT, Bemelman WA, Buskens CJ. Systematic review of sentinel lymph node mapping procedure in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2012; 19: 3449-3459.

167. Van Sheltinga SEJT, den Boer FC, Pijpers R, Meyer GA, Engel AF, Silvis R, Meijer S, van der Sijp JRM. Sentinel node staging in colon carcinoma: value of sentinel lymph node biopsy with radiocolloid and blue staining. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2006; 41: 153-157.
168. De Haas RJ, Wicherts DA, Hobbelink MG, van Diest PJ, Vleggaar FP, Borel Rinkes IH, van Hillegersberg R. Sentinel lymph node mapping in colon cancer using radiocolloid as a single tracer: a feasibility study. *Nucl Med Commun*. 2012; 33(8): 832-7.
169. Kitagawa Y, Watanabe M, Hasegawa H, Yamamoto S, Fujii H, Yamamoto K, et al. Sentinel node mapping for colorectal cancer with radioactive tracer. *Dis Colon Rectum*. 2002; 45:1476–1480.
170. Saha S, Dan AG, Berman B, Wiese D, Schochet E, Barber K, et al. Lymphazurin 1% versus ^{99m}Tc sulfur colloid for lymphatic mapping in colorectal tumors: a comparative analysis. *Ann Surg Oncol*. 2004; 11: 21–26.
171. Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, Kubota T, Ando N, Watanabe M, et al. The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. *Surg Clin North Am*. 2000; 80: 1799–1809.
172. Merrie AE, van Rij AM, Phillips LV, Rossaak JI, Yun K, Mccall JL. Diagnostic use of the sentinel node in colon cancer. *Dis Colon Rectum*. 2001; 44: 410–7.

10.0 ИНДЕКС:

СЛЈ – сентинелен лимфен јазол

АР – антеро постериорно

РА – постеро антериорно

TNM – тумор, нодус, метастаза

ИСЛЈ – интрамамарни сентинелни лимфни јазли

АСЛЈ – аксиларни сентинелни лимфни јазли

MSLT - multicenter selective lymphadenectomy trial

ALARA - as low as reasonable achievable

АО – anterior oblique

DHV – dual head vehicle

ASCO – American Society for Clinical Oncology

SSO – Society for Surgical Oncology

H&E – хематоксилин и еозин

ASA – American Society of Anesthesiologists

КРК – колоректален карцином

AJCC – American Joint Committee on Cancer

UICC – Union for International Cancer Control

EORTC - European Organisation for Research and Treatment of Cancer

SEER - Surveillance, Epidemiology and End Results

GOSTT - guided operative scintigraphic tumor targeting

ROLL - radioguided occult lesion localisation

ИТК – изолирани туморски клетки

QUASAR – Quick and Simple And Reliable

LNR – Lymph Node Ratio

CME – Complete mesocolic excision

TME – Total mesorectal excision

ММ – микрометастази

BMI – Body mass index

RT-PCR – Reverse transcription polymerase chain reaction

CEA – Carcinoembryonic antigen

CA19-9 – Cancer antigen 19-9

КТ – компјутеризирана томографија

МРИ – магнетна резонанца

РТГ – рендгенграфија

ВП – вистински позитивни

ЛП – лажно позитивни

ЛН – лажно негативни

ВН – вистински негативни

ХРТ – хеморадиотерапија

ТЕМ – трансанална ендоскопска микрохирургија