

УНИВЕРЗИТЕТ „СВ.КИРИЛ И МЕТОДИЈ“
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ – СКОПЈЕ
УНИВЕРЗИТЕТСКА КЛИНИКА ЗА ДИГЕСТИВНА ХИРУРГИЈА



**ВАЛИДНОСТА НА СЕНТИНЕЛНИОТ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ КАЈ ПАЦИЕНТИ СО
КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ ИЗОЛИРАН СО УПОТРЕБА НА РАДИОАКТИВЕН
КОЛОИД НА Tc99m**

Докторска дисертација

Докторанд

д-р Светозар Антовиќ

Ментор

проф. д-р Никола Јанкуловски

СКОПЈЕ, 2015 година.

СОДРЖИНА:

1. ВОВЕД	4
1.1. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА НА КОЛОРЕКТАЛНИОТ КАРЦИНОМ.....	4
1.2. СТАДИУМ НА БОЛЕСТА И ПРОГНОЗА.....	5
1.2.1. МИНИМАЛЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ.....	9
1.2.2. СООДНОС МЕЃУ ЈАЗЛИТЕ (LYMPH NODE RATIO).....	10
1.2.3. ФАКТОРИ ШТО ВЛИЈААТ НА БРОЈОТ НА ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ.....	11
1.2.4. ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА НА ЛИМФНИТЕ ЈАЗЛИ.....	14
1.2.5. ИМУНОХИСТОХЕМИСКА АНАЛИЗА НА ЛИМФНИТЕ ЈАЗЛИ.....	17
1.3. КОНЦЕПТОТ НА СЕНТИНЕЛ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ.....	17
1.3.1. ИСТОРИЈАТ НА СЕНТИНЕЛНИОТ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ.....	18
1.3.2. СЕНТИНЕЛНИОТ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ КАЈ КОЛОРЕКТАЛНИОТ КАРЦИНОМ.....	23
1.3.3. ТЕХНИКИ НА МАПИРАЊЕ НА СЛЈ КАЈ КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ.....	24
1.3.3.a. БОЕЊЕ СО МЕТИЛЕНСКО СИНО.....	24
1.3.3.b. РАДИОФАРМАЦЕВТСКИ ПРЕПАРАТИ ЗА СЛЈ МАПИРАЊЕ.....	26
2. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ	28
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ	29
3.1. ПАЦИЕНТИ.....	29
3.2. ПРЕДОПЕРАТИВНА КЛИНИЧКА ЕВАЛУАЦИЈА НА ПАЦИЕНТИТЕ.....	30
3.2.1. АНАМНЕСТИЧКИ ПОДАТОЦИ.....	30
3.2.2. ФИЗИКАЛЕН СТАТУС.....	30
3.2.3. ЛАБОРАТОРИСКИ ИСПИТУВАЊА.....	30

3.2.4. РЕНДГЕНОЛОШКИ ИСПИТУВАЊА.....	31
3.3. МЕТОДИ.....	31
3.3.1. ЕНДОСКОПСКА АПЛИКАЦИЈА НА Tc99m.....	31
3.3.2. ЛИМФЕН МАПИНГ.....	32
3.3.3. ОПЕРАТИВЕН ТРЕТМАН.....	34
3.3.4. ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА.....	35
3.4. СТАТИСТИКА.....	36
4. РЕЗУЛТАТИ.....	37
4.1. ДЕМОГРАФСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ.....	38
4.2. ЛОКАЛИЗАЦИЈА НА ТУМОРОТ НА ДЕБЕЛОТО ЦРЕВО.....	42
4.3. СТАДИУМ НА БОЛЕСТА.....	43
4.4. ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ (ЛЈ).....	44
4.5. ЗАВИСНОСТ НА БРОЈОТ НА ЛИМФНИ ЈАЗЛИ ОД ЛОКАЛИЗАЦИЈАТА НА ТУМОРОТ.....	47
4.6. ЗАВИСНОСТ НА БРОЈОТ НА ЛИМФНИ ЈАЗЛИ ОД ВОЗРАСТА.....	51
4.7. ЗАВИСНОСТ НА БРОЈОТ НА ЛИМФНИ ЈАЗЛИ ОД НЕОАДЈУВАНТА ТЕРАПИЈА.....	56
4.8. ЗАВИСНОСТ НА БРОЈОТ НА ЛИМФНИ ЈАЗЛИ ОД ГОЛЕМИНАТА НА ТУМОРОТ, НОДАЛНИОТ СТАТУС И pTNM СТАДИУМОТ НА БОЛЕСТ.....	58
4.9. ГРУПА ИСПИТАНИЦИ СО СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ (СЛЈ).....	69
4.9.1. ВАЛИДНОСТ НА СЕНТИНЕЛНИОТ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ (СЛЈ).....	70
4.9.2 ФАКТОРИ ШТО ВЛИЈААТ ВРЗ ПАРАМЕТРИТЕ ЗА ВАЛИДНОСТ НА СЛЈ.....	76
4.10. МИГРАЦИЈА ВО ПОВИСОК СТАДИУМ НА БОЛЕСТА (Upstaging).....	82
4.11. АБЕРАНТНА ЛИМФНА ДРЕНАЖА.....	82
5. ДИСКУСИЈА.....	83
6. ЗАКЛУЧОЦИ.....	105
7. АПСТРАКТ.....	106

8. ABSTRACT	108
9. ИНДЕКС	110
10. РЕФЕРЕНЦИ И ЛИТЕРАТУРА	112
11. АНЕКС 1	127

1. ВОВЕД

1.1. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА НА КОЛОРЕКТАЛНИОТ КАРЦИНОМ

Колоректалниот карцином (КРК) е најчестиот карцином што се јавува во дигестивниот тракт кај луѓето. Во целокупната онкологија колоректалниот карцином е на четврто место како по инциденцата на јавување така и по смртноста, веднаш зад карциномот на белите дробови, на простата и на дојката. За 2013 година само во Соединетите Американски Држави се очекуваат нови 132.820 случаи на колоректален карцином. За истиот период се очекува да починат 50.830, кои претставуваат 9% од сите смртни случаи предизвикани од канцер¹. За разлика од неразвиените земји, каде што ова заболување има ниска инциденца – 6,5/7,7 случаи на 100.000 популација, кај развиените западноевропски земји колоректалниот карцином не само што има висока инциденца туку таа континуирано расте – 50,9/60,8 на 100.000 популација². Животниот ризик кај луѓето изнесува 6%, што значи дека 1 од 18 луѓе во текот од својот живот ќе се соочи со борба против оваа болест.

Во Македонија колоректалниот карцином се јавува со инциденца од околу 25,7 на 100.000 популација и таа вредност е речиси еднаква со сите бивши југословенски републики. Ова ја вбројува Македонија во групата земји со средна до висока инциденца на ова заболување, што одговара и на другите европски земји. Според оваа бројка, секоја година нови 500–600 случаи на колоректален карцином се дијагностицираат во нашата земја, а најголемиот дел од нив, околу 350, секоја година се оперираат на Универзитетската клиника за дигестивна хирургија во Скопје. Загрижува фактот дека речиси 75% од овие случаи во моментот на дијагностицирањето се наоѓаат во висок трет стадиум на болеста, односно со метастази во регионалните лимфни јазли.

Иако хируршката ресекција често успешно лекува во раните стадиуми на болеста, стапката на преживување се намалува кога канцерот метастазира до регионалните лимфни јазли, а стапката на повторно појавување по комплетна клиничка ресекција на канцер на колон во трет стадиум може да достигне и 70%³.

Токму поради погоренаведеното во светот се преземаат масовни скрининг-програми, особено во последните 20 години, со цел навремено откривање на овие болни, кои се честопати долго време без никакви симптоми. Овие скрининг-програми имаат цел рано откривање на премалигните полипи и нивно отстранување или откривање на болни од карцином, но во ран стадиум, што значително го зголемува преживувањето на овие пациенти. Со имплементацијата на овие програми во некои земји на светот, како што се Соединетите Американски Држави, во последните години се бележи пад на инциденцата на ова заболување, што се должи на фактот на сè поголемиот број на ендоскопски полипектомии, со што се спречува развојот на карцином.

Во Македонија во 2008 година се донесе национален консензус за скрининг-програма на колоректалниот карцином и очекуваме таа да даде плод наредниве години. Но, мора да се земе предвид дека овие програми, за да ги дадат своите резултати, мора да се добро организирани и финансирани, бидејќи се исклучително тешки за спроведување, факт со кој се борат и многу поразвиени земји од нашата.

Од гореизнесеното е јасно дека колоректалниот карцином кај луѓето претставува голем не само здравствен туку и социо-економски проблем поради финансиските средства што секоја година се издвојуваат од страна на здравствените фондови за негово лекување.

1.2. СТАДИУМ НА БОЛЕСТА И ПРОГНОЗА

Најзначајно за прогнозата и за петгодишното преживување кај пациентите со колоректален карцином е стадиумот на болеста во кој таа е откриена и лекувана. Модерниот стејџинг на колоректалниот карцином дефинира четири стадиуми на болеста (I-IV) базирани на системот TNM (Tumor – Node – Metastasis), кој од неодамна како седма едиција е издаден од AJCC (American Joint Committee on Cancer). **T** - претставува длабочина на туморската инвазија низ сидовите на дебелото црево сè до инвазија на други органи. **N** – претставува број на лимфни јазли што во себе носат или не носат метастатска

болест од примарниот тумор. **M** – претставува постоење или отсуство на далечни хематогени метастази⁴.

Табела 1. AJCC/UICC TNM класификација на колоректалниот карцином

Stage	T	N	M	T classification	Primary tumour
0	Tis	N0	M0	TX	Primary tumour cannot be assessed
I	T1	N0	M0	T0	No evidence of primary tumour
	T2	N0	M0	Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : intraepithelial or invasion of lamina propria
IIA	T3	N0	M0	T1	Tumour invades submucosa
	T4a	N0	M0	T2	Tumour invades muscularis propria
IIIB	T4a	N0	M0	T3	Tumour invades through the muscularis propria into pericolorectal tissues
IIIC	T4b	N0	M0	T4a	Tumour penetrates to the surface of the visceral peritoneum
IIIA	T1-T2	N1/N1	M0	T4b	Tumour directly invades or is adherent to other organs or structures
	T1	N2a	M0	N classification	Regional lymph nodes
IIIB	T3-T4a	N1/N1	M0	NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
	T2-T3	N2a	M0	N0	No regional lymph node metastasis
	T1-T2	N2b	M0	N1	Metastasis in 1-3 regional lymph nodes
IIIC	T4a	N2a	M0	N1a	Metastasis in one regional lymph node
	T3-T4a	N2b	M0	N1b	Metastasis in 2-3 regional lymph nodes
	T4b	N1-N2	M0	N1c	Tumour deposit(s) in the subserosa, mesentery, or nonperitonealised pericolic or perirectal tissues without regional nodal metastasis
IVA	Any T	Any N	M1a	N2	Metastasis in 4 or more regional lymph nodes
IVB	Any T	Any N	M1b	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

Најважен прогностички критериум кај колоректалниот карцином претставува дали постојат 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 и поради тоа најчесто на овие пациенти не им се нуди дополнителна адјувантна терапија (хемотерапија и радиотерапија), освен во посебни околности. Овие посебни околности се јасно наведени во седмото издание на TNM-системот на AJCC, кој е издаден во 2010 година и е денес во употреба, какви што се големина на туморот T4, несоодветна лимфаденектомија (помалку од 12 лимфни јазли патохистолошки анализирани), перфориран карцином и лоша диференцираност на туморот. Поради тоа, ова седмо издание на прирачникот за стејџинг на Американскиот заеднички комитет за канцер го вовеле новиот стадиум IIC КРК и го

реклафицираше стадиумот ПС КРК⁵. Иако овој систем подразбира нови фактори на прогноза, каков што е скалата на регресија на туморот, маргина на циркумференцијална ресекција, присуство на изолирани клетки на тумор (ИКТ) и други молекуларни маркери, сепак сè уште има ограничена прогностичка прецизност. Всушност, една нова студија, користејќи ја базата на податоци на SEER (Surveillance, Epidemiology, End Results) откри дека седмото издание на прирачникот за стејџинг на Американскиот заеднички комитет за рак не ги елиминирало дискрепанциите во преживувањето на пациентите со стадиум ПВ/С и со стадиум ПНА на КРК, за кои подоцна ќе стане збор.

Пациентите со III стадиум на болест кај кои таа е проширена во лимфните јазли, но немаат далечни метастази во други органи, своето лекување го продолжуваат со адјувантна хемотерапија, примарно базирана на 5-флуороурацил. Бројни се студиите што укажуваат на бенефитот што го имаат пациентите од адјувантната хемотерапија^{6,7,8}. Кај пациентите со ректален карцином истата терапија може да биде дадена предоперативно како неoadјувантна радиохемотерапија, што е стандардна практика за сите ниски ректални карциноми, а особено T3 и T4 карциномите.

Пациентите во IV стадиум на болеста покрај неoadјувантна / адјувантна терапија своето лекување го продолжуваат најчесто со отстранување на далечните метастази (метастазектомија), најфреквентно на црниот дроб.

Иако адјувантната хемотерапија за болеста во трет стадиум претставува стандардна нега веќе речиси 20 години, нејзината корист и употреба кај болеста во втор стадиум е помалку јасна дури и денес. Пациентите што се во втор стадиум на болеста (без метастази во регионалните лимфни јазли) најчесто не примаат адјуванта хемотерапија, бидејќи кај нив не се откриени метастази во регионалните лимфни јазли со патохистолошка анализа. Сепак, кај оваа група пациенти по извесно време доаѓа до појава на локален рецидив на болеста (25–30%), што говори или за недоволна хируршка лимфаденектомија или, пак, патохистолошката анализа не успеала да идентификува микрометастатска болест во лимфните јазли, што довело до миграција во понизок стадиум (downstaging) на тие пациенти^{9,10}.

Фактот дека пациентите во висок втор стадиум имаат полошо преживување од пациентите во низок трет стадиум било причина во 2004 година Американското здружение за клиничка онкологија да препорача да се земе предвид употребата на хемотерапијата кај пациентите што се наоѓаат во втор стадиум, но се со висок ризик (несоодветна лимфаденектомија, T4 тумор, перфорација на карциномот или слабо диференциран тумор) и покрај недостигот на директни докази од рандомизирани студии¹¹. Студијата QUASAR претставува прва рандомизирана студија што демонстрираше мало, но апсолутно подобрување во стапката на преживување (3,6%) кога пациентите со втор стадиум на КРК биле третирани со адјувантна хемотерапија базирана на 5-флуороурацил¹².

Всушност, предизвик претставува да се откријат пациентите со КРК чии јазли се тумор негативни според конвенционалната патолошка анализа, но, сепак, имаат висок ризик за повторно појавување на болеста (агресивна биологија на туморот, пропуштена метастатична болест, неадекватно семплирање 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 и со стадиум III има значително влијание на изборот во лекувањето на овие пациенти, што, од друга страна, може да влијае на нивното преживување, но во исто време и да ја намали непотребната токсичност на хемотерапијата кај пациентите што се излечиле само со хируршка интервенција.

Од гореизнесеното се гледа дека правилната хируршка техника, како и точниот патохистолошки стејџинг е од особено значење за правилен третман на колоректалниот карцином. Ова особено има значење при испитувањето од страна на патологот на регионалните лимфни јазли што се хируршки отстранети, бидејќи од нив и нивната анализа зависи понатамошното лекување на пациентот. Имено, ако од страна на патологот не се пронајдат метастази во лимфните јазли, тогаш тој пациент има болест во стадиум I или II и тој понатаму нема да биде испратен на адјувантна терапија, освен во посебни околности. Но, доколку во лимфните јазли се откријат метастатски депозити, тогаш тој пациент има болест во III стадиум и сигурно ќе се упати на понатамошна адјувантна

терапија^{13,14}. Затоа и не зачудува важноста на лимфните јазли како прогностички фактор и нивната правилна евалуација при патохистолошката обработка од страна на патолозите.

1.2.1. МИНИМАЛЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ

Препораката дадена од страна на Fielding¹⁵, која вели дека минимум 12 регионални лимфни жлезди мора да бидат патохистолошки евалуирани за правилен стејџинг на колоректалниот карцином, денес претставува златен стандард и е усвоена и инкорпорирана од страна на AJCC/UICC во TNM системот и во многубројни клинички патеки и упатства. Под овој број на анализирани жлезди, под 12, шансите за грешка во стејџингот се големи, а тоа го покажуваат голем број студии^{16,17,18,19,20,21,22}.

Мора да се нагласи дека до овој концепт од минимум 12 лимфни јазли е дојдено преку широка и мачна клиничка и научна дебата, а и до ден-денес постојат спротивставени мислења. Овој концепт за минимум 12 лимфни јазли за првпат е предложен во 1990 година во извештајот на работната група на Светскиот конгрес на гастроентерологија во Сиднеј, Австралија, по што следува негово широко прифаќање во различни упатства. Меѓутоа, иако широко прифатен и во денешните изданија на AJCC, сепак тоа е препорака од ниво C, базирана на докази од III-IV ниво^{23,24,25,26,27}. Како и секоја новина, во првите години од нејзиното воспоставување, сè до нејзината конечна имплементација, ќе помине многу време додека патолозите широко ја прифатат и ја имплементираат во својата секојдневна практика. Во 2004 година значајна студија од Канада покажала дека само 58% од патолозите знаеле за постојните упатства, а само 25% биле информирани дека минимум од 12 лимфни јазли е потребен за правилно семплирање и стејџинг на болеста²⁸. До скоро во САД Медикер бараше само четири лимфни јазли да бидат идентификувани со цел да се бара комплетна евалуација и враќање на средствата за здравствено осигурување²⁹.

Многу научници, сепак, сметаат дека минималниот број од 12 испитани лимфни јазли е недоволен и дека треба да се тежнее кон што поголем број хируршки отстранети и патохистолошки изолирани и испитани лимфни јазли. Колку поголем број јазли се изолирани, толку поголеми се шансите на пациентот за преживување. Доказите

сугерираат дека пациентите, особено тие со стадиум II од болеста, со редуцирано изолирање на лимфни јазли имаат полоша прогноза^{30,31}. Референтната бројка изолирани лимфни јазли кај овие студии без сомнение се извлекува од валидни научни податоци и варира од толку малку, како шест, до високи 21^{32,33,34,35,36,37}.

Сепак, во прилог на тоа дека денешните упатства за минимум 12 испитани лимфни јазли се валидни, поткрепа се црпи и од студијата на Вахтер et al.³⁸ направена на голем број испитаници, 11.044 пациенти, со рТ3 канцер на колонот, идентификувани преку регистарот на СЕЕР, кој известува за драматично зголемување на бројот на позитивни лимфни јазли, ако се испитани над шест лимфни јазли. Сепак, ако се испитаат од 7 до 11 јазли, има само минимално зголемен број откриени позитивни лимфни јазли, додека кога биле евалуирани повеќе од 17, шансите да се најдат позитивни, всушност, опаѓаат. Авторите заклучиле дека стејдингот на рТ3 канцерот на колон е подобрен со зголемување на бројот на изолирани лимфни јазли до 12, а дека поголемиот број има минимален ефект на стејдингот.

1.2.2. СООДНОС МЕЃУ ПОЗИТИВНИТЕ И ВКУПНО ИЗОЛИРАНИТЕ ЈАЗЛИ (LYMPH NODE RATIO)

Присуството на позитивни лимфни јазли го дефинира третиот стадиум на болеста. Сепак, бидејќи е познато дека кај различни индивидуи постојат варијации кај лимфните јазли, можеби е посоодветно да се испитува процентот на позитивни јазли во однос на вкупно изолираните, отколку само апсолутната бројка на позитивни.

Според денешните препораки, доколку се пронајдат позитивни лимфни жлезди што во себе имаат метастатска болест, тогаш прогнозата зависи исклучиво и само од бројот на позитивни жлезди, а не и од бројот на вкупно изолираните. Па, така, до три позитивни жлезди се означуваат со N1, додека од четири па натаму се означуваат со N2 и ова значи полоша прогноза. Но, доколку се подели бројот на позитивни жлезди (N+) со вкупниот број на изолирани жлезди (N), тогаш се добива LNR (Lymph node ratio). Сè поголем број студии упатуваат на тоа дека прогностичката важност на вкупниот број позитивни жлезди е помала од онаа на Lymph node ratio. Соодносот меѓу лимфните јазли, дефиниран како коефициент меѓу позитивните јазли и вкупниот број

изолирани јазли, за првпат бил предложен за колоректален канцер од страна на Berger et al.³⁹ и последователно прифатен од другите^{40,41,42,43,44,45,46,47,48,49}. Сè уште се проучуваат точните вредности за соодносот на лимфните јазли со цел да се предвиди исходот на пациентот, меѓутоа податоците сугерираат дека колку што е поголем соодносот на лимфните јазли, толку се полоши шансите за преживување.

Следствено, соодносот на лимфните јазли може да биде супериорен прогностички индикатор за вкупниот број лимфни јазли и е оправдан ако се земе предвид примерот предложен од Ванг. Користејќи го системот за стејџинг на Американскиот здружен комитет за канцер (AJCC), прогнозата за пациент со два позитивни лимфни јазли е иста без оглед на тоа дали се испитани 2 или 40 лимфни јазли, доколку сите други критериуми за стејџинг се исполнети. Доколку се прифатат доказите презентирани погоре, би можело да се предвиди дека стапката на преживување во првиот случај (LNR = 1,0) би била полоша отколку во вториот случај (LNR = 0,05). Сепак, во овој хипотетички пример нумеричката вредност на соодносот на лимфните јазли ќе биде диспропорционално висока ако вкупниот број изолирани лимфни јазли не е репрезентативен. Затоа, иако многу автори презентираат докази дека користењето на соодносот на лимфните јазли е супериорен прогностички индикатор за вкупниот број изолирани јазли, пресметката на точниот сооднос на лимфните јазли, сепак, зависи од соодветниот број вкупно изолирани лимфни јазли.

1.2.3. ФАКТОРИ ШТО ВЛИЈААТ НА БРОЈОТ НА ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ

Хирургот како фактор – Правилната хируршка дисекција при оперативниот третман е веројатно најважниот фактор во бројот на изолираните лимфни јазли. Несомнено дека искуството на хирургот, неговиот тренинг и работата во болница со висок волумен на работа се независни и важни фактори во правилната оперативна онколошка ресекција, а со тоа и во зголемениот број изолирани (отстранети) лимфни јазли. Со правилна и модерна техника на комплетна мезоколична ексцизија (СМЕ) кај колонот, односно тотална мезоректална ексцизија (ТМЕ) кај ректумот, може значително да се

зголеми опсегот на лимфаденктомија, а со тоа и на бројот на отстранетите лимфни јазли⁵⁰. Оттука произлегува дека **ХИРУРГОТ** е значаен фактор во бројот на изолираните жлезди.

Патологот како фактор – Правилната патохистолошка анализа на хируршки ресецираниот препарат, пак, е вториот значаен фактор во бројот на анализираните лимфни жлезди. Денес во арсеналот на патолозите се наоѓаат бројни методи за правилна детекција и изолирање на што поголем број јазли во препаратот. Овие методи во себе вклучуваат разни техники на топење на мезоколично-ректалното масно ткиво со цел откривање и на најмалите лимфни јазли за нивна правилна анализа. Несомнена е значајноста на минуциозната патолошка техника и упорноста за пронаоѓање на сите отстранети лимфни јазли во примерокот. Примероците треба да се дисецираат од страна на адекватно обучен персонал и во соодветно доволно време да се изведе темелно изолирање на лимфните јазли, доколку се сака да се постигне точен стејџинг. Рачната палпација сè уште е главната техника што се користи од страна на патолозите, но така може да се пропуштат малите јазли. Солуциите за топење на масното ткиво (ксилен и алкохол) се прифатени во многу центри како помошно средство при пронаоѓањето на лимфните јазли доколку нивниот број е мал при користењето на традиционалните методи⁵¹.

Се чини логично дека поголемите јазли имаат поголеми шанси да се метастатски променети и ова и денес владее како мислење меѓу многу хирурзи, патолози, па и радиолози. Но, истражувањата ја анализирале големината на јазлите како можен предиктор на патолошкиот статус и не успеале да најдат корелација⁵². Herrera-Ornelas et al.⁵³ користеле техника на растопување на салото за да ги идентификуваат лимфните јазли во мезентериумот на примерокот и откриле дека повеќе од 64% од позитивните јазли биле со обем помал од 5 мм. Уште повеќе, од тие јазли од 5 мм 45% биле со обем од 3 мм или помали. Ова зборува дека патологот мора да се труди да ги пронајде и најмалите лимфни јазли со цел наоѓање на метастатската болест. Но, техниките на растопување на маста од мезентериумот бараат многу вложен труд и финансиски средства.

Меѓународните стандарди на практиката за изолирање и процесирање на лимфни јазли сè уште треба да се развијат⁵⁴. Проблемот со ригидното одредување на минимален број на испитани лимфни јазли (12) е во тоа што веднаш штом таа бројка ќе се постигне,

ентузијазмот за потрагата по други лимфни јазли се намалува, без оглед на тоа колку позитивни јазли останале неиспитани во примерокот. Ова придонесува кон аргументот дека не е препорачливо да се потпираме на специфичен минимален број изолирани лимфни јазли.

Пациентот како фактор – Секогаш треба да се има предвид дека врз бројот на изолирани лимфни јазли влијание има и самиот пациент, неговиот предоперативен третман (неoadјувантна терапија), како и локализацијата и биологијата на туморот.

Возраста на пациентите може да има влијание врз бројот на изолираните лимфни јазли и постојат научни податоци дека со зголемување на возраста опаѓа бројот на изолирани лимфни јазли. Во студијата на Shen et al.⁵⁵, кај 434 последователни пациенти со колоректален карцином во референтен центар за терциерна медицина, средниот број изолирани лимфни јазли бил значајно помал кај пациенти на возраст ≤ 60 години, наспроти пациенти со возраст ≥ 60 години ($P=0,002$), и значајно помал кај пациентите со сигмоиден колон ($P<0,001$) и ректум ($P=0,001$) споредено со цекум и асцендентен колон. Изолирањето на лимфните јазли се зголемува при зголемен T стадиум^{56,57} и е предмет на природна анатомска варијација^{58,59}. Изолирањето на лимфните јазли исто така е под влијание на додатни тумор-фактори (на пр., интерлеукин-10, трансформиращки фактор на раст – β и васкуларен ендотелијален фактор на раст)^{60,61}. Присуството на микросателитска нестабилност⁶² исто така е поврзано со изолирањето на лимфните јазли. Soreide et al.⁶³ откриле дека микросателитската нестабилност е независен фактор за изолирање на ≥ 12 лимфни јазли во стадиум II/III кај карциномот на колон ($P=0,026$). Резултатите имплицираат дека разликата во бројот на лимфни јазли, детектирана во примероците по ресекција, во голема мера е резултанта на овие биолошки фактори. Авторите заклучуваат дека одредувањето арбитрарна бројка на минимум изолирани лимфни јазли што ќе се користат како индикатор за прогноза е неосновано и потпирањето на таквите упатства во клиничката практика треба да се преиспита.

Современиот третман на колоректалниот карцином понекогаш подразбира и употреба на предоперативна радиохемотерапија, која исто така влијае во бројот на изолирани лимфни јазли^{64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72}.

Намерата на неoadјувантната терапија е да се направи намалување на волуменот на примарниот тумор (downstaging) и околните метастази во лимфните јазли. Притоа, туморското ткиво преминува во фиброза, која прави потешко да се идентификуваат лимфните јазли преку палпација и е поврзана со намалување во големината на нормалните лимфни јазли, како и на јазлите зафатени со тумор. Кај ректалниот канцер, иако тоа е посакуваниот ефект од третманот, тоа е во контрадикција со традиционалната цел за постигнување максимален број изолирани лимфни јазли, бидејќи таа терапија значајно го намалува бројот на пронајдените јазли. Morgos⁶⁷ проучил 116 пациенти по направена ТМЕ за ректален аденокарцином, од кои 59 биле подложени на неoadјувантна хемо- и радиотерапија пред операцијата. Намалување на средниот број на изолирани лимфни јазли било откриено кај пациентите што примиле неoadјувантна терапија (од 19 на 16, $P=0,008$). Оваа редукција, сепак, немала влијание врз стапката на преживување. Rullier et al.⁶⁴ известуваат за 495 пациенти што биле третирани за ректален канцер (неoadјувантна радиотерапија $n = 332$; неoadјувантна радиохемотерапија $n = 248$; само операција $n = 163$). Неoadјувантната терапија го редуцирала и средниот број изолирани лимфни јазли (од 17 само со операција до 13; $P < 0,001$) и средниот број позитивни лимфни јазли (од 2,3 само со операција на 1,2 $P = 0,001$). Денеска таа терапија е толку современа што кај некои пациенти настанува и комплетен клинички одговор, односно излекување само со предоперативна терапија.

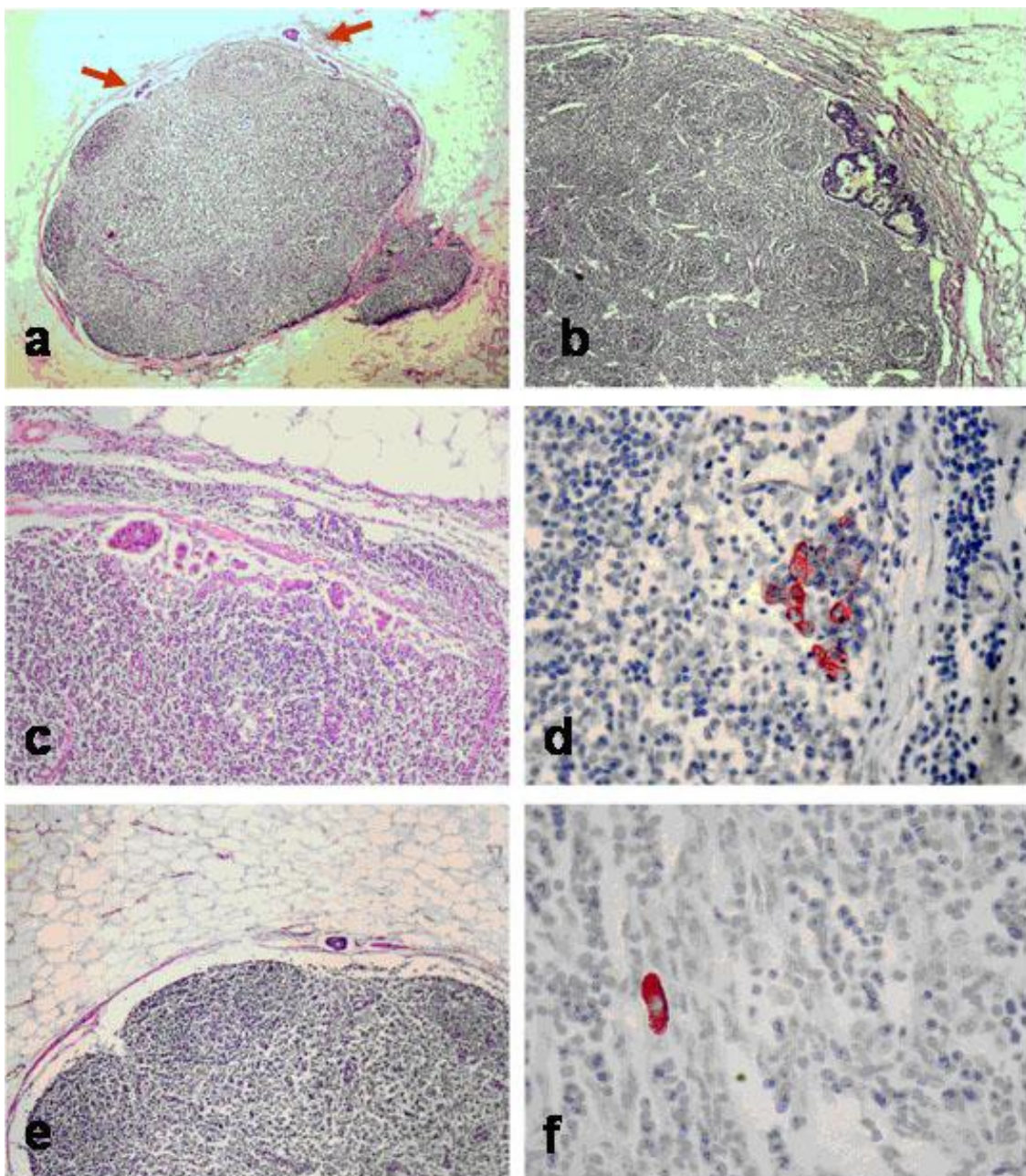
Сите овие фактори мора да се земат предвид кога станува збор за правилен стејдинг на болеста врз основа на бројот на лимфните јазли.

1.2.4. ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА НА ЛИМФНИТЕ ЈАЗЛИ

Покрај пронаоѓањето на сите лимфни јазли во препаратот, за кое досега говоревме, со сите свои предизвици, на патологот му претстои можеби најважната задача за прогноза на болеста, а тоа е анализата на тие јазли, која треба да одговори дали во себе носат метастатска болест. Според денешните дефиниции сите метастази што се поголеми од 2 мм се означуваат како вистински метастази и се означуваат со pN (+). Сите метастатски депозити со големина 0,2–2 милиметри се дефинираат како микрометастази (ММ), додека

оние помали од 0,2 милиметри се дефинираат како изолирани туморски клетки (ИТК)^{73,74,75}.

Слика 1. Патохистолошки наод на микрометастатски депозити во периферниот синус на лимфниот јазол (а-стрелки); што се гледа појасно на поголемо зголемување како хистолошки евидентна микрометастаза (b), а наместа во вид на малигни клеточни групации или кластери (c). Ваквите микрометастази можат да се видат и да се верификуваат најјасно со употреба на имунохистохемиски боења (d е anti-pancitokeratin антителио АЕ1/АЕ3), додека поединечните туморски клетки се гледаат исклучиво со употреба на имунохистохемија (f).



Мануелната дисекција на лимфните јазли од страна на патологот, проследена со нивно рутинско боење со хематоксилин и еозин (ХЕ) и нивна микроскопска анализа, денес претставува стандардна патолошка постапка на евалуација на секој карциномски примерок. По еден до две пресеци од лимфниот јазол обоени со ХЕ се прегледуваат микроскопски по што се носи заклучок за тоа дали има или нема метастази. Имајќи предвид дека еден лимфен јазол со големина од 5 мм може да се пресече на 1000 секции од по 5 микрони, практично, тоа говори дека во рутинската практика патологот прегледува помалку од 1% од целата површина на лимфниот јазол. Ваквата стандардна практика многубројни студии ја ставаат под знак прашалник како недоволно прецизна во стејџингот на лимфните јазли, бидејќи не е во можност да открие микрометастази, а со тоа пациенти со резидуална метастатска болест да ги означат како pN (-)⁷⁶. Дополнителната употреба на имунохистохемиски методи на боења на лимфните јазли значително го зголемува процентот на пронајдени ММ и ИТК, но со тоа и цената на испитувањата.

Со ова може да се објасни фактот што кај 25–30% од пациентите со стадиум I и II на болеста, кои се означени како pN (-), во тек на наредните пет години се јавува локален рецидив на болеста⁷⁷. Тоа го објаснува и фактот дека пациентите со IIВ стадиум на болеста што немаат метастази во лимфните јазли имаат полоша прогноза од пациентите со стадиум IIIА, кои од патологот се означени дека имаат метастази во лимфните јазли. Петгодишното преживување е 72,2% кај IIВ, а 83,4% кај IIIА². Разликата е во тоа што пациентите со IIIА стадиум примаат адјувантна терапија (хемотерапија).

Поради горенаведеното многубројни автори и студии покажуваат дека ваквиот downstaging може да се избегне со употреба на нови техники на анализа на лимфните јазли, какви што се имунохистохемиските и молекуларните анализи. Но, употребата на овие анализи е скапа и консумира многу време, па затоа сè уште не се воведени во рутинската практика и покрај одличните резултати што ги покажуваат бројните студии⁷⁸. Најголем број од нив користат имунохистохемиски методи.

1.2.5. ИМУНОХИСТОХЕМИСКА АНАЛИЗА НА ЛИМФНИТЕ ЈАЗЛИ

Сите клетки од епително потекло (од кое потекнуваат аденокарциномите), во својот скелетон имаат вграден конституент кој се искажува на нивната површина како цитокератин (cytokeratin). Тоа значи дека и малигните клетки од примарен аденокарцином на својата површина ќе го имаат овој клеточен маркер. Со оглед на фактот дека лимфното ткиво на лимфните жлезди не е од епително потекло, јасно е дека нема цитокератин. Затоа при употребата на имунохистохемиски методи на одредување на цитокератин во лимфните жлезди може да се откријат и најмали групи на метастаски клетки до поединечни метастатски клетки кои сигурно потекнуваат од примарниот аденокарцином и претставуваат вистински микрометастази^{75,79,80}. Без употреба на имунохистохемиски боења при анализа на лимфните жлезди, овие микрометастази не може да се откријат, поради што доаѓа до downstaging на пациентите до 25%^{81,82}. Овие пациенти ќе се означат како No и нема да примаат адјувантна хемотерапија, која инаку им е потребна, што доведува до недоволен третман. Овде мора да се напомене дека клиничкото значење на овие микрометастази сè уште точно не е дефинирано, иако се сметаат за прогностички фактор за преживување на пациентите. Но, употребата на овие имунохистохемиски методи е скапа, поради што нивната употреба е лимитирана.

Оттука и произлегува потребата за откривање и детектирање на сентинелниот лимфен јазол (СЛЈ) кај колоректалниот карцином, кој ќе овозможи фокусирана и екстензивна патохистолошка анализа, со што значително би се намалиле трошоците на испитувањето.

1.3. КОНЦЕПТОТ НА СЕНТИНЕЛ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

Сентинелниот лимфен јазол (СЛЈ) се дефинира како првиот лимфен јазол (прва станица) на дренирање на лимфата од примарниот тумор и за онкологијата е од посебна важност. Концептот за СЛЈ се базира на фактот дека лимфната дренажа од примарниот

тумор се дренира секвенционално од еден до друг лимфен јазол поминувајќи низ сите лимфни јазли од тој дел на телото, кои заедно сочинуваат базен или мрежа на регионални лимфни јазли (цел на хируршката дисекција при онколошки операции). Имајќи го ова предвид, јасно е дека СЛЈ е прв во кој се очекува да се јават метастатски депозити од примарниот тумор и со самото тоа претставува најважен јазол/нодус во патохистолошката анализа. Уште од оригиналната студија на *Morton* од 1992 година за одредувањето и за значењето на СЛЈ кај малигниот меланом⁸³, па сè до денес, голем труд е вложен во бројни студии за усовршување на техниките на откривање и изолирање на СЛЈ кај многу карциноми. Најчесто се користат техники на инјектирање метиленско сино или различни радиотрасери. До денес само за малигниот меланом и карциномот на дојка целосно се усовршени овие техники, јасно е одредено значењето на СЛЈ и соодветно се дадени препораки за третманот на пациентите.

1.3.1. ИСТОРИЈАТ НА СЕНТИНЕЛНИОТ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

Како и многу други големи откритија во медицината, така и лимфниот систем, за првпат е забележан и нотиран во неколку од писанијата на Хипократ, кој е, во исто време, и научникот за кој се верува дека го сковал името „канцер“ од грчкиот збор *Karsinos* (рак). Но, во тоа време лимфата како продукт воопшто не ни била позната, поради што многу научници од раната историја, кои во своите истражувања ги забележале лимфните садови, вклучително и лимфните јазли, верувале дека се работи за венски крвни садови, меѓу кои и Херофилус од Александрија.

Gasparo Aselli, професор по анатомија, кој работел во Павиа, Италија, во 1622 година бил првиот што систематски го проучил лимфниот систем кај кучињата и го препознал значењето на лимфата, која сè уште не го добила своето име, но бил уверен дека, иако посебни по својата функција, лимфните садови што тој ги нарекол лактеални вени се, сепак, дел од васкуларниот крвен систем⁸⁴. Кај луѓето овие садови за првпат систематски се опишани од Gassendi во 1628 година, а потоа потврдени од повеќе научници⁸⁵.

Значаен пробив во науката доаѓа во 1652 година од Данска, кога данскиот лекар и теолог Thomas Bartholi⁸⁶ за првпат открива дека лимфните садови се посебна циркулација од крвната и дека лимфата, всушност, настанува со филтрација на крвта, што е прва коректна интерпретација на лимфниот систем. Тој им го дава името на лимфните садови и ги нарекува *vasa lymphatica*, од латинскиот збор *lympha*, што во превод значи *чиста пролетна вода*.

Еден од основачите на модерната медицина, Rudolf Virchow (1821–1902), е првиот што покрај лимфните садови ги изучувал и лимфните јазли и правилно постулирал дека тие се филтри низ кои се филтрира лимфата. Уште повеќе во своите испитувања тој дури и го забележал правилниот и секвенционален тек на лимфата низ лимфните јазли, со што и го навестил постоењето на **сентинелниот лимфен јазол** како прв филтер^{87,88}. Базирано на овие согледувања започнува и практичната употреба на лимфаденектомијата како дел од онколошкиот принцип во лекувањето на пациентите болни од карцином, а за тоа особено се заслужни Herbert Snow и William S. Halsted, чии операции, кои вклучуваат систематска лимфаденектомија, стануваат стандард во тоа време.

Во меѓувреме започнуваат и напори за визуализација на лимфните садови и тука мора да се спомене пионерскиот обид на романскиот хирург Dimitrie Gerota, кој првпат употребил персиско сино за боење на овие садови и го објавил како посебна техника⁸⁹.

Првата забележана употреба на сината боја ин виво, која денес често се користи за визуализација на лимфните садови, била направена од Hudack и McMaster⁹⁰, кои информирале за ова во 1933 година.

Првата слика на радиоактивен јазол со примена на радиофармацевтски препарат била направена од Sage и Gozun⁹¹ во Њујорк во 1958 година врз куче, по администрирање колоиден протеин обележан со злато 198.

Првиот извештај за интраоперативна употреба на гама-детекторски систем сонда за гама-зраци кај пациент датира од 1984⁹². Во овој пациент со ректален карцином било инјектирано антители обележано со јод 131 против карциноембрионичниот антиген.

Иако за развојот на научната мисла и истражувањата поврзани со сентинелниот лимфен јазол огромно значење има Donald Morton (слика 2), сепак тој не бил првиот што

го вовел терминот сентинелен јазол (sentinel node). Се верува дека првпат зборот sentinel потекнува од Leonard R. Braithwaite, кој во 1923 година, работејќи на мачки, успеал да изолира лимфен јазол, кој прв се бои по апликација на сина боја на нивниот оментум. Овој јазол го нарекол **сентинелен јазол**⁹³. Потоа во 1960 година Ramon M. Cabanas, изучувајќи го пенилниот канцер, забележал дека првиот инволвиран лимфен јазол кај овој карцином секогаш се наоѓа на 4,5 цм од туморот, латерално од пубичниот туберкулом, и овој јазол го нарекол сентинелен јазол⁹⁴.

Придонесот на Мортон и Кохран. Како што веќе беше објаснето, концептот за тумор, кој почетно се дисеминира во специфичен лимфен јазол, бил откриен повеќе од еден век пред да биде објавен значајниот текст на Мортон и Кохран во 1992 година. Голем број истражувања веќе го користеле изразот *сентинелен јазол*, сина боја била користена за да се визуализираат лимфните садови, лимфосцинтиграфијата постоела, а постоел и подвижен детектор на гама-зраци, кој бил користен во оперативните сали. Тогаш во што се состои придонесот на Мортон и Кохран? Спротивно на разбирањето на лимфните метастази што преовладувало во тој период, овие двајца научници го оживеале концептот на Вирхоф за селективна лимфна дренажа и претпоставиле дека метастазирачкиот меланом напредува по одреден редослед до сентинелен јазолот, потоа низ синцирот на лимфните јазли од вториот и од третиот столб. Тие повторно го воспоставиле концептот на Герота-методот за визуализација на лимфната дренажа. Го унапредиле разбирањето на лимфната дренажа, надминувајќи ги концептите на Кабанас, Брејтвajt и Гулд⁹⁵, кои се базирале на статика и на анатомија претпоставувајќи фиксна локација на сентинелниот јазол. Новиот концепт предложен и потврден од Мортон и Кохран бил динамичен и базиран на физиологијата на лимфната дренажа, која многу варира од пациент до пациент и фундаментално го смениле начинот на размислување за лимфната дисеминација, нагласувајќи дека кај многу пациенти постои специфичен редослед во ширењето на метастазите од примарната локација до сентинелните лимфни јазли прво, а потоа на други локации преку крвниот систем. Нивниот концепт совршено одговара на современата цел за третирање на пациентите со индивидуален менаџмент и со желбата да се зачува естетскиот аспект и функцијата.



Слика 2. Доналд Л. Мортон

Мортон и Кохран го започнале своето автентично истражување на сентинелните јазли со експерименти врз животни во средината на осумдесеттите години на минатиот век и подоцна го прошириле врз пациенти. Тие ги претставиле резултатите од првите 100 пациенти на Конгресот за меланом на Светската здравствена организација одржан во Венеција во 1989 година. Сепак, за нивната презентација имало мал интерес. Незаплашени, тие опстанале на своето истражување и го зголемиле бројот на пациенти во нивните серии и истражувања. Малку е познат фактот дека имале тешкотии при пронаоѓањето издавачи заинтересирани за објавување на нивните истражувања. Првите две еминентни списанија во кои го поднеле трудот ги одбиле и им требале уште две години додека конечно трето стручно списание го објавило овој текст кој денес претставува класика во својата област и е често цитиран⁹⁶.

Наредниот голем чекор на ова поле доаѓа во 1994 година од Соединетите Американски Држави од група истражувачи од центарот John Wayne Cancer, кои концептот на Мортон за малиген меланом го примениле на карциномот на дојка⁹⁷, по што во научната јавност за првпат се јавува идејата за испитување на сентинелниот јазол речиси кај сите солидни неоплазми. Истата група од истиот центар во 1998, водена од Bilchik⁹⁸, ги објавува резултатите за испитувањата на сентинелниот јазол кај карциномот на тироидна жлезда, кај гастроинтестиналните тумори, вклучувајќи и колон, карцином на цервиксот на утерусот и кај сквамозниот карцином на глава и врат, по што многубројни центри влегуваат во различни истражувања со различен дизајн и сумирано нивните највредни резултати до 2002 година се претставени од Zervos et al.⁹⁹ во табелата 2.

Табела 2. Стапка на детекција, лажно негативна стапка и upstaging кај различни солидни неоплазми

тумор	стапка на детекција(%)	лажно негативна стапка (%)	Upstaging (%)
дојка	90–95	0–5	5–15
меланом	95–100	0–5	12
колон	70–99	4–60	10-18
вулва	78–86	0	НП*
цервикс	60–93	0	НП*
глава и врат	78–100	0–1,5	НП*
желудник	99	1,3	НП*
бели дробови	47–82	0–5	22–29

*НП - непознато

1.3.2. СЕНТИНЕЛНИОТ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ КАЈ КОЛОРЕКТАЛНИОТ КАРЦИНОМ

Кај колоректалниот карцином, потенцијалниот бенефит од методот на одредување на СЛЈ и неговата анализа е различен од оној кај малигниот меланом и карциномот на дојка. Имено, тука методот нема цел да ја намали или да ја смени хируршката дисекција, туку цели кон правилно откривање и анализа на овој јазол за добивање **точен стејџинг** од кој зависи понатамошното лекување на пациентите. Друга цел е откривањето на евентуална аберантна дренажа на туморот, што, пак, би довело до проширување на хируршката дисекција на лимфните јазли во таа регија.

Од досегашните истражувања на оваа тема сè уште не може да се даде конкретен одговор за методот што би требало да се употреби за откривање на СЛЈ кај колоректалниот карцином, додека неговото значење полека, но сигурно се дефинира.

Првата објавена публикација за СЛЈ кај карцином на колонот потекнува од 1999 година и во неа, со употреба на метиленско сино, биле мапирани сентинелите во ресецираниот примерок. Стапката на детекција изнесувала ниски 70% (кај 35 од вкупно 50 пациенти) додека 60% од сентинелите не успеале точно да го идентификуваат статусот на пациентот, односно сензитивноста во студијата била исклучително мала. Но, и покрај првичните демотивирачки резултати, сепак, надеж во понатамошните испитувања поттикнува студијата на Saha et al.¹⁰⁰ од Универзитетот Флинт во Мичиген, изведена со лимфазурин боја на 86 пациенти, со стапка на детекција од 95%, лажно негативни сентинелни јазли од 5%, аберантна лимфна дренажа е забележана кај 7% и стапка на upstaging од 18%. Резултатите се повторени со голема успешност од центарот John Wayne Cancer во 2000 година од Wood et al., каде што од вкупно 50 пациенти, кај 47 биле откриени сентинелни лимфни јазли што точно го предвиделе нодалниот статус кај 94% од пациентите¹⁰¹. По ова следуваат бројни студии за кои детално се зборува во дискусијата, но најпрво за техниките што тие ги користат.

1.3.3. ТЕХНИКИ НА МАПИРАЊЕ НА СЛЈ КАЈ КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

1.3.3.a. БОЕЊЕ СО МЕТИЛЕНСКО СИНО

Најголем дел од студиите, преку 95%, како метод за откривање на СЛЈ кај КРК користат супсерозно инјектирање на метиленско сино околу туморот, *in vivo* или *ex vivo*, при што како СЛЈ се означуваат првите четири лимфни јазли што се пребојуваат. Метиленското сино е евтино и лесно за употреба и има брз транспорт и влез низ лимфните садови и јазли поради што е и најекстензивно употребуваното средство за мапирање. Оваа техника најчесто се изведува со супсерозно инјектирање со инсулинска игла на метиленско сино околу туморот, по што во наредните десет минути настанува негово лимфатично дистрибуирање, а првите четири лимфни јазли што се пребојуваат со сина боја се означуваат од страна на хирургот со поставување сутура, која го води понатаму патологот при дисекција на препаратот за пронаоѓање на тие жлезди. Ректалниот карцином не е погоден за *in vivo* мапирање со оглед на тоа што ректумот се наоѓа обвиткан со својот мезоректум и длабоко во малата карлица, а дел и под перитонеалниот рецесус. Поради овој факт овој карцином речиси во сите студии што ја користат *in vivo* техниката е исклучен. За надминување на овој проблем дел од студиите своето мапирање го прават *ex vivo*, што значи по вадењето на препаратот метиленското сино се вбригува перитуморално, најчесто субмукозно околу туморот, по што целиот препарат се третира со репетитивна бимауелна компресија 5–10 минути со цел да се осигура лимфатичната циркулација. Мора да се нагласи дека до денес не постои консензус за тоа колку лимфни јазли претставуваат сентинели и, иако најголем број автори сметаат дека првите четири обоени јазли се доволни, сепак некои сметаат дека сите сино обоени лимфни јазли треба да се сметаат за сентинели¹⁰³. Исто така, не постои консензус за тоа колку милилитри метиленско сино треба да се вбригуваат супсерозно со цел правилно мапирање.

Слика 3. In vivo и ex vivo СЛЈ мапирање



Најчесто е употребувана количина од 2 милилитри, но во една студија од Швајцарија јасно е покажана зависноста на потребната количина метиленско сино од големината на туморот и авторите заклучиле дека за секој 1 цм кубен тумор е потребно 0,5 мл метиленско сино за правилно мапирање¹⁰². Стапката на детекција на СЛЈ зависи од многу фактори поврзани со пациентите, од кои најважен е индексот на телесната тежина (ВМТ), особено кај пациенти кај кои тој е повисок од 24, поради неможноста да се види пребојувањето на жлездите со метиленско сино од масниот мезентериум¹⁰³. Дополнително, треба да се земе предвид и постоењето алергиски реакции кај некои пациенти, од уртикарија, па сè до анафилактичен шок при in vivo употреба на метиленското сино, што, сепак, е ретко. Правилната техника на супсерозно вбригување е особено важна, зашто при евентуално истурање по перитонеумот би се обоил целиот препарат, со што понатамошното пронаоѓање на СЛЈ би било невозможно.

1.3.3.6. УПОТРЕБА НА РАДИОФАРМАЦЕВТСКИ ПРЕПАРАТИ ЗА СЛЈ МАПИРАЊЕ

Откако првичните студии ја потврдија техниката на мапирање со метиленско сино, се појавија и првите слики од сентинел јазолот добиени со употреба на радиоколоиди кај пациенти со малиген меланом. Употребата на овие радиоизотопи, најчесто технициум 99 сулфур колоид, се темели на фактот дека при нивната лимфатична дистрибуција тие се **заробени во СЛЈ** преку фагоцитната активност на макрофагите и ткивните хистиоцити, кои го обложуваат супкапсуларниот синус на лимфните јазли. Предноста на оваа техника произлегува од добивањето слики со висок контраст, што значи дека има висока сензитивност за детектирање на сите лимфатични колектори и јазли, вклучувајќи ги и оние што се наоѓаат длабоко во телесните шуплини, со оглед на тоа што единствениот радиотрејсер кај пациентот оддалечен од местото на инјектирањето се наоѓа во лимфатичниот систем. Уште една предност е неговото широко видно поле, кое дозволува брз имиџинг на лимфатичната дренажа до сите колекторни јазли, како и до неочекувани локации, а со тоа откривање на аберантна лимфна дренажа. Бидејќи трасерот се заробува во првиот/првите лимфни јазли, овие јазли се по дефиниција СЛЈ. Понекогаш единствениот јазол што може да биде радиообележан од трејсерот е единствен и вистински СЛЈ и само овој јазол ќе биде виден во одложениот имиџинг еден до два часа по инјектирањето на трејсерот. Каков радиоколоид ќе се користи во клиничката практика обично зависи од одобренијата на локалните регулатори (агенции за лекови), но најчесто користен радиоколоид во САД е филтрираниот Tc99m сулфур колоид (<200nm), во Европа Tc99m наноколоид од албумин (<80nm), а во Австралија и Канада – Tc99m антимиониум суфид колоид (10nm).

Најчесто, радиоколоидот се инјектира по ендоскопски пат, субмукозно околу туморот во различни концентрации од 1 до 5 миликири (37–185 мегабекерели), по што се прави лимфосцинтиграфија во рана и во доцна фаза за откривање на СЛЈ и евентуална аберантна лимфна дренажа. Хируршката интервенција може да се изврши истиот ден по апликацијата и направената лимфосцинтиграфија или следниот ден во рок од 24 часа од апликацијата ако таа се извршила попладне¹⁰⁴. Со употреба на интраоперативна гама-

сонда се пронаоѓа СЛЈ што е со најголема радиоактивност, по што тој се испраќа на посебна ПХ-анализа, која најчесто вклучува техники за ултрастејдинг, какви што се многубројното секцирање, употребата на имунохистохемија или високосензитивна RT-PCR.

Употребата на радиоизотопи за СЛЈ мапирање е многу помалку испитувана во клиничката практика со оглед на многу потешкиот клинички протокол за нејзино изведување, а, во исто време, лимфосцинтиграфијата е скапа и бара мултидисциплинарен пристап за изведување. Но, сепак, интуитивно се има впечаток дека иднината лежи токму во радиоизотопите, бидејќи со нивната употреба се надминуваат сите проблеми што ги носи со себе употребата на метиленското сино. Имено, за радиоизотопите не постои анатомска граница, поради што ректалниот карцином е вклучен во испитувањата, факторите од страна на пациентите, каков што е ВМІ, стануваат неважни и, можеби најважното, со употребата на радиоизотоп нема арбитрарно собирање на четири лимфни јазли како СЛЈ, туку најчесто еден лимфен јазол кој е вистински СЛЈ и е дефиниран како јазол со најголема радиоактивност во лимфниот базен.

Со оглед на тоа што употребата на радиоизотопите, како можни средства за мапирање на сентинелните лимфни јазли кај колоректалниот карцином, е многу малку испитувана во научната јавност, произлегува и **мотивот за изведување на овој докторски труд.**

2. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ

1. **Примарната цел** на овој докторски труд е да се одреди валидноста на сентинелниот лимфен јазол во однос на другите регионални лимфни јазли кај пациенти со колоректален карцином (сензитивноста, точноста, негативната предиктивна вредност и стапката на детекција), а кој е изолиран со употреба на радиоактивен колоид на Tc99m.

2. **Секундарни цели** на овој докторски труд се одредување на :
 - 2.1. Стапката на upstaging (миграција во повисок стадиум на болеста) со употреба на имунохистохемиски методи при евалуација и патохистолошка анализа на сентинелниот лимфен јазол.

 - 2.2. Стапката на аберантна лимфна дренажа со правење на целосна лимфна мапа (mapping) на регионалната лимфна мрежа.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Студијата беше дизајнирана како контролирана проспективна студија и во целост беше спроведена на Универзитетската клиника за дигестивна хирургија во период од три години (2013–2015), а во соработка со Универзитетската клиника за гастроентерохепатологија, Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина и Институтот за патологија при Медицинскиот факултет во Скопје.

3.1. ПАЦИЕНТИ

Во студијата беа вклучени сите пациенти меѓу 18 и 80-годишна возраст кои имаат ендоскопски и патохистолошки колоректален карцином докажан со биопсија, кои по соодветно советување потпишаа информирана согласност (анекс 1) за учество во истражувањето (**инклузиони критериуми**).

Од студијата беа исклучени сите пациенти (**критериуми на ексклузија**) доколку:

- на предоперативниот стејдинг на болеста кај него се откријат далечни метастази, односно сите пациенти со предоперативен IV стадиум на болеста;
- поради големината или поради локацијата на карциномот предоперативно бил третиран со неoadјувантна хеморадиотерапија;
- имаат докажана алергија на контрастни средства;
- имаат ASA IV скор;
- иако иницијално предоперативно вклучени, за време на операцијата (интраоперативно) се констатираше јасна, макроскопска инфилтрираност во гроздови на регионалните лимфни јазли со висока суспекција за метастатска

болест, доколку се констатираат метастази што предоперативно не биле откриени и доколку се пронајде карциноза на перитонеумот.

3.2. ПРЕДОПЕРАТИВНА КЛИНИЧКА ЕВАЛУАЦИЈА НА ПАЦИЕНТИТЕ

3.2.1. Анамнестички податоци:

- присуство на ризик-фактори за појава на КРК;
- симптоми на болеста;
- минати заболувања;
- фармаколошка анамнеза за алергиски реакции.

3.2.2. Физикален статус и придружни клинички манифестации

Сите пациенти беа прегледани од еден ист хирург, а за оцена на ASA-скорот имаа комплетна евалуација од страна на анестезиолог.

3.2.3. Лабораториски испитувања

Комплетен лабораториски статус со одредување на туморски маркери СЕА и СА19-9.

3.2.4. Рендгенолошки испитувања

Кај сите пациенти, покрај ендоскопијата и биопсијата, а со цел добивање на предоперативен стејдинг на болеста, кој беше важен критериум на ексклузија, се направи компјутеризирана томографија (КТ) на абдоменот и на малата карлица, рендгенграфија (РТГ) на градниот кош, а кај пациентите со ректален карцином – магнетна резонанца (МРИ) или КТ на малата карлица за локален предоперативен стејдинг и планирање на хируршката интервенција.

3.3. МЕТОДИ

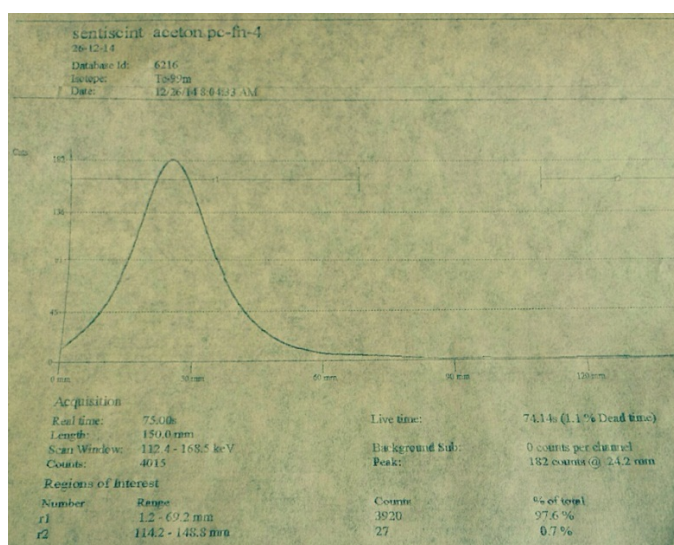
Пациентите вклучени во студијата беа хоспитализирани на Клиниката за дигестивна хирургија три дена пред оперативниот третман. Првите два дена кај пациентите со употреба на Fortrans се направи чистење на дебелото црево во состав на предоперативната подготовка за ендоскопија (целосна колоноскопија доколку не е направена иницијално) и оперативен третман.

3.3.1. ЕНДОСКОПСКА АПЛИКАЦИЈА НА РАДИОФАРМАЦЕФТСКИОТ ПРЕПАРАТ (Tc99m)

Ден пред операцијата на Клиниката за гастроентерохепатологија по ендоскопски пат се инјектира перитуморално, субмукозно, во четири точки околу туморот, радиофармацевтски препарат, хуман албумин колоид обележан со технициум 99m со големина на честичките 100-600 nm, комерцијален кит (**Sentiscint Tc99m, производител Medi-radiofarma Ltd.**) во количина од 4 мл, која одговара на 4 mCi (миликири) или 148 MBq (мегабекерели). Пред секоја апликација направена е контрола на квалитетот на радиофармацевтскиот препарат со тенкослојна хартиена хроматографија (слика 4). Ова е дијагностички трасер, гама-емитер со ниска енергија, а голем дострел, следствено без радијациско оптоварување за пациентот. Доколку претходно не била направена целосна

колоноскопија, таа да се направи за време на апликација на радиоколоидот со цел откривање синхрони карциноми на дебелото црево.

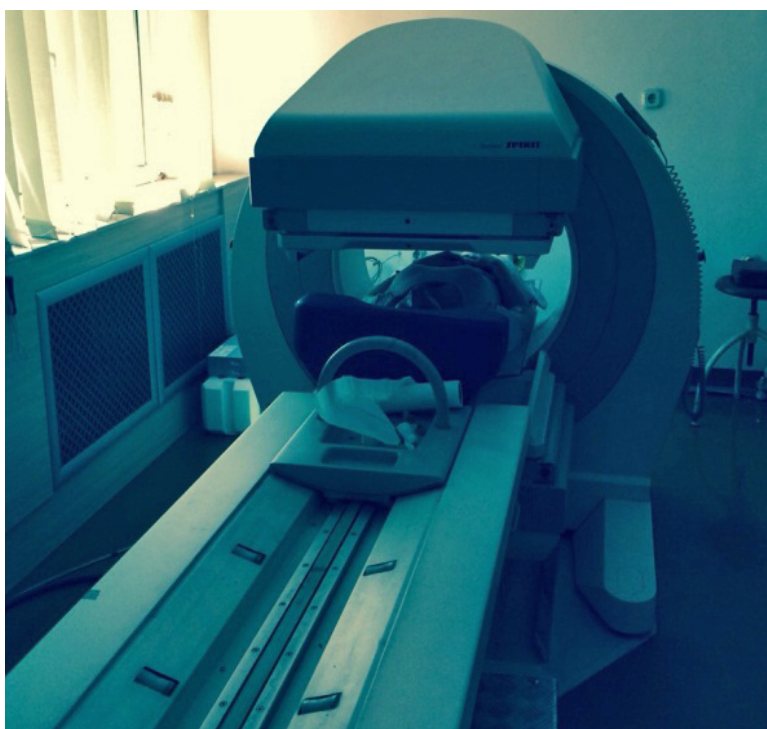
Слика 4. Хроматографска контрола на радиофармацевтскиот препарат на Tc99m



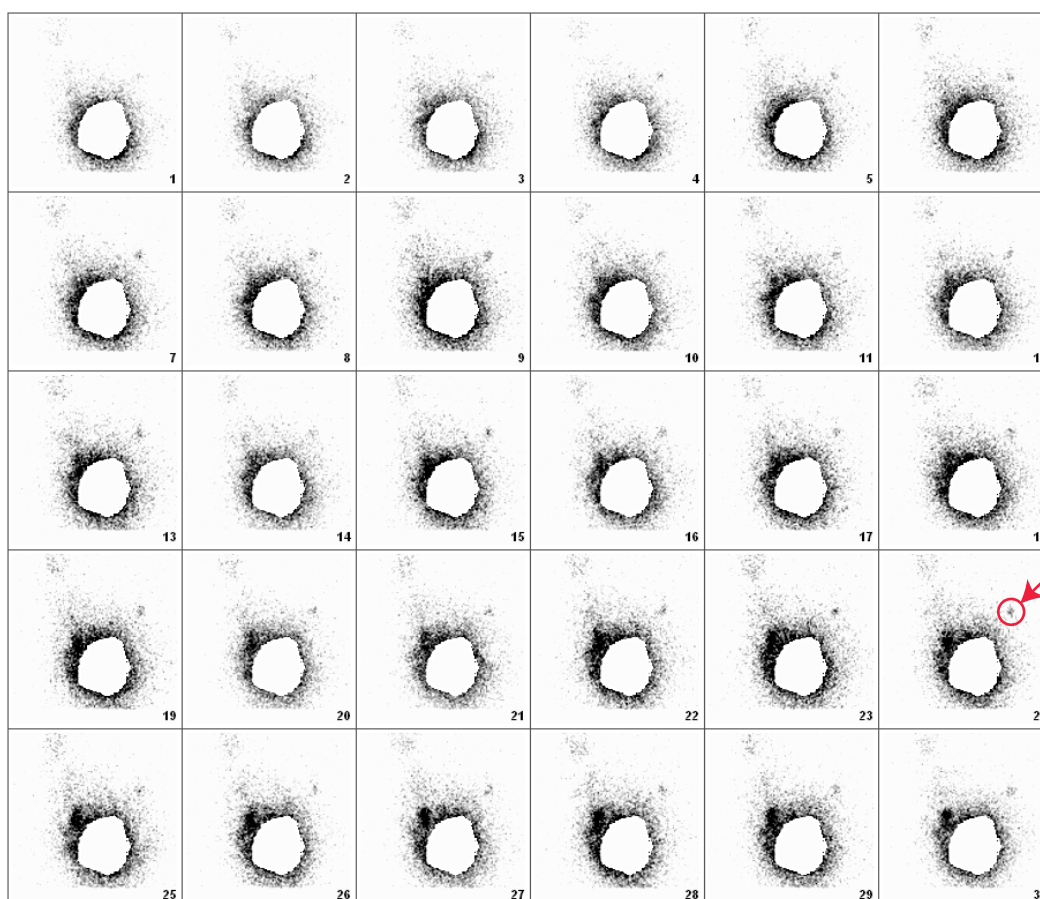
3.3.2. ЛИМФЕН МАПИНГ

Веднаш по ендоскопската апликација на радиоколоидот на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина, со помош на гама-камера (**Mediso DHV nucline spirit**, слика 5), правејќи селективна абдоминална слика, се следеше дистрибуцијата на колоидот во првите 30 минути и 1 час (рана фаза на дистрибуција) со цел да се види движењето на трасерот низ регионалниот лимфен систем до сентинелниот јазол и евентуално откривање на аберантна лимфна дренажа (слика 6). Утредента, непосредно пред операцијата на пациентот, се направи повторно снимање на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина со истата камера, која ја покажува доцната дистрибуција на контрастот (доцна фаза на дистрибуција), со што се добива комплетен лимфен мапинг на лимфната дренажа на туморот со регионот на сентинелниот лимфен јазол.

Слика 5. Гама-камера – Mediso DHV nucline spirit



Слика 6. Статичен скен со приказ на сентинелен лимфен јазол (стрелка)



3.3.3. ОПЕРАТИВЕН ТРЕТМАН

Сите пациенти се оперираа со стандардна онколошка хируршка техника, од **ист специјалист хирург**, правејќи ресекција на дел од дебелото црево што го содржи туморот со систематска лимфаденектомија по принципот на тотална мезоколична/мезоректална ексцизија. Веднаш по отстранување на препаратот истиот *ex vivo* најпрво се пресекуваше антимезентеријално или кај ректумот на предната страна и се анализираше со специфична детекторска сцинтилациска сонда (**Europrobe System, France**), со што се одредуваше радиоактивноста на лимфниот базен (слика 7). Лимфниот јазол со највисока радиоактивност се означуваше како СЕНТИНЕЛ и тој посебно се праќаше за целосна патохистолошка анализа.

Слика 7. Europrobe System, France



3.3.4. ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА

На Институтот за патологија сите лимфни жлезди прво се третираа стандардно со хематоксилин и еозин (ХЕ) по принципот на моменталните патолошки препораки. ХЕ се боења што се стандардни и рутински во текот на секоја дијагностичка постапка. Доколку во ниту еден од анализираните лимфни јазли не беа пронајдени метастатски депозити (No), тие се анализираа со имунохистохемскиот метод за откривање на микрометастази со употреба на **три антитела СК20, СЕА, ЕМА** во соодветни разредувања. Сите метастази со големина 0,2–2 милиметри претставуваа микрометастази (ММ), а оние помали од 0,2 милиметри претставуваа изолирани туморски клетки (ИТК).

За имунохистохемската анализа беше користена модифицираната техника на Avidin-Biotin Immunoperoxidase Complex, адаптирана во лабораторијата на Институтот за патологија (101), со примена на EnVision (Dako, Denmark) системот за визуализација на антитела. Оваа техника опфаќа: преттретман на ткивото во DАКО РТ Link со пуфер со рН вредност според препораките на производителот, апликација на примарно антитело, секундарно антитело обележано со биотин и дејство на Avidin-biotin peroxidase complex, со развивање на боена реакција со diaminobenzidine tetrachloride (DAB). Како негативна контрола користен е втор пресек од истото ткиво аплициран на истото стакло, кај кој е применета истата процедура на боење, но без апликација на примарното антитело. Како позитивна контрола за секое од боењата користено е ткиво препорачано од производителот и /или во литературата.

3.4. СТАТИСТИКА

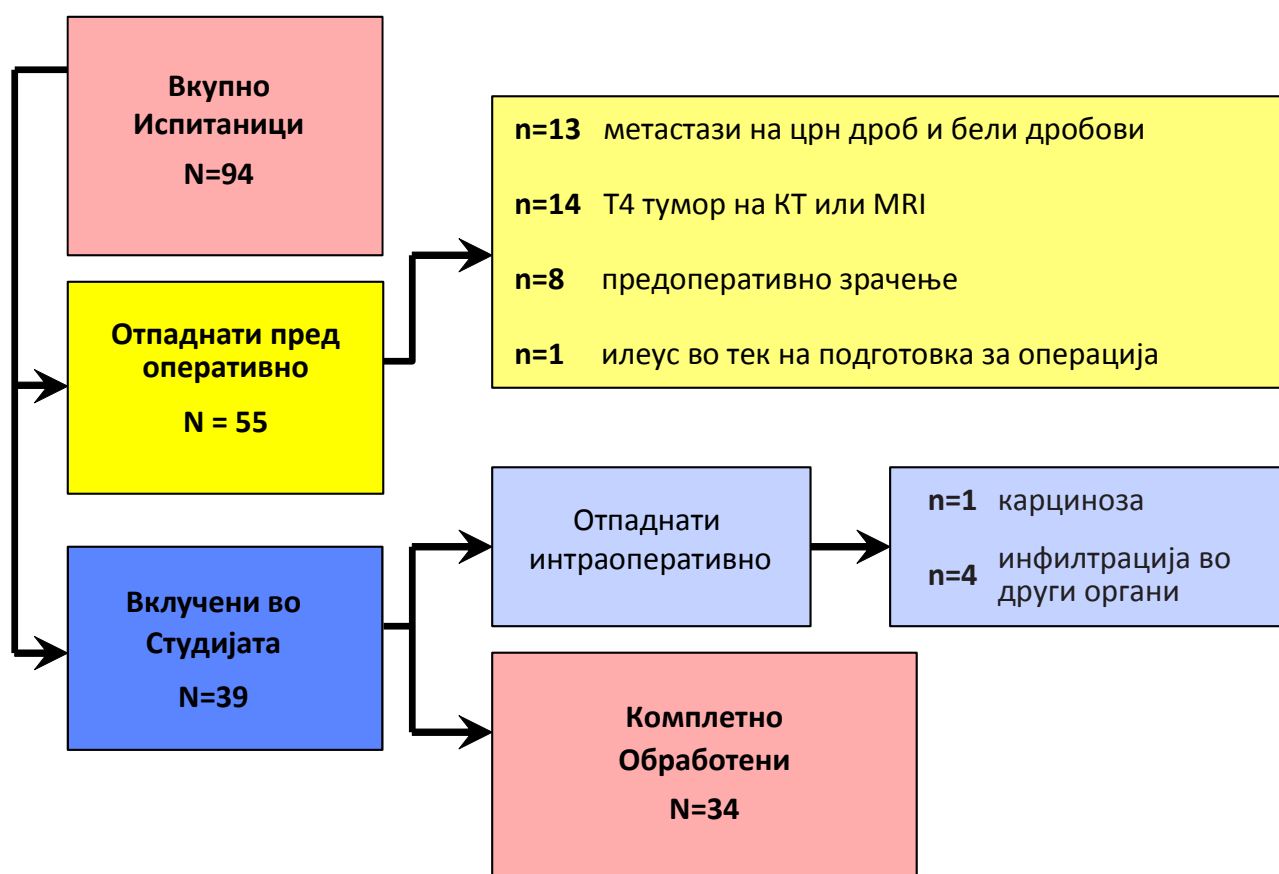
За статистичка обработка на податоците добиени во текот на истражувањето беше направена база во статистичката програма SPSS for Windows 13,0. Во текот на компјутерската анализа беа користени адекватни статистички методологии:

- апсолутна и релативна застапеност за прикажување на категориските белези, односно варијабли;
- дескриптивни методи – просек (mean), медијана (median), рангови на вредности, стандардна девијација (SD) за дескрипција на квантитативните варијабли;
- за тестирање на значајноста на разликите во одредени анализирани параметри ќе се користат параметарски и непараметарски методи од инференцијалната статистика;
- валидноста на сентинелниот лимфен јазол добиен со методот на радиоактивен колоид на Tc99m кај колоректалниот карцином се одредуваше со пресметување на сензитивноста, негативната предиктивна вредност, глобалната точност и стапката на детекција;
- валидноста на методот на боење со haematoxylin-eosin (HE) во однос на имунохистохемискиот метод во одредувањето на стејџингот на лимфните јазли се одредуваше со пресметување на стапка на миграција во повисок стадиум (Upstaging);
- за ниво на сигнификантност, односно значајност, беше земена вредноста на $p < 0,05$, а за високо сигнификантна вредноста на $p < 0,01$.

4. РЕЗУЛТАТИ

На сликата 8 е прикажан основниот дизајн на студијата и вклученоста на пациентите во неа по исполнување на инклузионите критериуми. Вкупно во периодот од 30 месеци (2013–2015 година) беа оперирани, елективно (итните пациенти со КРК не беа предмет на анализа) 94 пациенти со КРК (група КРК). Од нив само 39 пациенти ги исполнија предоперативните инклузии критериуми. Од нив интраоперативно уште пет пациенти беа исклучени од студијата поради некој од ексклузионите критериуми, кои на предоперативниот стејџинг не биле откриени. Тоа нè води до вкупната бројка од 34 пациенти што влегоа во групата на сентинелен лимфен јазол (група СЛЈ).

Слика 8. Дистрибуција на пациентите по групи



Предоперативно најголем број од пациенти беа исклучени за понатамошно испитување на СЛЈ поради докажана локална напреднатост на болеста на предоперативните КТ или МРИ снимања, вкупно 19 пациенти (14 пациенти со Т4 тумор и пет пациенти со видливи пакети лимфни жлезди). На второ место се пациентите со синхрони МС промени во црниот дроб, кои претставуваат 14% од сите пациенти со КРК (13/94). Потоа, осум пациенти беа исклучени поради предоперативна неоодајувантна терапија, и сите беа пациенти со ректален карцином. Еден пациент на предоперативната подготовка беше итно опериран поради појава на илеус. Од сите исклучени пациенти кај 14 причина беше техничката неможност да се спроведе клиничкиот протокол (немање некој од потребните материјали, неможност за ендоскопија, откажување на планираниот оперативен третман итн.).

4.1. Демографски карактеристики

Половата структура на групата со колоректален карцином е прикажана во табела 3 и ја сочинуваат 60 (63,83%) мажи и 34 (36,17%) жени, додека во групата со сентинелен лимфен јазол мажите се застапени со 23 (67,65%) испитаници, а жените со 11 (32,35%).

Статистички несигнификантна е разликата во половата дистрибуција на двете групи ($\text{Chisquare}=0,94$; $p=0,33$), односно застапеноста на мажите и жените во групата со сентинелен лимфен јазол (СЛЈ) незначајно се разликува од застапеноста во целата испитувана група (КРК) пациенти со колоректален карцином.

Табела 3. Полова дистрибуција на пациентите

ПОЛ	КРК N = 94	СЛЈ N = 34
мажи	60 (63,83%)	23 (67,65%)
жени	34 (36,17%)	11 (32,35%)
Вкупно	94 (100%)	34 (100%)
тестирани разлики	Chisquare = 0,94 df = 1 p = 0,33 ns	

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

Возраста на испитаниците во групата со СЛЈ се движи во интервал од 42 до 78 години, со просечна возраст од $64,23 \pm 9,1$ години, додека во целата испитувана група интервалот на возраста се движи од 36 до 82 години, со просечна возраст од $65,11 \pm 8,8$ години (табела 4).

Пресметаната медијална, односно средна вредност, покажува дека половина испитаници од групата со СЛЈ се помлади од 66 години, половина се постари од оваа возраст, додека меѓу 94 испитаници со колоректален карцином половина се помлади од 65 години, а половина имаат повеќе од 65 години.

Статистичката анализа потврди дека испитаниците кај кои е одреден сентинелен лимфен јазол се несигнификантно помлади од сите испитаници со колоректален карцином што учествуваа во студијата ($p=0,49$; $p=0,63$).

Табела 4. Возраст на пациентите

ГРУПА	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА – ВОЗРАСТ			
	N	mean ± S.D	median	min – max
КРК	94	65,11 ± 8,8	66,0	36–82
СЛЈ	34	64,23 ± 9,1	65,0	42–78
тестирани разлики		t - test = 0,49 p = 0,63 ns		

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

Возраста на испитаниците ја анализиравме и во три возрасни категории, односно групи: од 30 до 59 години, од 60 до 69 години и постари од 70 години.

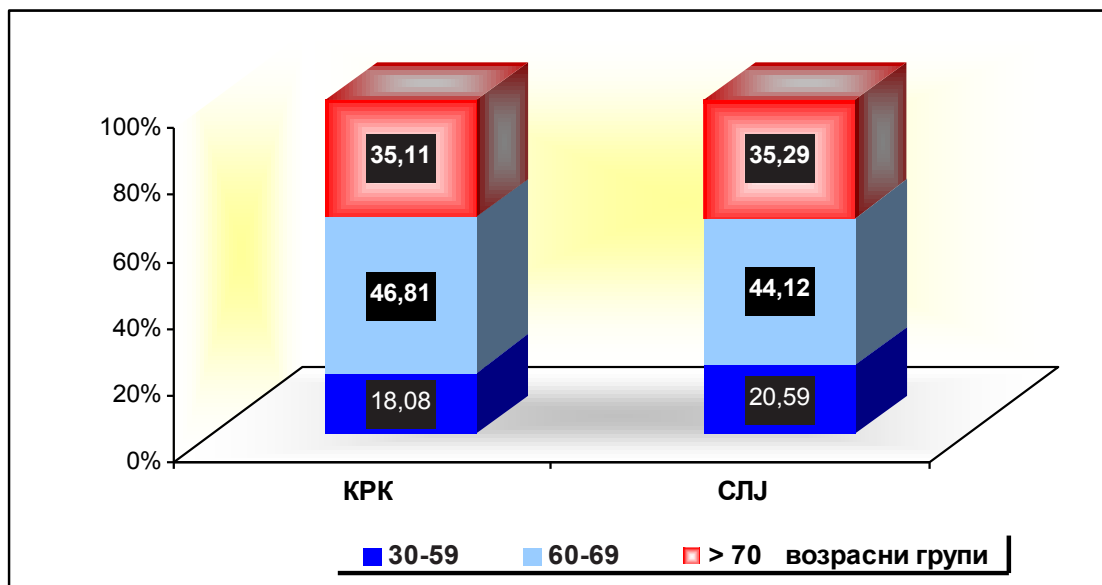
Дистрибуцијата прикажана во табелата 3 покажува дека и во целата испитувана група, и во групата со сентинелен лимфен јазол најголем дел се пациенти на возраст од 60 до 69 години (46,81% и 44,12%, консеквентно).

Тестираната разлика во дистрибуцијата на испитаниците на возраст од 30 до 59 години, од 60 до 69 години и постари од 70 години, а во зависност од нивната припадност на целата група или групата со СЛЈ, статистички е несигнификантна (Chisquare=0,12 p=0,94).

Табела 5. Дистрибуција на возраста на пациентите по групи

ВОЗРАСНИ ГРУПИ	КРК N = 94	СЛЈ N = 34
30–59 год.	17 (18,08%)	7 (20,59%)
60–69 год.	44 (46,81%)	15 (44,12%)
> 70 год.	33 (35,11%)	12 (35,29%)
Вкупно	94 (100%)	34 (100%)
тестирани разлики	Chisquare = 0,12 df = 2 p = 0,94 ns	

Слика 9. Дистрибуција на возраста на пациентите по групи



КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

4.2. Локализација на туморот на дебелото црево

Дистрибуцијата на локализацијата на туморот во целата група со колоректален карцином и во групата со сентинелен лимфен јазол покажува дека во оваа серија на пациенти со колоректален карцином најчеста локализација на туморот е на ректумот – 42 (44,68%), додека во групата со СЛЈ кај 50%, односно кај 17 испитаници, локализацијата е на левиот колон. Разликите во двете дистрибуции во однос на локализацијата на туморот статистичката анализа ги потврди како сигнификантни ($p=0,000006$ и $p=0,0026$).

Табела 6. Локализација на туморот на дебелото црево

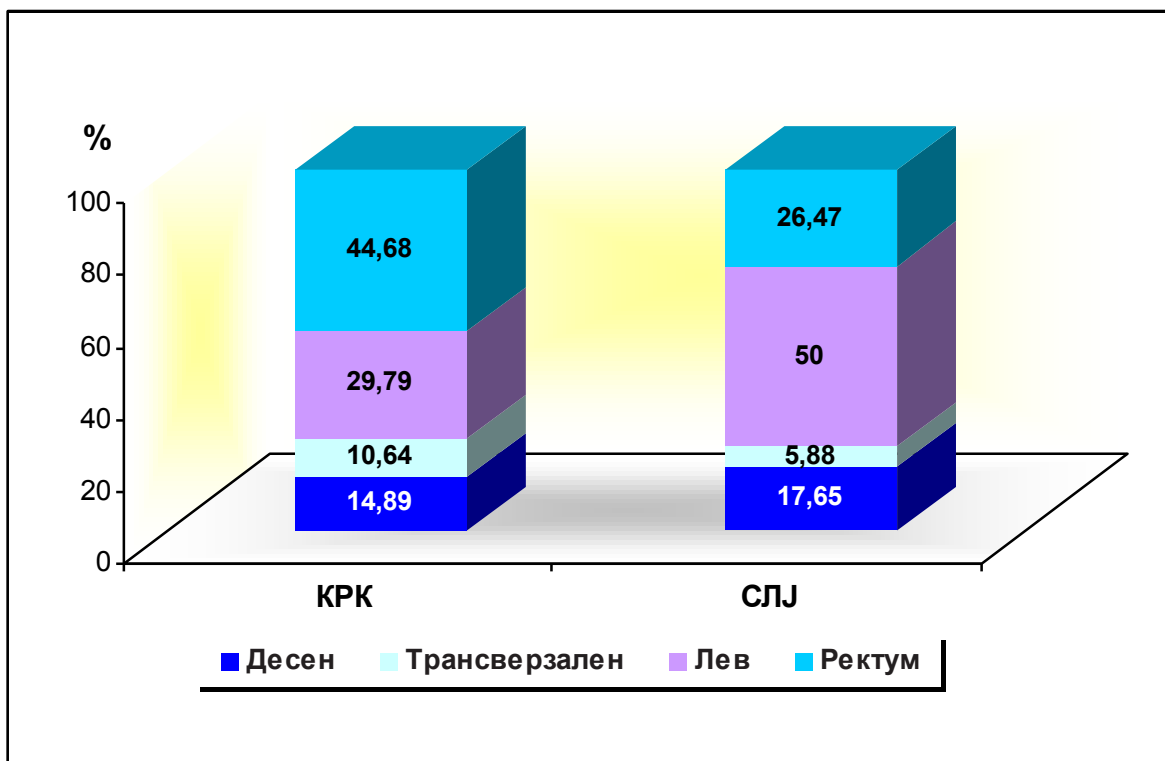
ЛОКАЛИЗАЦИЈА НА ТУМОР	КРК N = 94	СЛЈ N = 34
десен	14 (14,89%)	6 (17,65%)
трансверзален	10 (10,64%)	2 (5,88%)
лев	28 (29,79%)	17 (50%)
ректум	42 (44,68%)	9 (26,47%)
вкупно	94 (100%)	34 (100%)
тестирани разлики	Chisquare = 27,0 df = 2 $p = 0,000006^{**}$	Chisquare = 14,2 df = 2 $p = 0,0026^{**}$

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

 $^{**}p < 0,01$

Слика 10. Локализација на туморот на дебелото црево



КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

4.3. Стадиум на болеста

Во табелата 7 е прикажана дистрибуцијата на испитаниците од двете анализирани групи во однос на стадиумот во кој болеста е дијагностицирана, односно конечниот pTNM стадиум.

Табела 7. Дистрибуција на пациентите според стадиумот на болеста.

СТАДИУМ НА БОЛЕСТ	КРК N = 94	СЛЈ N= 34
I	15 (15,96%)	8 (23,53%)
IIA	20 (21,28%)	10 (29,41%)
IIB	2 (2,13%)	
IIC	1 (1,06%)	
IIIA	4 (4,25%)	1 (2,94%)
IIIB	26 (27,66%)	12 (35,29%)
IIIC	11 (11,70%)	2 (5,88%)
IIVA	8 (8,51%)	1 (2,94%)
IIVB	3 (3,19%)	
missing	4 (4,25%)	
вкупно	94	34

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

4.4. Вкупен број изолирани лимфни јазли (ЛЈ)

Вкупниот број изолирани лимфни јазли во целата испитувана група е 1376, додека во групата со сентинелен лимфен јазол изолирани се вкупно 528 лимфни јазли. Најмалиот број извадени лимфни јазли и во двете анализирани групи е пет, максималниот пак број е 34 во целата група и 29 во групата со СЛЈ. По пациент, просечно вкупно се изолирани $15,57 \pm 6,2$ лимфни јазли во целата серија на анализирани пациенти и $15,53 \pm 6,0$ во групата

со сентинелен лимфен јазол (табела 8.). Двете групи несигнификантно се разликуваат во однос на вкупниот просечен број изолирани лимфни јазли ($t=0,03$ $p=0,97$).

Табела 8. Број на изолирани лимфни јазли по групи.

ГРУПА	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА			
	ВКУПЕН БРОЈ НА ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ			
	N	mean ± S.D	median	min – max
КРК $n=88$	1376	15,57 ± 6,2	15,0	5–34
СЛЈ $n=34$	528	15,53 ± 6,0	14,5	5–29

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

$t\text{-test} = 0,03$ $p = 0,97$ ns

Во табелата 9 прикажана е дистрибуцијата на вкупниот број изолирани лимфни јазли кај сите испитаници со колоректален карцином, како и само кај пациентите кај кои е одредуван сентинелен лимфен јазол. Анализата на прикажаната дистрибуција покажува дека 12 лимфни јазли е најчестиот број изолирани лимфни јазли и во двете групи испитаници – 14 (15,91%) и 6 (17,65%), консеквентно. Тестираната разлика во дистрибуцијата на вкупниот број изолирани лимфни јазли меѓу двете групи статистички е несигнификантна ($Z=0,08$ $p=0,94$).

Табела 9. Вкупен број изолирани лимфни јазли по пациент.

ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ	КРК	СЛЈ
5	6 (6,82%)	1 (2,94%)
6	2 (2,27%)	1 (2,94%)
8	2 (2,27%)	2 (5,88%)
9	3 (3,41%)	1 (2,94%)
10	4 (4,55%)	1 (2,94%)
11	3 (3,41%)	2 (5,88%)
12	14 (15,91%)	6 (17,65%)
13	4 (4,55%)	1 (2,94%)
14	4 (4,55%)	2 (5,88%)
15	4 (4,55%)	3 (8,82%)
16	7 (7,95%)	0
17	3 (3,41%)	1 (2,94%)
18	4 (4,55%)	3 (8,82%)
19	3 (3,41%)	0
20	7 (7,95%)	3 (8,82%)
21	3 (3,41%)	1 (2,94%)
22	3 (3,41%)	1 (2,94%)
23	1 (1,14%)	1 (2,94%)
24	2 (2,27%)	0
25	3 (3,41%)	2 (5,88%)
26	2 (2,27%)	1 (2,94%)
27	2 (2,27%)	0
29	1 (1,14%)	1 (2,94%)
34	1 (1,14%)	0
вкупно	88 (100%)	34 (100%)
тестирани разлики Mann-Whitney U = 1482,5 Z = 0,08 p = 0,94 ns		

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

4.5. Зависност на бројот на ЛЈ од локализацијата на туморот на дебелото црево лев/десен колон.

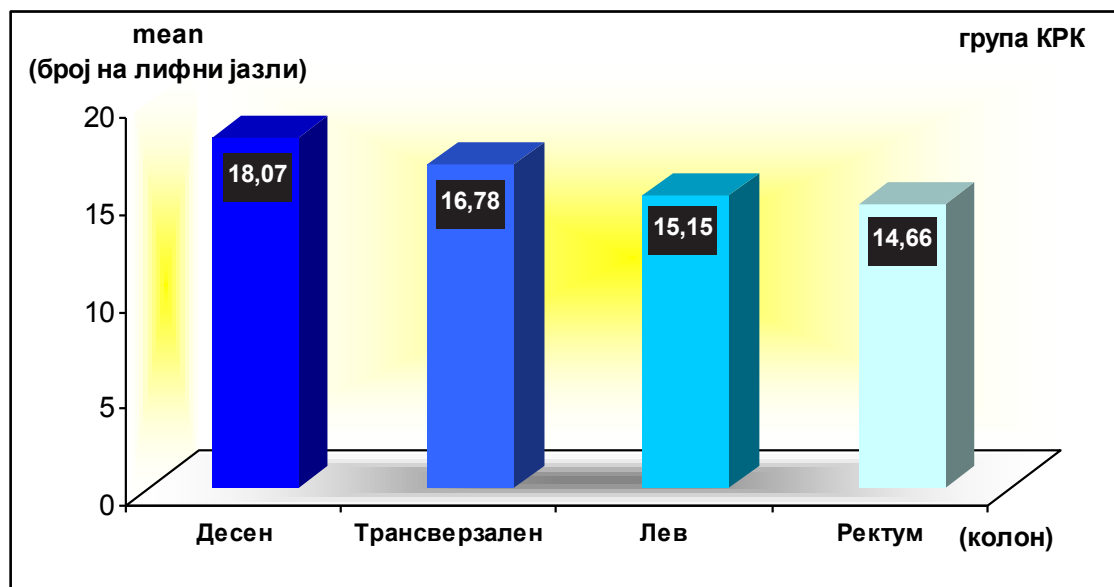
Статистичката анализа ја потврди како сигнификантна разликата во просечниот вкупен број изолирани лимфни јазли, а во зависност од локализацијата на туморот во целата група испитаници ($F=5,3$; $p=0,043$). Оваа разлика се должи на значајно поголем просечен број извадени лимфни јазли при локализација на туморот во десниот колон во однос на ректална локализација ($18,07 \pm 7,1$ vs $14,66 \pm 5,7$ $p=0,046$).

Табела 10. Зависност на бројот на лимфни јазли од локализацијата на туморот, група КРК.

ЛОКАЛИЗАЦИЈА КРК	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА		
	ВКУПЕН БРОЈ НА ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean \pm S.D	min - max
десен	14	18,07 \pm 7,1	9–29
трансверзален	9	16,78 \pm 8,03	10–34
лев	27	15,15 \pm 5,8	5–25
ректум	38	14,66 \pm 5,7	5–27
тестирани разлики 0,043*	Analysis of Variance $F = 5,3$ $p =$		
post hoc	десен vs ректум $p = 0,046^*$		

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ * $P < 0,05$

Слика 11. Зависност на бројот на лимфни јазли од локализацијата на туморот



КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

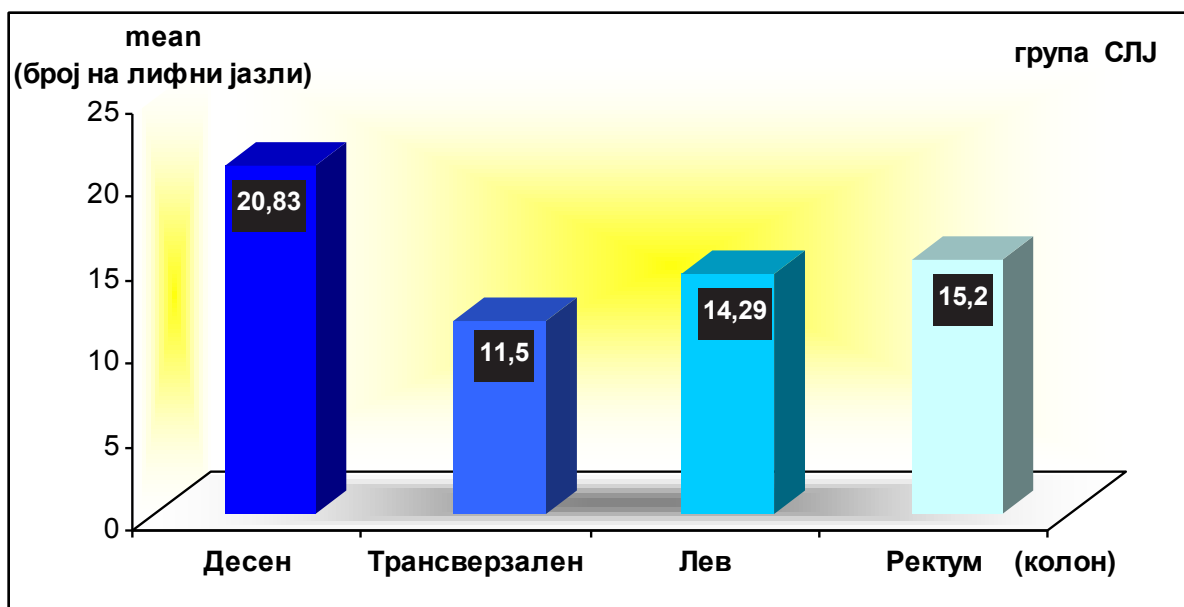
Статистички сигнификантна разлика постои и во групата испитаници со сентинелен лимфен јазол, а во однос на локализацијата на туморот и просечниот вкупен број извадени лимфни јазли ($F=7,3$; $p=0,036$). Статистичката анализа оваа разлика ја базира на значајно поголем просечен вкупен број изолирани лимфни јазли кај локализација на туморот на десниот колон во однос на левиот колон ($20,83 \pm 7,7$ vs $14,29 \pm 5,9$ $p=0,02$).

Табела 11. Зависност на бројот на лимфни јазли од локализацијата на туморот, група СЛЈ

ЛОКАЛИЗАЦИЈА СЛЈ	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА		
	ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean ± S.D	min - max
десен	6	20,83 ± 7,7	9–29
трансверзален	2	11,50 ± 0,71	11–12
лев	17	14,29 ± 5,9	5–25
ректум	9	15,2 ± 3,6	10–21
тестирани разлики post hoc	Analysis of Variance F = 7,3 p = 0,036* десен vs лев p = 0,02*		

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ *P<0,05

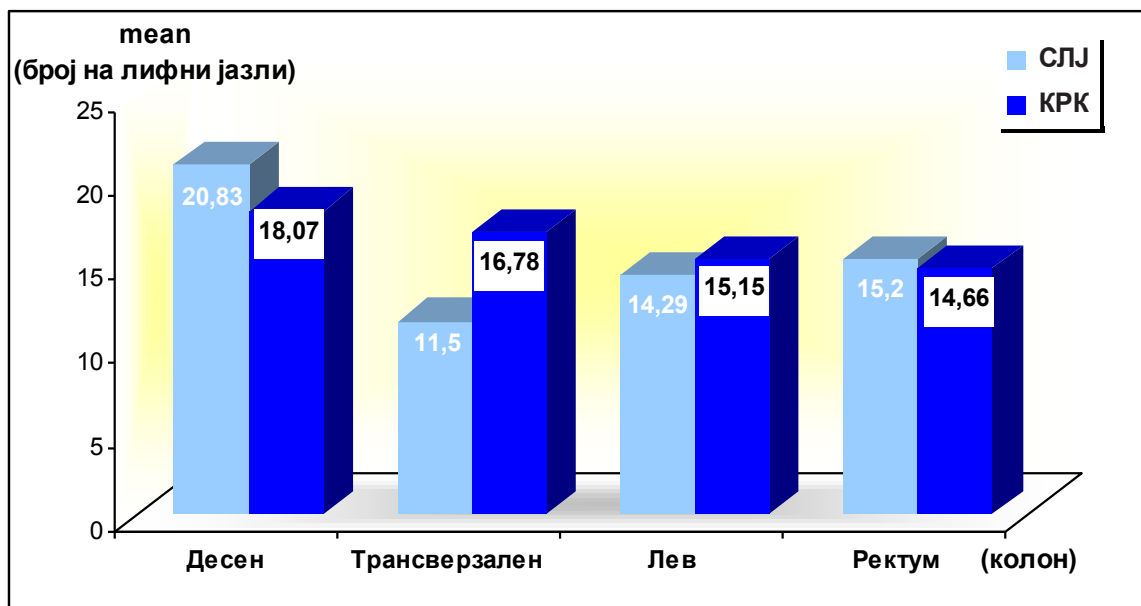
Слика 12. Зависност на бројот на лимфни јазли од локализацијата на туморот, група СЛЈ



СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

Компаративната анализа на вкупниот просечен број извадени лимфни јазли меѓу двете групи кај различни локализации на туморот е прикажана на сликата 13. Во групата во која се вклучени сите пациенти со КРК се регистрира несигнификантно помал вкупен просечен број изолирани лимфни јазли во споредба со групата со СЛЈ при локализација на туморот на десниот колон ($p = 0,223$) и на ректумот ($p = 0,79$), а несигнификантно поголем при локализација на туморот на трансверзалниот колон ($p = 0,537$) и на левиот колон ($p = 0,637$).

Слика 13. Компаративната анализа на вкупниот просечен број извадени лимфни јазли меѓу двете групи кај различни локализации на туморот



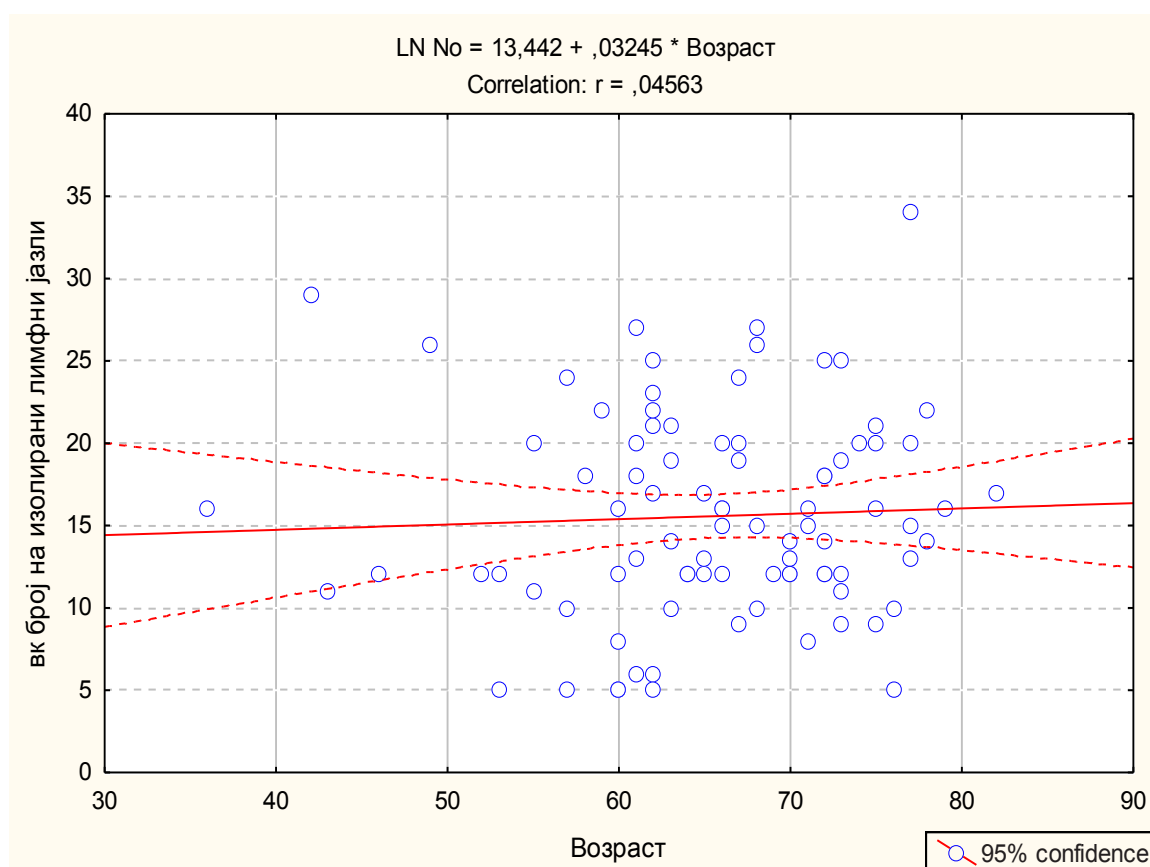
КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

4.6. Зависност на бројот на лимфни јазли од возраста.

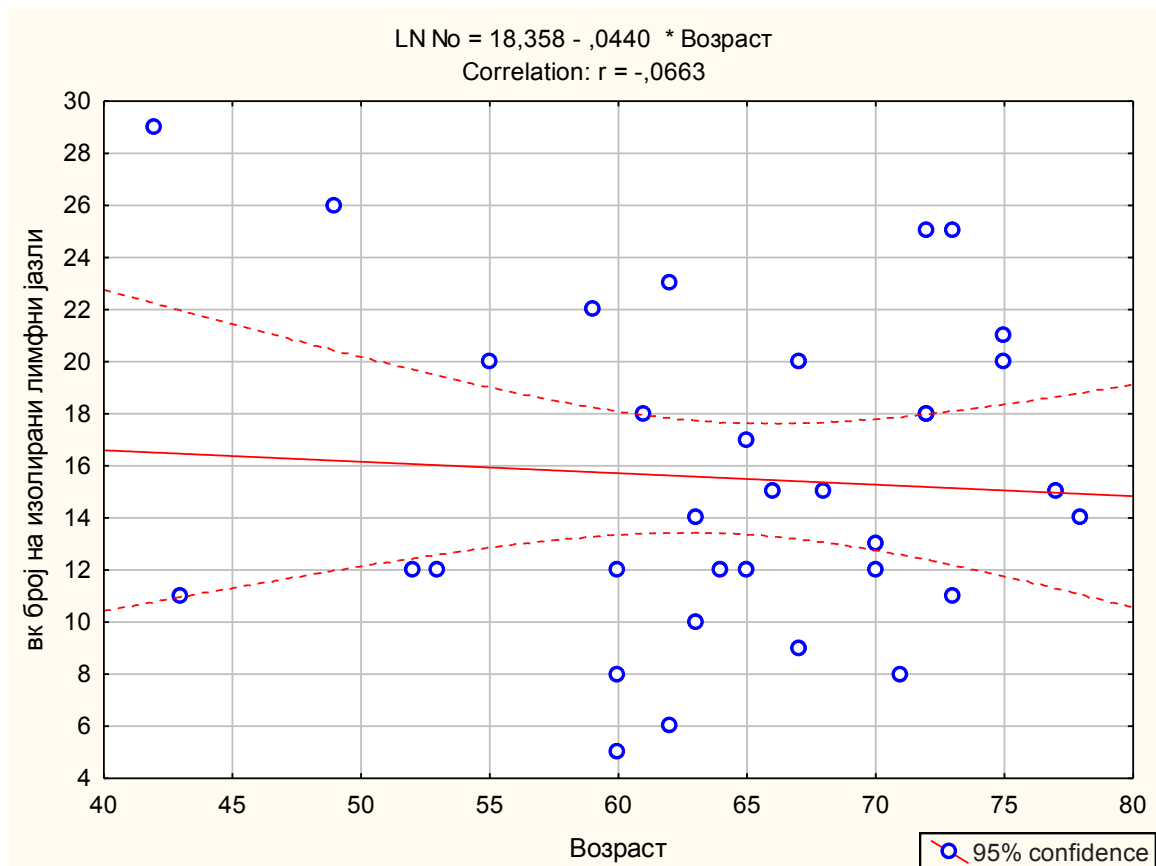
Во ова истражување ја анализиравме корелацијата меѓу возраста на испитаниците и вкупниот број извадени лимфни јазли. Вредноста на Pearson-овиот коефициент на линеарна корелација и вредноста на p и во двете групи ($r = 0,0456$ $p=0,67$ и $r = -0,066$ $p=0,71$) презентираат постоење несигнификантна корелација, односно поврзаност меѓу возраста и вкупниот број извадени лимфни јазли (слика 14 и слика 15).

Слика 14. Корелацијата меѓу возраста на испитаниците и вкупниот број извадени лимфни јазли



Pearson $r = 0,0456$ $p=0,67$ ns

Слика 15. Корелацијата меѓу возраста на испитаниците и вкупниот број извадени лимфни јазли



Pearson r = -0,066 p=0,71 ns

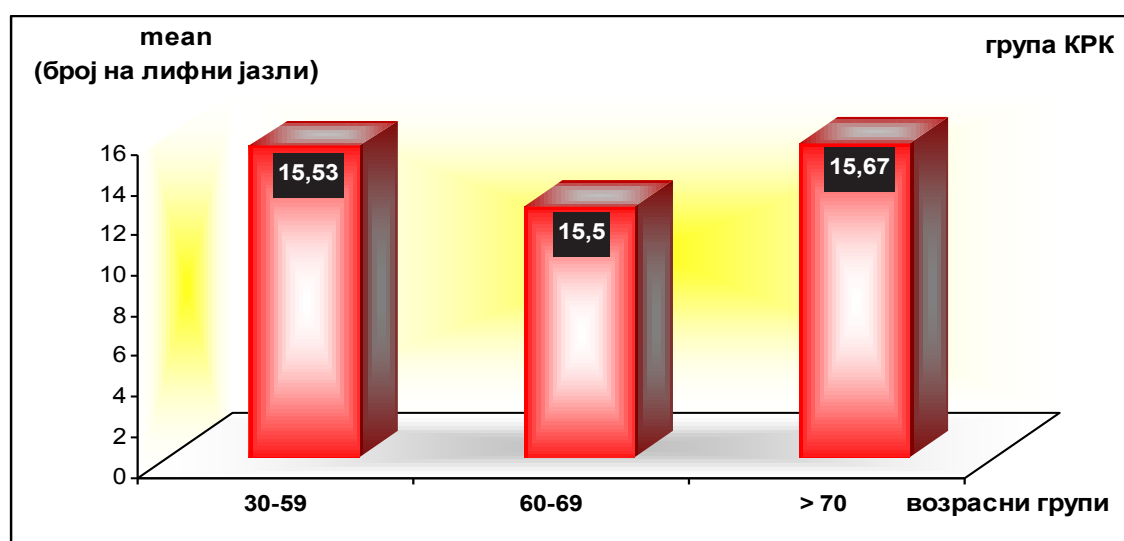
Вкупниот просечен број изолирани лимфни јазли во возрастната група од 30 до 59 години изнесува $15,53 \pm 7,4$, во возрастната група од 60 до 69 години е $15,50 \pm 6,3$, и во возрастната група над 70 години е $15,67 \pm 5,8$. И статистички се потврдува дека вкупниот просечен број извадени лимфни јазли кај испитаниците со колоректален карцином не зависи значајно од нивната возраст ($F=0,006$; $p=0,99$).

Табела 12. Зависност меѓу возраста на испитаниците и вкупниот број извадени лимфни јазли, група КРК

ВОЗРАСНИ ГРУПИ КРК N=88	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА		
	ВКУПЕН БРОЈ НА ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean \pm S.D	min – max
30–59 год.	15	15,53 \pm 7,4	5–29
60–69 год.	40	15,50 \pm 6,3	5–27
>70 год.	33	15,67 \pm 5,8	5–34
тестирани разлики		Analysis of Variance F = 0,006 p = 0,99 ns	

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

Слика 16. Зависност меѓу возраста на испитаниците и вкупниот број извадени лимфни јазли, група КРК



КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

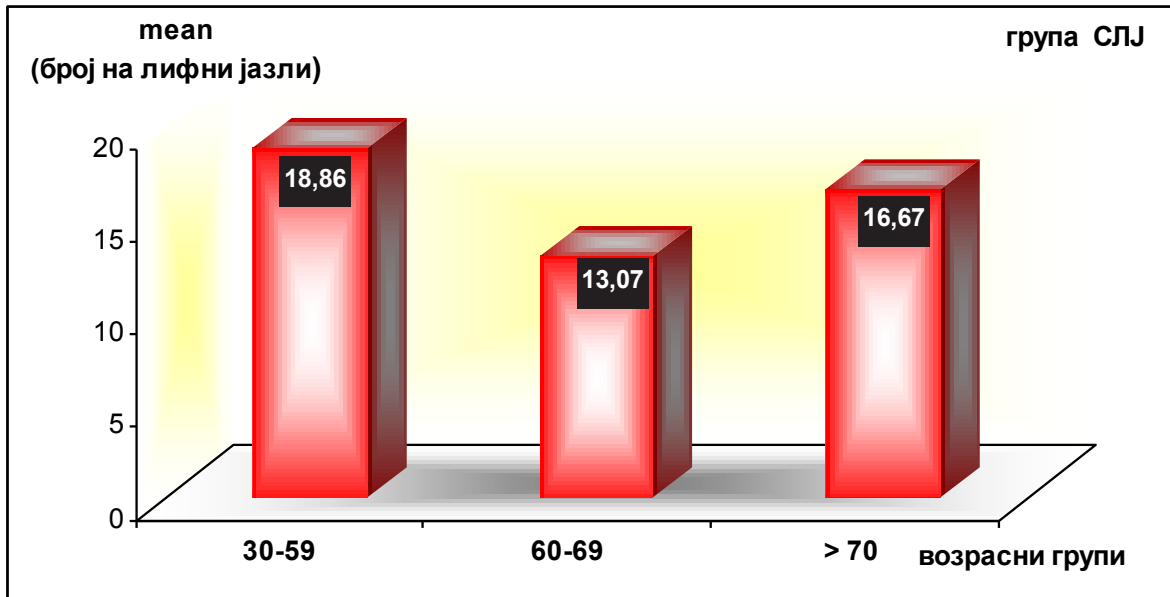
Резултатите од истражувањето покажаа дека возраста на испитаниците од групата со сентенелен лимфен јазол сигнификантно влијае на вкупниот просечен број извадени лимфни јазли ($F = 5,82$; $p = 0,047$). Најголем е вкупниот просечен број извадени лимфни јазли во најмладата возрасна група од 30 до 59 години од $18,86 \pm 7,3$, а најмал во возрасната група од 60 до 69 години, и изнесува $13,07 \pm 5,1$. Оваа разлика е и статистички сигнификантна, односно значајна ($p = 0,034$). Во групата испитаници со сентенелен лимфен јазол постари од 70 години вкупниот просечен број лимфни јазли е $16,67 \pm 5,4$.

Табела 13. Зависност меѓу возраста на испитаниците и вкупниот број извадени лимфни јазли, група СЛЈ

ВОЗРАСНИ ГРУПИ СЛЈ N=34	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean \pm S.D	min – max
30–59 год.	7	18,86 \pm 7,3	11–29
60–69 год.	15	13,07 \pm 5,1	5–23
>70 год.	12	16,67 \pm 5,4	8–25
тестирани разлики	Analysis of Variance $F = 5,82$ $p = 0,047^*$		
post hoc	30 – 59 vs 60–69 $p=0,034^*$		

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

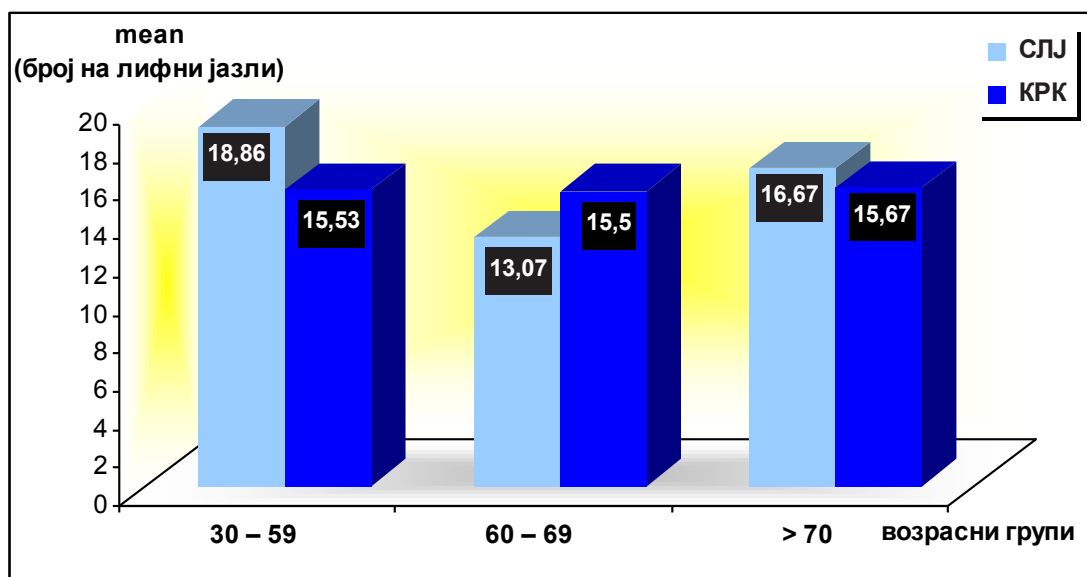
Слика 17. Зависност меѓу возраста на испитаниците и вкупниот број извадени лимфни јазли, група СЛЈ



СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

Компаративната анализа на вкупниот просечен број извадени лимфни јазли меѓу двете групи испитаници, а во зависност од нивната возраст, е прикажана на сликата 18. Во најмладата возрасна група од 30 до 59 години вкупниот просечен број изолирани лимфни јазли е несигнификантно поголем во групата со СЛЈ ($p = 0,335$); во возрасната група од 60 до 69 години испитаниците од групата со КРК имаат несигнификантно поголем вкупен просечен број изолирани лимфни јазли во споредба со групата со СЛЈ ($p = 0,19$), додека во најстарата возрасна група пациенти вкупниот просечен број изолирани лимфни јазли е несигнификантно поголем во групата со СЛЈ ($p = 0,6$).

Слика 18. Компаративна анализа меѓу двете групи испитаници во зависност од нивната возраст



КРК- КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

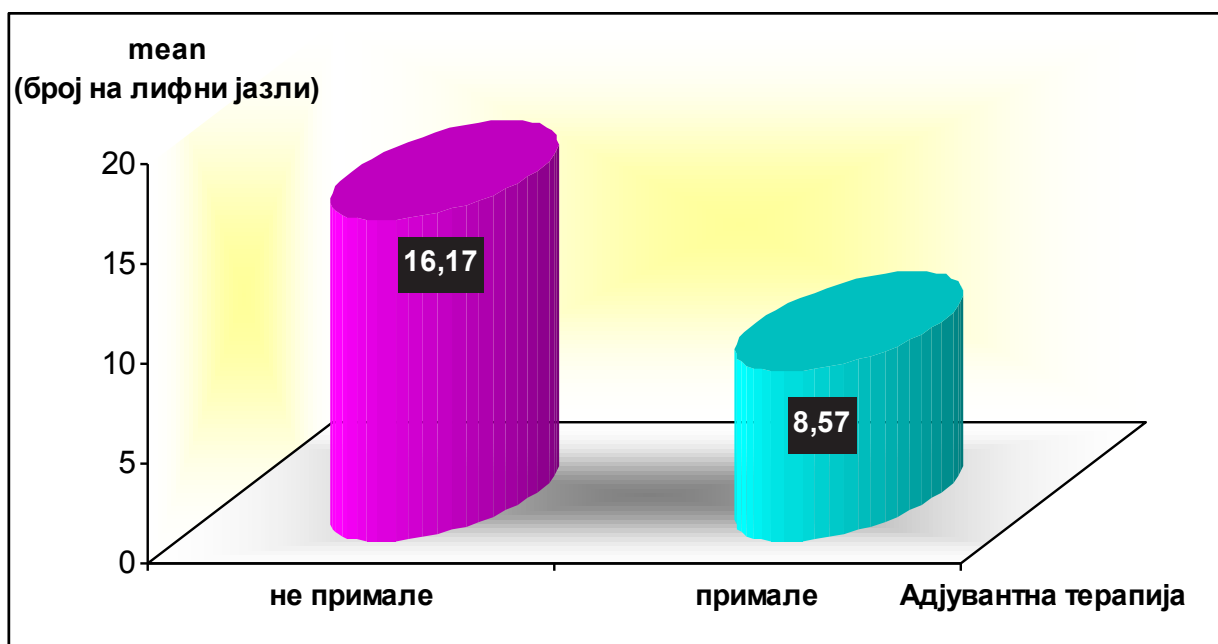
4.7. Зависност на бројот на лимфни јазли од неoadјуватна терапија

Вкупниот просечен број изолирани лимфни јазли во групата испитаници што не биле ставени на адјуватна терапија, односно што не биле зрачени, изнесува $16,17 \pm 5,9$, додека во групата од осум испитаници што примале неoadјуватна терапија вкупниот просечен број изнесува $8,57 \pm 4,6$. Разликата меѓу двете просечни вредности од 7,6 статистички е сигнификантна за $p < 0,01$. Вкупниот просечен број извадени лимфни јазли значајно е поголем кај пациентите со ректален карцином што не биле на терапија со зрачење.

Табела 14. Зависност на бројот на лимфни јазли од неoadјувантна терапија

АДЈУВАНТНА ТЕРАПИЈА	ВКУПЕН БРОЈ НА ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean \pm S.D	min – max
не примале	81	16,17 \pm 5,9	5–34
Примале	8	8,57 \pm 4,6	5–16
тестирани разлики		t-test = 3,27 p = 0,0016**	

Слика 19. Зависност на бројот на лимфни јазли од неoadјувантна терапија



4.8. Зависност на бројот на лимфни јазли од големината на туморот Т, нодалниот статус N и pTNM стадиумот на болеста.

Во табелата 15 прикажан е вкупниот просечен број извадени лимфни јазли, како и најмалиот и најголемиот вкупен број извадени лимфни јазли во групата од сите испитаници со КРК, а во зависност од големината на туморот, односно Т стадиумот.

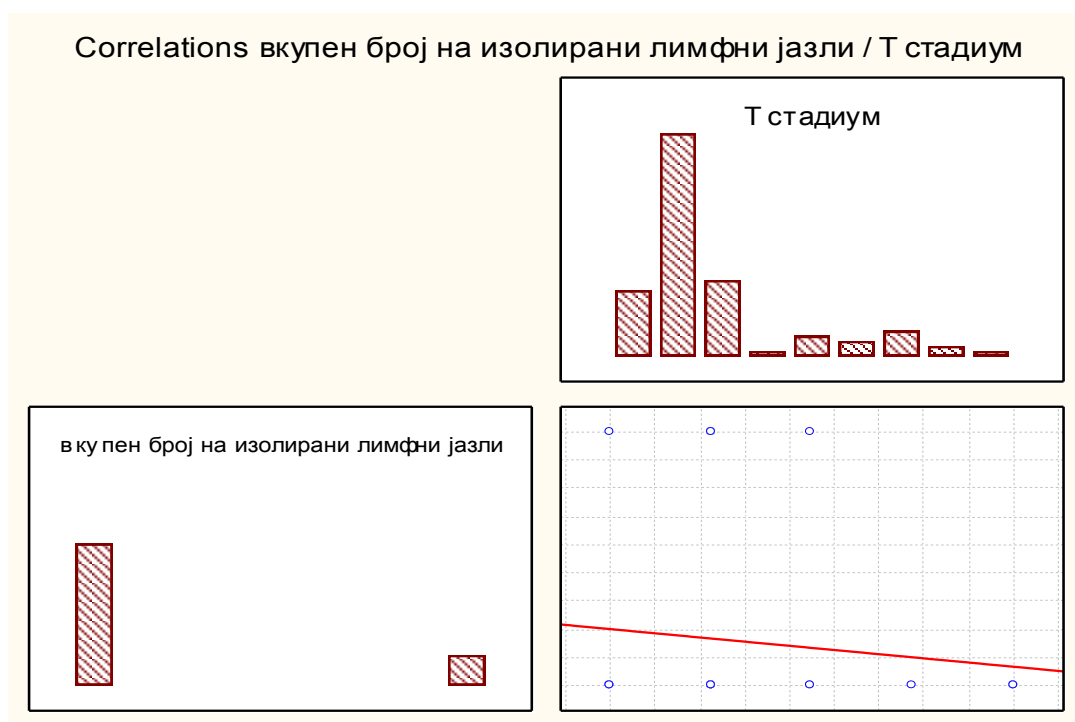
Табела 15. Зависност на бројот на лимфни јазли од големината на туморот, група КРК

Т СТАДИУМ КРК	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean ± S.D	min – max
T0	2	8,5 ± 4,95	5–12
T1	4	8,75 ± 2,9	5–12
T2	13	13,08 ± 6,9	5–24
T3	44	16,50 ± 6,1	6–34
T3a	1	10,0 ± 0	10–10
T3b	1	20,0 ± 0	20–20
T4	3	14,67 ± 2,3	12–16
T4a	15	18,60 ± 5,04	10–26
T4b	5	13,80 ± 7,1	5–22

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

Испитуваната корелација меѓу вкупниот број изолирани лимфни јазли и големината на туморот во групата со сите 94 испитаници со КРК е прикажана на сликата 20. Вредноста на Spearman-овиот коефициент на ранг-корелација од $R = -0,027$ покажува дека меѓу овие два параметра постои негативна поврзаност, односно дека со зголемување на T стадиумот на туморот се намалува вкупниот број изолирани лимфни јазли и - обратно. Но, интензитетот на оваа поврзаност е занемарлив и статистички оваа корелација е несигнификантна, односно незначајна ($p > 0,05$).

Слика 20. Корелација меѓу вкупниот број изолирани лимфни јазли и големината на туморот, група КРК



Spearman $R = -0,027$ $p > 0,05$

Во табелата 16 прикажана е дескриптивната анализа на вкупниот број извадени лимфни јазли во групата со СЛЈ преку пресметување просечен вкупен број, минимален и максимален вкупен број извадени лимфни јазли, а во зависност од големината на туморот, односно Т стадиумот.

Табела 16. Зависност на бројот на лимфни јазли од големината на туморот, група СЛЈ

Т СТАДИУМ СЛЈ	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean ± S.D	min – max
T1	3	8,67 ± 3,5	5–12
T2	6	16,0 ± 5,4	8–23
T3	22	15,45 ± 5,7	6–29
T4a	3	22,0 ± 6,1	15–26

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

Анализата на вкупниот просечен број извадени лимфни јазли, најмалиот и најголемиот број извадени лимфни јазли кај сите испитаници со КРК, а со различен N стадиум на болеста, е презентирана во табелата 17.

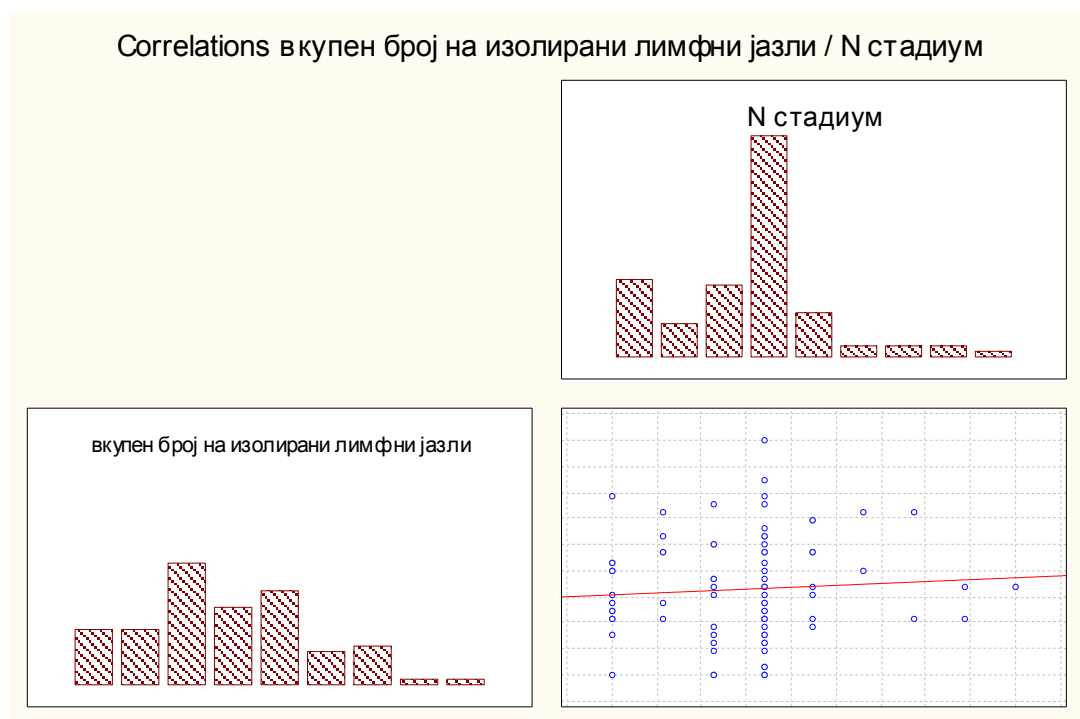
Табела 17. Зависност на бројот на лимфни јазли од N стадиумот кај групата КРК.

N СТАДИУМ КРК	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean \pm S.D	min – max
NX	1	16,0 \pm 0	
N0	42	15,23 \pm 6,9	5–34
N1	13	13,92 \pm 6,5	5–26
N1a	6	18,83 \pm 4,9	12–25
N1b	2	21,50 \pm 4,9	18–25
N2	2	14,0 \pm 2,8	12–16
N2a	14	14,78 \pm 5,2	5–27
N2b	8	17,75 \pm 5,03	11–24

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

Во групата испитаници со КРК вкупниот број извадени лимфни јазли е поголем кај испитаниците со понапреднат N стадиум и – обратно, кај испитаниците со понизок N стадиум бројот на извадени лимфни јазли е помал. Оваа корелација (слика 21), т.е. поврзаност, не се потврди и статистички како сигнификантна, односно значајна ($R = 0,08$; $p > 0,05$).

Слика 21. Зависност на бројот на лимфни јазли од N стадиумот, група КРК



Spearman $R = 0,08$ $p > 0,05$

Дескриптивната анализа на вкупниот број извадени лимфни јазли во групата испитаници со СЛЈ, а во зависност од N стадиумот на болеста, презентирана е во табелата 18.

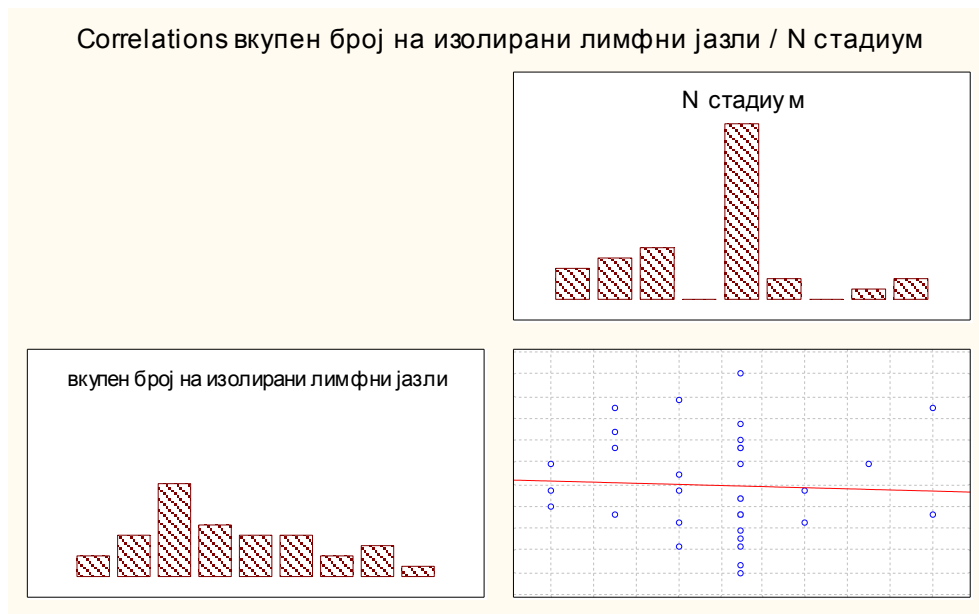
Табела 18. Зависност на бројот на лимфни јазли од N стадиумот кај група СЛЈ

N СТАДИУМ СЛЈ	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean ± S.D	min – max
N0	19	14,84 ± 6,6	5–29
N1	5	15,40 ± 6,9	8–26
N1a	4	19,75 ± 5,6	12 – 25
N1b	1	18,0 ± 0	18–18
N2a	3	15,33 ± 2,5	13–18
N2b	2	13,0 ± 2,8	11–15

–
СЛЈ СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

Вредноста на Spearman-овиот коефициент на ранг-корелација од $R = -0,13$ и $p > 0,05$, за испитуваната поврзаност на вкупниот број извадени лимфни јазли и N стадиумот на болеста во групата испитаници со СЛЈ укажува на постоење на незначителна поврзаност од негативен, односно индиректен тип, и е прикажана на сликата 22.

Слика 22. Зависност на бројот на лимфни јазли од N стадиумот, група СЛЈ



Spearman R = -0,13; p<0,05

Дескриптивната анализа на вкупниот број изолирани лимфни јазли во групата испитаници со КРК ја прикажавме и во зависност од pTNM стадиумот на болеста. Во табелата 19 се дадени просечните вредности, минималните и максимални вредности на вкупниот број изолирани лимфни јазли кај испитаниците од оваа група, со различен стејдинг на туморот во моментот на негово дијагностицирање.

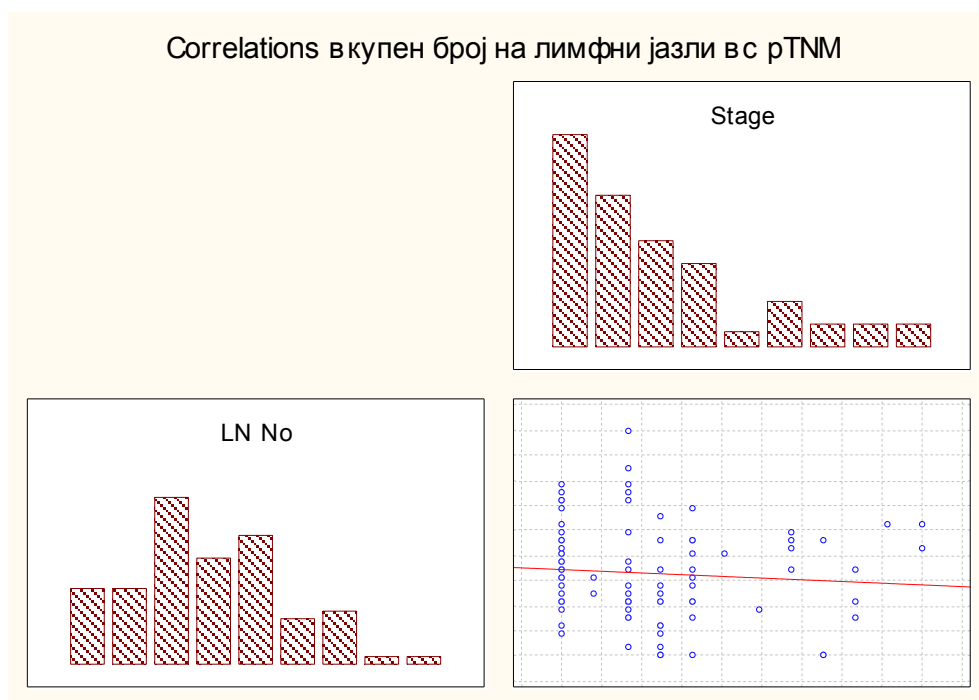
Табела 19. Зависност на бројот на лимфни јазли од pTNM-стадиумот, група КРК

TNM СТАДИУМ КРК	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean ± S.D	min – max
I	15	11,67± 5,7	5–23
IIA	20	16,55± 7,7	6–34
IIB	2	20,50 ±2,1	19–22
IIC	1	22,0 ± 0	
IIIA	4	10,25±7,1	5–20
IIIB	26	17,38± 5,3	8–27
IIIC	11	15,09± 5,3	5–24
IVA	6	17,33±3,1	13–21
IVB	3	12,67 ± 3,1	10–16

КРК – КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

Испитуваната корелација меѓу вкупниот број изолирани лимфни јазли и стејдингот на туморот во групата со сите 94 испитаници со КРК прикажана е на сликата 23. Вредноста на Spearman-овиот коефициент на ранг-корелација од $R = -0,24$ покажува дека меѓу овие два параметра постои негативна поврзаност, односно дека кај испитаниците со понапреднат стадиум на тумор вкупниот број изолирани лимфни јазли е помал и – обратното. Силината на оваа корелација е од лесен степен и без статистичка сигнификантност ($p > 0,05$).

Слика 23. Зависност на бројот на лимфни јазли од pTNM-стадиумот, група КРК



SpearmanR = - 0,14; p>0,05

Во табелата 20 прикажани се просечните вредности, минималните и максимални вредности на вкупниот број изолирани лимфни јазли во групата испитаници со СЛЈ, а во зависност од стејџингот на туморот во моментот на негово дијагностицирање.

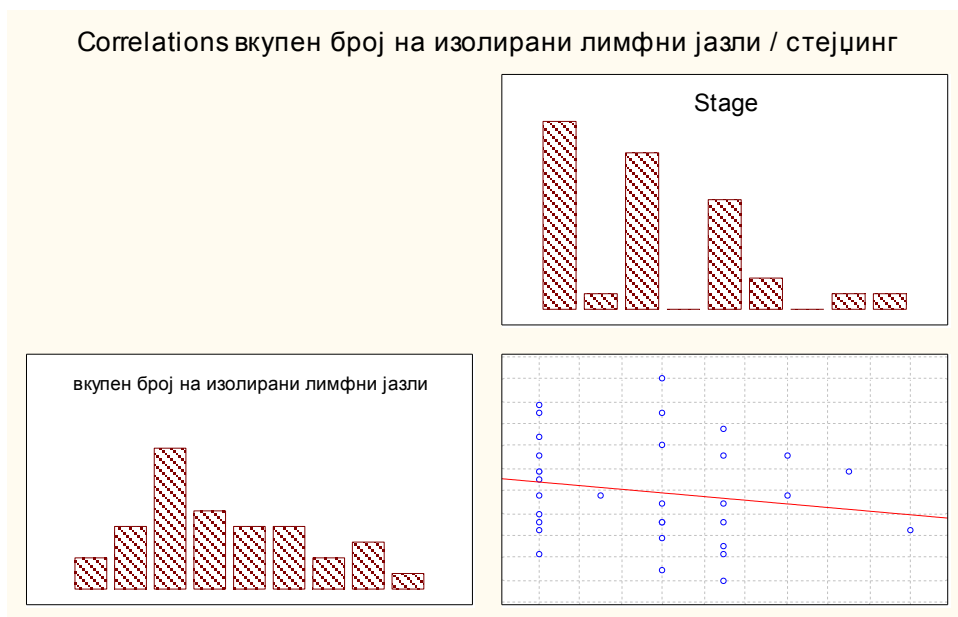
Табела 20. Зависност на бројот на лимфни јазли од pTNM-стадиумот, група СЛЈ

TNM СТАДИУМ СЛЈ	ДЕСКРИПТИВНА АНАЛИЗА ВКУПЕН БРОЈ ИЗОЛИРАНИ ЛИФНИ ЈАЗЛИ		
	N	mean ± S.D	min – max
I	8	13,62 ± 6,3	5–23
IIA	10	15,30± 7,3	6–29
IIIA	1	11,0 ± 0	
IIIB	12	17,08± 5,6	8–26
IIIC	2	17,50±3,5	15–20
IIIA	1	15,0 ± 0	

СЛЈ – СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ

Вкупниот број изолирани лимфни јазли и стејџингот на туморот, во групата испитаници со СЛЈ, меѓу себе корелираат индиректно, што значи имаат спротивен правец на промени ($R = -0,29$), што е прикажано на сликата 24. Со напредување на стејџингот на туморот се намалува бројот на извадени лимфни јазли и – обратно. За $p < 0,05$ и статистички оваа корелација се потврдува како сигнификантна, односно значајна.

Слика 24. Зависност на бројот на лимфни јазли од рTNM-стадиумот, група СЛЈ



Spearman $r = -0,29$; $p < 0,05$

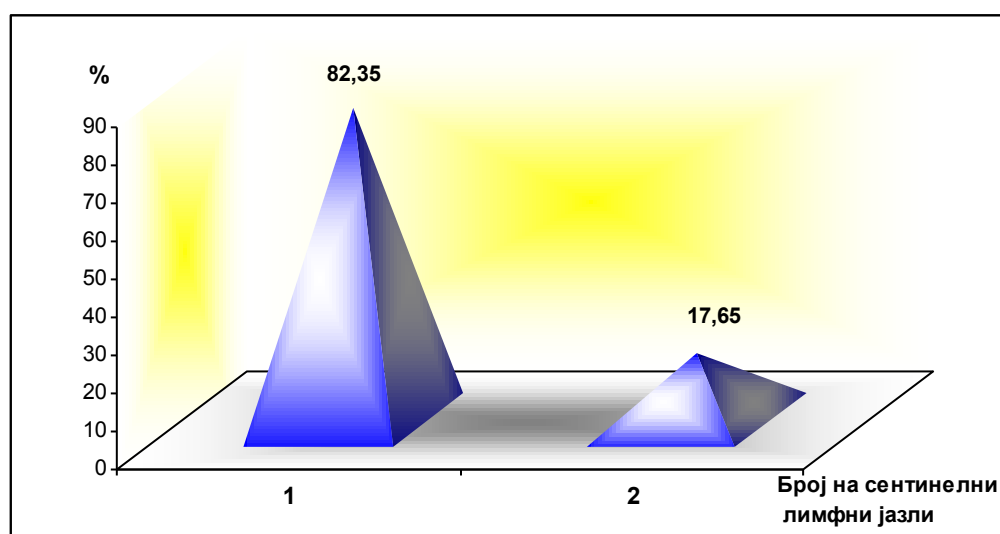
4.9. ГРУПА ИСПИТАНИЦИ СО СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ (СЛЈ)

Во оваа серија од 34 испитаници вкупно се изолирани 40 сентинелни лимфни јазли. Дистрибуцијата прикажана во табелата 21 покажува дека кај 28 (82,35%) испитаници изваден е еден сентинелен лимфен јазол, кај останатите 6 (17,65%) пациенти со колоректален карцином изолирани се два сентинелни лимфни јазли.

Табела 21. Број на изолирани СЛЈ по пациенти

БРОЈ НА ИЗОЛИРАНИ СЕНТИНЕЛНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ ПО ПАЦИЕНТ	N (%)
1	28 (82,35%)
2	6 (17,65%)
Вкупно	34

Слика 25. Број на изолирани СЛЈ по пациент



Кај секој препарат беше одредено растојанието на кое се наоѓа сентинелниот лимфен јазол во однос на примарниот тумор изразено во сантиметри. Резултатите се прикажани во табелата 22 и тоа поделени во три групи: 1–3 см, 3–5 см и 5–10 см. Најголем број СЛЈ (44,12%) беа пронајдени на растојание до 3 см од примарниот тумор.

Табела 22. Растојание на СЛЈ од примарниот тумор

ОДДАЛЕЧЕНОСТ НА СЛЈ ОД ТУМОРОТ ВО СМ	N (%)
1–3 см	15 (44,12%)
3–5 см	11 (32,35%)
5–10 см	8 (23,53%)
Вкупно	34 (100%)

4.9.1. Валидност на сентинелниот лимфен јазол (СЛЈ)

Валидноста на СЛЈ, односно способноста на сентинелот да го предвиди статусот на другите регионални лимфни јазли, стандардно се пресметува преку одредување на сензитивноста, негативната предиктивна вредност, точноста на методот и стапката на детекција. За таа цел се изработува дијагностичка таблица, која служи за понатамошни пресметувања (табела 23).

Табела 23. Дијагностичка таблица

СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ	РЕГИОНАЛНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ		ВКУПНО
	pN+	pN-	
sN+	a ВП	b ЛП	ВП + ЛП
sN-	c ЛН	d ВН	ЛН + ВН
вкупно	ВП + ЛН	ЛП + ВН	ВП + ЛП + ЛН + ВН

ВП – вистински позитивни

ЛП – лажно позитивни

ЛН – лажно негативни

ВН – вистински негативни

Дефиниции:

ВП (вистински позитивен). Сентинелниот лимфен јазол кај кој се откриени метастатски клетки или депозити и кој одговара со другите регионални лимфни јазли, односно некои од нив се позитивни, претставува вистински позитивен и се означува со **a**.

ВН (вистински негативен). Сентинелниот лимфен јазол кај кој не се откриени метастатски клетки или депозити и кој одговара со другите регионални лимфни јазли, односно тие се негативни, претставува вистински негативен сентинелен лимфен јазол и се означува со **d**.

ЛН (лажно негативен). Сентинелниот лимфен јазол кај кој не се откриени метастатски клетки или депозити, а кој не одговара со другите регионални лимфни јазли, односно некој од нив е позитивен, претставува лажно негативен сентинелен лимфен јазол и се означува со **c**.

ЛП (лажно позитивен). Сентинелниот лимфен јазол кој во себе содржи метастатски клетки или депозити не може да биде лажно позитивен без разлика каков е статусот на другите жлезди, бидејќи самиот тој се вбројува во регионалниот базен, но поради статистичка обработка се означува со буквата **b** и секогаш претставува 0.

Формули :

1. **Сензитивноста** ја изразува способноста на СЛЈ да открие метастази доколку се тие присутни и се однесува само на N+ пациенти. Се пресметува кога бројот на пациенти со вистински позитивен СЛЈ ќе се подели со вкупниот број пациенти што имаат позитивни јазли $[a / (a+c)] \times 100$.

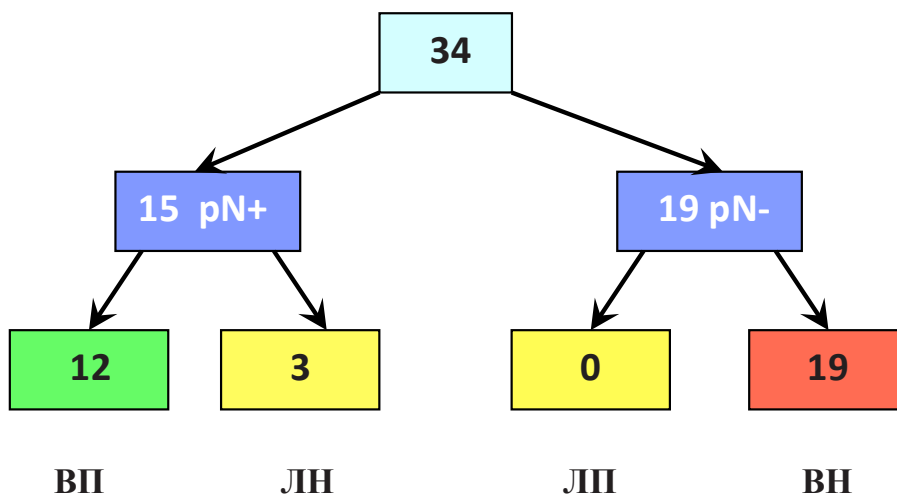
2. **Негативна предиктивна стапка** се јавува поради појавата заболени погрешно да се класифицираат како незаболени и ја изразува способноста на СЛЈ да предвиди дека нема метастази во регионалните лимфни жлезди. Се пресметува кога бројот на пациенти со лажно негативни СЛЈ ќе се подели со вкупниот број пациенти што имаат метастази во нивните лимфни јазли $[c / (a+c)] \times 100$.

3. **Точноста** ја покажува дијагностичката точност и ефикасност на методот. Се пресметува кога бројот на пациенти со правилна предикција на нодалниот статус ќе се подели со вкупниот број пациенти $[(a+d) / (a+b+c+d)] \times 100$.

4. Стапката на детекција на СЛЈ се пресметува кога вкупниот број пациенти кај кои е откриен сентинелен лимфен јазол ќе се подели со вкупниот број пациенти кај кои е одредуван СЛЈ.

На сликата 26 е преставена дистрибуцијата на сентинелните лимфни јазли (СЛЈ) кај сите 34 пациенти. Од нив 15 пациенти имаат метастази во регионалните лимфни јазли pN+, додека кај останатите 19 пациенти не се детектираат метастази во регионалните лимфни јазли pN-. Од анализата на сентинелните лимфни јазли добиени се 12 позитивни сентинелни лимфни јазли и сите вистински позитивни. Негативни се 22 сентинелни лимфни јазли, од кои 19 вистински негативни и три лажно негативни.

Слика 26. Дистрибуција на сентинелните лимфни јазли кај сите пациенти



ВП – вистински позитивни ЛП – лажно позитивни ЛН – лажно негативни ВН – вистински негативни

Од оваа дистрибуција беше изготвена дијагностичка таблица, која е прикажана во табелата 24 и која служеше за понатамошни пресметувања на параметрите за валидност на СЛЈ.

Табела 24. Дијагностичка таблица на истражувањето

СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ	РЕГИОНАЛНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ		ВКУПНО
	pN+	pN-	
sN+	12	0	12
sN-	3	19	22
Вкупно	15	19	34

Со употреба на погоре дефинираните формули се добија следните резултати за параметрите за валидност на сентинелниот лимфен јазол, кои се претставени во табелата 25.

Табела 25. Параметри за валидност на сентинелниот лимфен јазол

параметар	формула	вредност
сензитивност	$[a / (a+c)] \times 100$	80,00%
точност на методот	$[(a+d) / (a+b+c+d)] \times 100$	91,176%
негативна предиктивна стапка	$[c / (a+c)] \times 100$	86,36 %
стапка на идентификација	34/34	100,00%

Кај сите 34 пациенти, со употреба на методот за детекција со Tc99m, беше пронајден сентинелниот лимфен јазол, поради што стапката на идентификација изнесува 100% (34/34). Сензитивноста на методот изнесува 80%, што значи дека можноста на овој метод за откривање на метастатски депозити во лимфните јазли кога тие постојат е 80%. Негативната предиктивна стапка е 86,36 %, што значи дека шансите сентинелниот јазол да е негативен, а, сепак, некој од другите регионални јазли да е позитивен, е 13,64 %, и тоа е негативната предиктивна вредност (100 – негативна предиктивна стапка = негативна предиктивна вредност). Точноста на методот изнесува 91,17%, што значи дека способноста на сентинелниот лимфен јазол за успешно предвидување на статусот на регионалните лимфни јазли е 91,17%.

4.9.2. Фактори што влијаат врз параметрите за валидност на СЛЈ

Кај тројца пациенти, од вкупно 34 во оваа студија, добиени се лажно негативни резултати (ЛН сентинел), што значи дека сентинелниот лимфен јазол е негативен, односно нема метастази, додека некој/некои од регионалните лимфни јазли биле позитивни. Тоа се, во исто време, единствените пациенти кај кои сентинелите не се совпаѓаат со другите регионални лимфни жлезди и поради тоа беа посебно анализирани.

Сите три лажно негативни резултати од сентинелите се детектираат во групата машки пациенти, но поради малата серија испитаници, тестираната разлика во половата дистрибуција меѓу групата со лажно негативни сентинели и групата сентинели со точно предвидување статистички е несигнификантна (Fisher exact p = 0,53).

Табела 26. Полова дистрибуција на ЛН сентинели

ПОЛ	ЛАЖНО НЕГАТИВНИ СЕНТИНЕЛИ	СЕНТИНЕЛИ СО ТОЧНО ПРЕДВИДУВАЊЕ	ВКУПНО
мажи	3 (13,04%)	20 (86,96%)	23 (100%)
жени	0	11 (100%)	11 (100%)
тестирани разлики Fisher exact, two tailed p = 0,53 ns			

Во групата испитаници со лажно негативни сентинели се регистрира несигнификантно помала просечна возраст споредено со групата испитаници со точно предвидени сентинели ($63,67 \pm 14,0$ vs $64,29 \pm 8,7$; $p = 0,91$).

Табела 27. Возраст на пациентите со ЛН сентинели

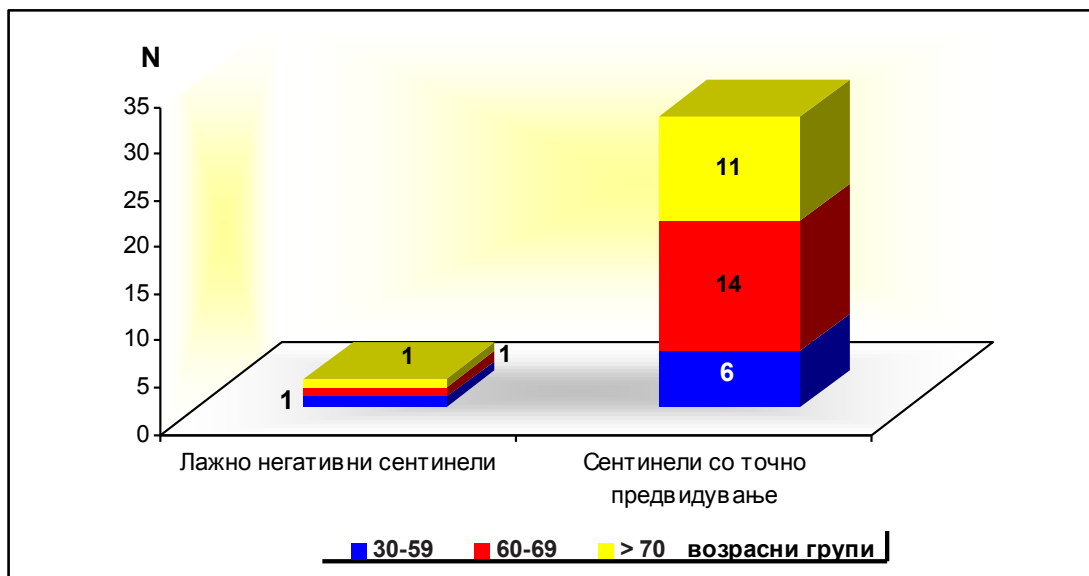
ГРУПА	ВОЗРАСТ	
	N	mean \pm S.D
СЕНТИНЕЛИ СО ТОЧНО ПРЕДВИДУВАЊЕ	31	$64,29 \pm 8,7$
ЛАЖНО НЕГАТИВНИ СЕНТИНЕЛИ	3	$63,67 \pm 14,0$
тестирани разлики t – test = 0,11; p = 0,91		

Анализата на дистрибуцијата на лажно негативните сентинели покажа дека и во трите возрасни групи се регистрира по еден испитаник кај кој сентинелниот лимфен јазол лажно е означен како негативен, односно без метастази, што е претставено во табелата 28 и на сликата 27.

Табела 28. Дистрибуција на ЛН сентинели по возрасна група

ВОЗРАСНИ ГРУПИ	ЛАЖНО НЕГАТИВНИ СЕНТИНЕЛИ	СЕНТИНЕЛИ СО ТОЧНО ПРЕДВИДУВАЊЕ	ВКУПНО
30–59 год.	1 (14,28%)	6 (85,71%)	7 (100%)
60–69 год.	1 (6,67%)	14 (93,33%)	15 (100%)
>70 год.	1 (8,33%)	11 (91,67%)	12 (100%)

Слика 27. Дистрибуција на ЛН сентинели по возрастна група



Во групата од тројца испитаници со лажно негативни сентинели, кај еден испитаник туморот е локализиран на десниот колон, а кај двајца испитаници лажно негативните сентинели се изолирани при локализација на туморот на ректум.

Табела 29. Локализација на туморот кај ЛН сентинели

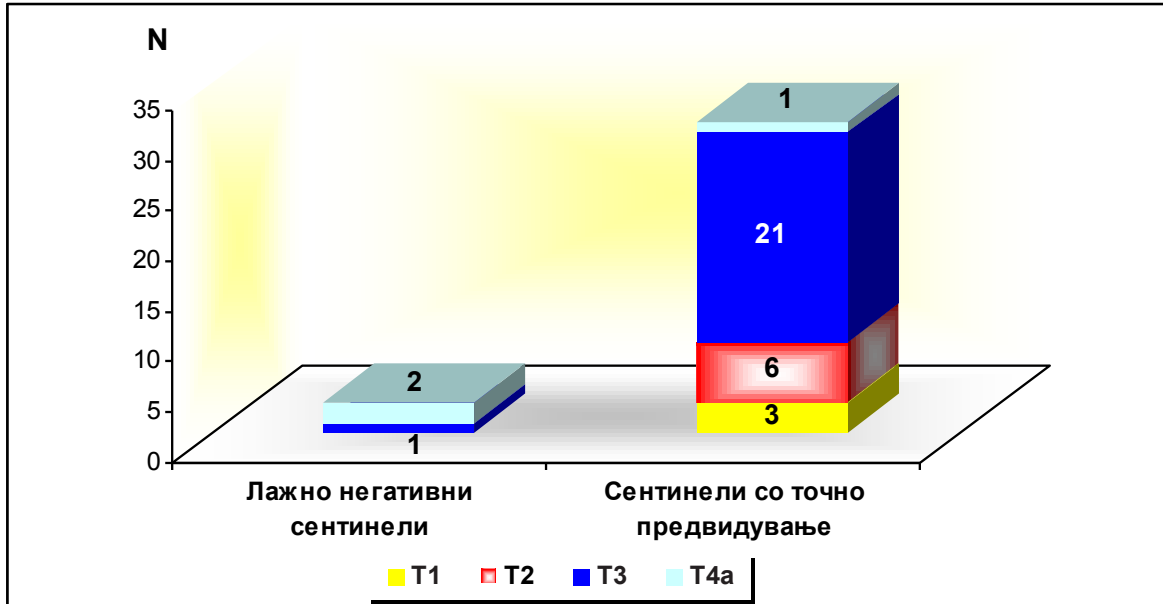
ЛОКАЛИЗАЦИЈА	ЛАЖНО НЕГАТИВНИ СЕНТИНЕЛИ	СЕНТИНЕЛИ СО ТОЧНО ПРЕДВИДУВАЊЕ	ВКУПНО
десен колон	1 (16,67%)	5 (83,33%)	6 (100%)
ректум	2 (22,22%)	7 (77,78%)	9 (100%)
тестирани разлики	Fisher exact, two tailed $p = 0,16$ ns		

Дистрибуцијата на Т стадиумот на туморите со лажно негативни сентинели и со точно предвидливи сентинели е прикажана во табелата 30. Се забележува дека лажно негативни резултати (ЛН сентинели) се јавуваат кај поголеми тумори, односно 1 (33,33%) лажно негативен сентинелен јазол е изолиран од тумор во Т3 стадиум, а 2 (66,67%) од тумори во Т4а стадиум. Во групата сентинели со точно предвидување, пак, 3 (9,68%) се изолирани од тумор во Т1 стадиум, а 6 (19,35%) во Т2 стадиум.

Табела 30. Големина на туморот кај ЛН сентинели

Т СТАДИУМ	ЛАЖНО НЕГАТИВНИ СЕНТИНЕЛИ	СЕНТИНЕЛИ СО ТОЧНО ПРЕДВИДУВАЊЕ	ВКУПНО
T1	0	3 (100%)	3 (100%)
T2	0	6 (100%)	6 (100%)
T3	1 (33,33%)	21 (95,45%)	22 (100%)
T4a	2 (66,67%)	1 (33,33%)	3 (100%)

Слика 28. Големина на туморот кај ЛН сентинели

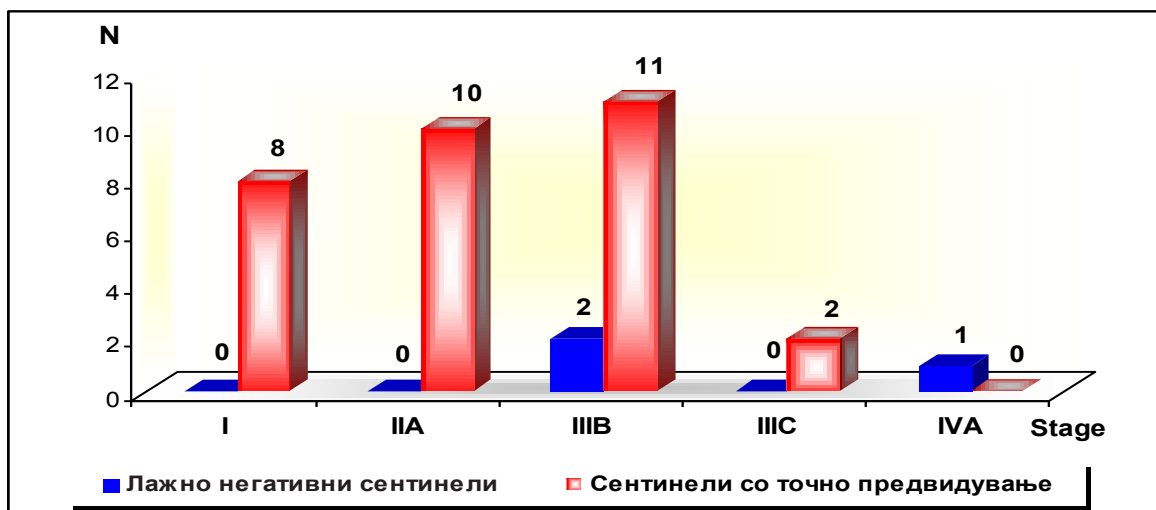


Табелата 31 ги презентира резултатите од анализата за поврзаноста на лажно негативните сентинели со TNM стадиумот на колоректалниот карцином. Тие покажуваат дека лажно негативните сентинели се поврзани со туморите во понапреднат стадиум, при што во оваа серија на испитаници 2 (66,67%) лажно негативни сентинели се изолирани од тумор во IIIB стадиум, 1 (33,33%) од тумор во IVA стадиум. Во табелата 31 прикажана е и дистрибуцијата на стејдингот на колоректалните карциноми со точно предвидливи сентинелни лимфни јазли.

Табела 31. Дистрибуција на ЛН сентинели според TNM стадиумот на болеста

TNM СТАДИУМ	ЛАЖНО НЕГАТИВНИ СЕНТИНЕЛИ	СЕНТИНЕЛИ СО ТОЧНО ПРЕДВИДУВАЊЕ	ВКУПНО
I	0	8 (100%)	8 (100%)
IIA	0	10 (100%)	10 (100%)
IIIB	2 (15,38%)	11 (84,62%)	13 (100%)
IIIC	0	2 (100%)	2 (100%)
IVA	1 (100%)	0	1 (100%)

Слика 29. Дистрибуција на ЛН сентинели според TNM стадиумот на болеста



4.10. Миграција во повисок стадиум на болеста (Upstaging)

Со употреба на имунохистохемскиот метод на бојење на сентинелните лимфни јазли, кај двајца пациенти беа пронајдени микрометастази и поединечни туморски клетки. Upstaging-от во студијата се пресметуваше како однос меѓу бројот на пациентите што се позитивни на микрометастази со употреба на имунохистохемија и вкупниот број пациенти што се негативни со конвенционалното хематоксилин-еозин бојење pN0. Со употреба на таа формула се добива дека upstaging-от во нашата студија изнесува 10,5% (2/19), со оглед на тоа што 19 пациенти во студијата се означени како негативни со конвенционалното ХЕ бојење.

Исто така, кај тројца пациенти сентинелите биле ексклузивно место на метастази, односно се единствените позитивни лимфни јазли од сите изолирани регионални јазли. Некои автори ова го сметаат за релативен upstaging, со оглед на тоа што тој сентинелен лимфен јазол, доколку не бил изолиран со посебен метод, можеби би бил пропуштен од страна на патологот.

Кога овој релативен upstaging од тројца пациенти би се додал на вистинскиот upstaging од двајца пациенти, тогаш вкупниот upstaging би изнесувал 26% (5/19).

4.11. Аберантна лимфна дренажа

Во оваа студија кај ниту еден пациент со употреба на нашиот метод на целосна абдоминална визуализација со гама-камера не добивме аберантна лимфна дренажа. Сите сентинели се наоѓаа во рамките на очекуваната лимфна делта, која беше предмет на стандардна хируршка лимфаденектомија. Со тоа процентот на аберантна лимфна дренажа во оваа студија изнесува 0%.

5. ДИСКУСИЈА

Колоректалниот аденокарцином претставува трет најчест карцином кај луѓето и е водечка причина за морбидитет и морталитет во гастроинтестиналната онкологија на западниот свет. Постојаниот прогрес последниве децении во дијагностицирањето и во лекувањето на овие пациенти значајно ја зголеми стапката на преживување во последните децении и таа сега надминува 60% кај куративно ресецираните пациенти^{105,106}. Иако во последната декада беа правени големи напори за подобро разбирање на механизмите на болеста на генетско и на молекуларно ниво¹⁰⁷, многу малку молекуларни елементи станаа дел од клиничката практика без разлика што за дел од нив постојат бројни научни докази. Поради тоа, сè уште стејдингот базиран на големината на туморот (T), ма статусот на лимфните јазли (N) и на статусот на далечните метастази (M) остануваат најсилниот прогностички фактор за стапката на преживување на болните од КРК. За пациентите што подлежат на куративни ресекции статусот на лимфните јазли (постоењето метастази во нив) претставува најважниот прогностички фактор¹⁰⁸. Следствено на тоа, огромни напори се вложени во квалитативните и во квантитативните аспекти на проценката на лимфните јазли и тука не смеете никако да се водиме по принципот на едноставна дистинкција меѓу болест со „позитивни јазли“ (pN+) и 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 дивергентни¹⁰⁹. Современиот стандард за неа кај ректалниот карцином вклучува предоперативен стејдинг со визуализација со магнетна резонанца и ендоскопски ултразвук, соодветни критериуми се дадени за предоперативна радиохемотерапија, а стандард во хируршката техника стана ТМЕ, како и квалитативни индикатори што ја вклучуваат проценката на циркумференцијалната маргина на ресекцијата и со тоа прогнозата на ректалниот канцер денес ја надминува прогнозата кај пациентите со канцер на колонот. Но, и кај пациентите со ректален карцином, како и кај пациентите со карцином на колонот, статусот на лимфните јазли сè уште претставува најкористен, но и најспоруван прогностички фактор. Без разлика на огромниот труд вложен за пронаоѓање на стандарди за тоа колку лимфни јазли минимум

мора да се отстранат и да се анализираат и факторите што влијаат на тоа, и без разлика што тие препораки денес се стандард во негата на овие пациенти, сепак остануваат нерасјаснети 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 20% и, исто така, голем дел од пациентите што се во висок втор стадиум имаат помало петгодишно преживување отколку пациентите во низок III стадиум на болеста¹¹⁰. Се поставува прашањето: дали овие пациенти, доколку биле правилно стејцирани, односно биле пронајдени метастази во нивните лимфни јазли (миграција во III стадиум), со што би примиле адјувантна хемотерапија, би живееле подолго? 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 и цената, која е висока), поради што тие своето лекување го завршуваат само со куративна хируршка ресекција. Во обид да се надмине погоре евидентирираниот проблем, вложени се напори во различни испитувања и денес, според препораките на AJCC од нејзиното 7 издание, кое е во употреба, хемотерапија се предлага и кај сите пациенти во II стадиум кои имаат повеќе идентификувани ризик-фактори, какви што се лошо диференцираниот тумор, перфорираниот тумор, недоволниот број семплирани лимфни јазли итн., но останува фактот дека одлуката за хемотерапија пред се зависи од статусот на лимфните жлезди.

Ако е тоа така, и ако лимфните жлезди и присуството на метастази во нив е најважниот фактор за донесувањето одлуки за понатамошната терапија и прогноза кај пациентите, зачудува фактот дека токму ова е најспоруваниот фактор во многу публикации и сè уште нема одговор, барем не јасен научен одговор, за тоа колку лимфни јазли минимум треба да се отстранат и да се анализираат, кои се факторите што влијаат врз нивното изолирање, како треба тие патохистолошки да се прегледаат и што се метастазите во лимфните јазли по дефиниција, воопшто, и, особено, каква е улогата на микрометастазите врз прогнозата и врз преживувањето на пациентите. Одговорот на овие прашања и идеи е основниот концепт на сентинелното мапирање кај колоректалниот карцином. Тоа е концепт за правилна дијагноза и стејдинг кај пациентите, а не намалувањето на опсегот на хируршката ресекција. Прашањето е дали тој лимфен јазол/јазли можеме да го/ги пронајдеме и со фокусирана и екстензивна негова/нивна

патохистолошка анализа да одговориме на најважното прашање: има или нема метастази во него/нив?

Оваа студија беше дизајнирана како контролирана проспективна студија и имаше цел да ја испита валидноста на сентинелниот лимфен јазол кај пациенти со КРК, кој беше детектиран со употреба на Tc99m обележан колоид. Од 94 пациенти, предоперативните инклузиони критериуми ги исполнија 39 пациенти, а од нив петмина пациенти отпаднаа од студијата по интраоперативната детекција на некој од ексклузионите критериуми. Тоа нè носи кон конечниот број од 34 пациенти што комплетно беа вклучени во испитувањето и кај кои се одреди сентинелниот лимфен јазол чија валидност беше испитувана. Мора да се напомене дека сите 94 пациенти беа оперирани од еден хирург во една институција и од еден ист хирург беше спроведено сентинелното мапирање, што ја прави оваа студија со висока силина и импакт, особено ако се земе предвид дека сите објавени студии се со мал број пациенти, најчесто изведени мултицентрично од голем број хирурзи, со оглед на фактот дека регрутирањето во студијата е тешко и бара пациенти со низок стадиум на болеста. Во нашата студија беа анализирани сите аспекти поврзани со лимфните јазли како прогностички фактор во стејџингот на пациентите, факторите што влијаат врз бројот на изолирани лимфни јазли, а особено детекцијата и валидноста на сентинелниот лимфен јазол, upstaging-от со употреба на имунохистохемиска анализа и аберантната лимфна дренажа.

5.1. БРОЈ НА ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ

Во оваа студија средниот број изолирани лимфни јазли по пациент во целата група со КРК е $15,57 \pm 6,2$ (од 5 до 34), додека во групата со СЛЈ средно се изолирани $15,53 \pm 6,0$ лимфни јазли (од 5 до 29). И во двете групи вкупниот број изолирани лимфни јазли е повисок од моменталните препораки за минимум 12 испитани лимфни јазли за правилен стејџинг.

Иако не постои директен и едноставен одговор на прашањето што претставува соодветен број изолирани лимфни јазли по извршена куративна хируршка операција кај КРК, сепак, со цел да се постави клинички стандард што ќе служи како заедничка

референца, беше постигнат еден општ договорен консензус од 12 лимфни јазли, кој претставува најчеста референца кај најголемиот број истражувачи. Во 1990 година извештајот на работната група му препорача на 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^{111, 112}. 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 интервенции¹¹³. Седмото издание на американскиот заеднички комитет за канцер (AJCC) препорачува да се земат најмалку 10–14 лимфни јазли за соодветен стејџинг.

Постојат бројни публикации што за оптималниот број извадени лимфни јазли не се согласуваат со овој консензус од 12. Неколку студии ја истражувале и ја детектирале поврзаноста меѓу адекватниот број изолирани лимфни јазли и стапката на преживување¹¹⁴.

Le Voyer et al.¹¹⁵ во својата студија покажале дека кај пациентите што имаат 1–3 позитивни лимфни јазли има апсолутно подобрување од 23% во стапката на вкупното преживување ако повеќе од 40 јазли биле анализирани наспроти помалку од 10 ($P < 0,0001$); и кај пациентите со повеќе од четири позитивни лимфни јазли, петгодишната стапка на преживување по анализата на >35 наспроти <35 лимфни јазли била 71% наспроти 51% ($P < 0,002$).

Chen¹¹⁶ покажал дека средната стапка на преживување кај ракот на колон кога 1–7, 8–14 и ≥ 15 лимфни јазли биле испитани изнесува 46, 52 и 67 консеквентно ($P < 0,001$).

Vather et al.³⁹ известуваат дека средниот број на испитаните лимфни јазли кај пациенти во трет стадиум кои умираат во период од пет години изнесувал 13,1, наспроти 14,8 кај оние што преживеале ($P < 0,0001$).

Goldstein et al.¹¹⁷ 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.

Wong et al.¹¹⁸ откриле дека на пациентите со негативни лимфни јазли им бил испитан далеку помал број отколку на пациентите со позитивни јазли (14 наспроти 20) и препорачува дека треба да се испитаат најмалку 14 јазли.

5.2. ФАКТОРИ ШТО ВЛИЈААТ НА БРОЈОТ НА ИЗОЛИРАНИ ЛИМФНИ ЈАЗЛИ

Недоволното изолирање лимфни јазли по хируршкиот третман се поврзува со пониската стапка на преживување според многу истражувања и затоа изолирањето на лимфните јазли преставува мерка за квалитет при лекувањето на карцином на КРК. Кои се факторите што влијаат на ова се екстензивно анализирани во научната јавност^{119,120,121,122,123,124}. 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 кај пациентите (постари пациенти, како и итни пациенти), како и кај локацијата на туморот (повеќе јазли во десниот колон), па дури и кај биологијата на туморот (генетски предиспозиции поврзани со можноста да се изолираат повеќе јазли).

Некои од овие фактори беа анализирани во оваа студија и нивните резултати се графички претставени.

Хирургот како фактор. Логично е дека колку е покомплетна лимфаденектомијата при операцијата на пациентот толку и се зголемува бројот на лимфните јазли во примерокот.

Во студијата на Lane et al.⁵⁰, 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 специјалист. Болниците што вршат хируршки интервенции кај канцер на колон може да се разликуваат според многу карактеристики, како што е бројот на случаите, дали

вршат или не вршат образовна дејност, рурален или урбан опфат, примарни болници или референтни центри и сите тие карактеристики имаат влијание врз третманот на пациентите.

Скорешна студија од Норвешка покажува дека во текот на 2007 и на 2008 година доволен број од 12 лимфни јазли биле евалуирани само кај 69% од пациентите¹²⁵. Било заклучено дека хирурзите што имаат помалку од 25 ресекции на колонот во текот на една година преставуваат независен предиктор на недоволно изолирање лимфни јазли (≤ 8 семплирани лимфни јазли).

Во нашата студија средно беа изолирани $15,57 \pm 6,2$ лимфни јазли по пациент и со тоа е постигнат соодветен хируршки третман и правилен стејџинг на пациентите. Ова може да се објасни со тоа што хирургот работи во универзитетска клиника од терциерно ниво и годишно оперира повеќе од 25 карциноми на дебелото црево (31,3 во студијата) и тоа не земајќи ги предвид сите итно оперирани пациенти од КРК.

Патологот како фактор. Исто така е логично и дека од правилното постапување со препаратот, методите што му стојат на располагање, како и од неговата посветеност, патологот е значаен фактор во бројот на изолирани лимфни јазли. За да се зголеми идентификацијата на лимфните јазли кај примерокот, биле тестирани неколку техники^{126,127}. Алтернатива на конвенционалното чистење на масното ткиво е употребата на модифициран метод на фиксирање, кој обично се применува како постфиксирачки агенс. Тоа претпоставува употреба на мешавина од глацијална ацетична киселина, етанол, вода и формалдехид (GEWF). Бројот на ваквите истражувања е прилично мал и, иако е забележано значајно зголемување во бројот на лимфните јазли, сепак, за апсолутниот број изолирани јазли не се информира конзистентно во студиите^{128,129,130}.

Од резултатите на Iversen et al.¹³¹ 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. Патолозите во една болница известиле дека кога се користел GEWF растворот тие потрошиле помалку време на идентификација на лимфните

јазли, но дека зголемениот број лимфни јазли ќе води до повеќе работа за техничкиот персонал и до повеќе време за испитување на лимфните јазли со микроскоп.

Cawthorn et al.²⁶ 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 значајно повисок споредено со две групи на пациенти кај кои не се примениле техниките на чистење на масното ткиво (група 1: средно $13,1 \pm 0,86$; група 2: средно $10,5 \pm 0,6$; $P < 0,001$).

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 студија¹³² покажа намален број изолирани лимфни јазли кај пациенти со поголема телесна тежина (BMI >24), додека друга студија¹³³ покажа дека нема разлика меѓу пациентите со нормална и со покачена телесна тежина, но дека има поголем број изолирани лимфни јазли кај пациентите со тежина под нормалната (BMI <18). Трета студија, пак, не најде никаква врска меѓу неколку истражени антропометрички карактеристики и изолирањето на лимфните јазли¹³⁴, така што влијанието на градбата на телото, висината и тежината остануваат дискутабилни и сè уште неразрешени. Во нашата студија BMI не беше испитуван.

Во неколку 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^{135,136} и многумина сметаат дека е тоа резултат на подобра и поадекватна операција, поголем примерок (со тоа и повеќе јазли) при десна хемиколектомија отколку при ресекција на сигмата (најчестата локализација)¹³⁷. Во нашата студија статистичката анализа ја потврди како сигнификантна разликата во просечниот вкупен број изолирани лимфни јазли, а 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 извадени лимфни јазли при локализација на туморот во десниот колон во однос на ректална локализација ($18,07 \pm 7,1$ vs $14,66 \pm 5,7$; $p=0,046$). Сепак, овој резултат треба да се погледне внимателно, со оглед на тоа што во целата група испитаници спаѓаат и пациентите со ректален карцином што примиле

неoadјувантна терапија. Но, ако се погледне групата пациенти со СЛЈ, во која нема пациенти со неoadјувантна терапија, бидејќи тие се исклучени од анализата, повторно се добива сигнификантна разлика во вкупниот број изолирани ЛЈ во зависност од локализацијата на туморот ($F=7,3$; $p=0,036$). Статистичката анализа оваа разлика ја базира на значајно поголем просечен вкупен број изолирани лимфни јазли кај локализација на туморот на десниот колон во однос на левиот колон ($20,83 \pm 7,7$ vs $14,29 \pm 5,9$; $p=0,02$).

Возраста се чини дека е независен фактор за изолирање на помал број лимфни јазли¹³⁸. 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 јазли¹⁴⁰. Понатаму, тие откриле 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 СЕЕР податоците не ја документираат должината на примерокот. Во нашата студија вкупниот просечен број изолирани лимфни јазли во возрастната група од 30 до 59 години изнесува $15,53 \pm 7,4$, во возрастната група од 60 до 69 години е $15,50 \pm 6,3$ и во возрастната група над 70 години е $15,67 \pm 5,8$. И статистички се потврдува дека вкупниот просечен број извадени лимфни јазли кај испитаниците со колоректален карцином не зависи значајно од нивната возраст ($F=0,006$; $p=0,99$) во целата група. Единствено во групата испитаници со СЛЈ возраста сигнификантно влијае на вкупниот просечен број извадени лимфни јазли ($F=5,82$; $p=0,047$). Најголем е вкупниот просечен број извадени лимфни јазли во најмладата возрастна група од 30 до 59 години од $18,86 \pm 7,3$, а најмал во возрастната група од 60 до 69 години – $13,07 \pm 5,1$. Оваа разлика е и статистички сигнификантна, односно значајна ($p=0,034$).

Исто така, големината и карактеристиките на туморот се поврзуваат со бројот на изолираните лимфни јазли. Оваа поврзаност била поочигледна кај канцерот на колон отколку кај ректалниот канцер. Споредено со Т1 туморите, процентот на зголемување 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.

Во нашата студија бројот на лимфните јазли беше анализиран во однос на карактеристиките на туморот. Она што е забележливо од резултатите е дека со зголемувањето на стејџингот на болеста несигнификантно се намалува бројот на изолираните лимфни јазли. Ова важи и кога посебно се разгледуваат големината на туморот или независно лимфниот статус. Со зголемување на T стадиумот се намалува бројот на изолираните лимфни јазли, иако несигнификантно. Исто така, со зголемувањето на N стадиумот несигнификантно се намалува и бројот на изолираните лимфни јазли. Можно објаснување за ова е дека кај пациентите со напредната болест полесно се изолираат позитивни лимфни жлезди и, со оглед дека во AJCC системот највисокиот број позитивни лимфни жлезди што треба да се одреди е 7 ($N=2N_c$), по исполнувањето на овој број нема понатамошна потреба практично да се трага по другите лимфни жлезди, бидејќи тоа понатаму нема и не може да го зголеми стадиумот на болеста. Кај помалите тумори тенденција на патолозите е да пронајдат што повеќе лимфни јазли со намера кај некој од нив да се изолираат 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 патолошки карактеристики на карциномот на дебелото црево и, доколку таа постои, се зголемуваат шансите за развој на карцином во проксималниот колон¹³⁹. Она што е интересно за нас е дека неколку понови студии укажуваат на поврзаноста меѓу микросателитската нестабилност и зголемениот број лимфни јазли во примерокот^{63,140,141}. Други, пак, не нашле таква поврзаност¹⁴² или не откриле дека има независна улога кога станува збор за локацијата на туморот. Но, јасно е дека и самата биологија на туморот понекогаш влијае на вкупниот број изолирани лимфни јазли во примерокот.

Предоперативен неoadјувантен третман. Намерата на неoadјувантната хемо- и радиотерапија е да се постигне намалување на примарниот тумор (downstaging) и поврзаните метастази во лимфните јазли. Но, таа, исто така, води и до фиброза на

лимфните садови, прави потешко да се идентификуваат лимфните јазли преку палпација и е поврзана со намалувањето на големината на нормалните лимфни јазли, како и на јазлите зафатени со тумор. Кај ректалниот канцер, иако се работи за посакуваниот ефект од третманот, тоа е во контрадикција со традиционалната цел за постигнување максимален број изолирани лимфни јазли, бидејќи таа терапија значајно го намалува бројот на пронајдените јазли. Некои автори дури известуваат и за комплетното отсуство на лимфните јазли кај примероците на ректален карцином по примената на неoadјувантна ХРТ, каков што е случајот со Nabr-Gama et al.⁷¹

Во нашата студија од резултатите јасно се заклучува дека неoadјувантната терапија, која најчесто се користи за лекување на ректалниот карцином, сигнификантно влијае врз вкупниот број изолирани лимфни јазли. Токму затоа и овие пациенти, кои примиле неoadјувантна терапија, беа предоперативно исклучени во нашето испитување на сентинелен лимфен јазол. Вкупниот просечен број изолирани лимфни јазли во групата испитаници што не биле третирани со неoadјувантна терапија, односно што не биле зрачени, изнесува $16,17 \pm 5,9$, додека во групата од осум испитаници што примале неoadјувантна терапија вкупниот просечен број изнесува $8,57 \pm 4,6$. Разликата меѓу двете просечни вредности од 7,6 статистички е сигнификантна за $p < 0,01$. Заклучокот е дека просечниот број извадени лимфни јазли значајно е поголем кај пациентите со ректален карцином што не биле на терапија со зрачење.

Lymph node ratio (LNR). Со оглед на тоа што најважниот прогностички фактор за пациентите (статусот на регионалните лимфни жлезди), како што гледаме, зависи од многу варијабли, многу автори се обиделе да пронајдат други прогностички фактори, кои би имале поголема вредност во одлучувањето за понатамошниот третман на пациентите. Оттука во поново време се бараат нови прогностички фактори, а некои од предложените методи се^{143,144,145}:

- 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).

Меѓу овие, LNR (Lymph node ratio) е можеби најдобро истражуваниот и тој особено се однесува на стејџингот кај пациентите со стадиум III на болеста, кои се, во исто време, најбројна група пациенти^{146,147,148,149,150,151,152,153}. 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 канцер. 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. Извлечениот сооднос (pooled hazard ratios) за вкупната стапка на преживување и вкупниот период без болест изнесувал 2,4, односно 3,7. Како таков, LNR дозволува супериорна прогностичка стратификација кај пациентите во стадиум III на колоректален канцер, но тоа сè уште треба да биде потврдено со последователни студии. 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. Потенцијалниот бенефит од LNR е можен начин за надминување на проблемите што произлегуваат од едноставното апсолутно гледање само на позитивните лимфни јазли. Но, сепак, мора да се каже дека е ова фактор што ги зема предвид само позитивните пациенти и не може да се примени кај оние пациенти што немаат метастази во своите лимфни јазли. Со овој фактор не може да се одговори на проблемите што се јавуваат кај напреднатите тумори во II стадиум во однос на малите тумори во III стадиум на болеста. Исто така, една неодамнешна голема студија откри дека вредноста на LNR како прогностички фактор е драстично намалена кај пациенти кај кои се изолирани помалку од 10 лимфни јазли³⁹.

5.3. СЕНТИНЕЛЕН ЛИМФЕН ЈАЗОЛ КАЈ КРК

Минатата декада се случила бројни револуции во молекуларната онкологија и во имунологијата на туморот. Долго очекуваните ветувања во тие дисциплини конечно донесоа успех за многу пациенти, додека обемот на податоците собрани низ генетички и

имунолошки есеи порасна во невидени количини. Во таа смисла повторно се врати ентузијазмот за испитување на сентинелниот лимфен јазол и неговото значење кај многу солидни неоплазми, а со тоа и кај КРК.

Како и со многу други револуции, биопсијата на сентинелниот јазол се појави од основните сили (насоки) 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 за одреден примарен тумор 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 многу специфичниот пат на дренирање од локацијата на примарниот тумор до еден јазол или помал број јазли. Ова имаше две примарни импликации: прво, евалуацијата на регионалните лимфни јазли можеше да се изведе со минимален морбидитет и, второ, малиот број сентинелни лимфни јазли овозможуваше зголемена патолошка 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 оваа операција, освен да се здобијат со сознание за нивниот статус на низок ризик. Со сентинел јазолот истата или потточна информација се добива по минимална цена во однос на морбидитетот и квалитетот на живот. Можноста безбедно да се избегне тотална дисекција на јазлите претставува огромна предност во негата на пациентите.

Другиот важен аспект на СЛЈ-испитувањето е зголемената контрола на отстранетите јазли, која, се чини, засега е потценета. И покрај комплетната хируршка дисекција, некои лимфни јазли може да не бидат пронајдени од патологот, а проценката на јазлите што се идентификувани е, генерално, ограничена на една примена на хематоксилин-еозин слајд. Со бројните секции и имунохистохемиски обојувања кои можат да бидат применети на сентинелните јазли, точноста на стејџирањето е зголемена. Иако во врска со ова се поставија прашања поврзани со тоа колку се значајни одредени микроскопски или субмикроскопски метастази во сентинелните јазли, сепак, сентинелната процедура ја направи покомплетна постапката при која се утврдува кои јазли се дефинитивно негативни. Ова би можело да значи дека освен што оваа техника дозволува

безбедно да се пропушти комплетна дисекција на лимфните јазли кај пациентите со канцер на дојка и меланом, таа овозможува и пациентите со канцер на колон, кои имаат вистински негативни јазли, да бидат поштедени од хемотерапија.

Засега единствената причина за одредување на СЛЈ кај КРК е токму правилната дијагноза (ultrastaging) на лимфните јазли, чија важност за пациентите веќе ја нагласивме. 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 радикалитетот на операцијата (изоставување на лимфаденектомијата), поради што многу хирурзи се непотребно негативно фацилитирани кон идејата. Практично и да нема напишан труд на оваа тема кој во својот увод или дискусија јасно не се оградува од идејата за помала лимфаденектомија, притоа истакнувајќи ја точната дијагноза како единствен мотив за истражувањето.

Главниот проблем со кој се соочува оваа идеја кај КРК во моментот е сосема друга и многу поважна од неоправданиот скептицизам на некои. А, тоа 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.Rahbari¹⁵⁴, се направи голем чекор напред кон разјаснувањето 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 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 болест (HR, 2,24; 95% CI, 1,57–3,20).

Во студијата на Arne E. Farden et al.,¹⁵⁵ 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 микрометастатична болест отколку оние без – 23% спрема 7% (P = 0,010). Исто така, петгодишното преживување вкупно било помало кај пациентите со микрометастатична

болест отколку оние без микрометастази, и тоа 75% наспрема 93% ($P = 0,012$). Во студијата авторите заклучуваат дека присуството на микрометастатска болест во лимфните јазли е независен прогностички фактор за локален рецидив и петгодишно преживување на пациентите со КРК.

Saha et al.¹⁵⁶ е единствениот што во своето истражување вклучил 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 СЛЈ била 7%, споредена со 25% кај пациентите што не поминале низ СЛЈ мапирање.

Но, и покрај сè почестите вакви резултати во бројни студии, сепак, 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 надвлдеат 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 и исто лекување.

Испитувањата што ни стојат на располагање денес, а кои ни 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 одреди сентинелен лимфен јазол, кој ќе му служи на патологот за фокусирана анализа. Но, за тоа да влезе во клиничка употреба, потребно е најпрво да знаеме каква е сензитивноста на ваквото испитување (ако постојат метастази, тие да бидат пронајдени кај сентинелот), негативната предиктивна стапка (ако нема метастази во јазлите, тогаш со која веројатност сентинелот тоа ќе го исклучи), точноста (совпаѓење на сентинелот со другите лимфни јазли) и конечно да пронајдеме метод со кој идентификацијата на сентинелот ќе биде можна кај секој пациент, односно 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

сентинелот кај колонот, исто како и сентинелот кај дојката и малигниот меланом, е валиден за испитување. Кај дојката и кај меланомот сензитивноста и негативната предиктивна стапка се преку 90% и сè додека тоа не се постигне кај сентинелот на колонот, не може да се очекува препорака за негова клиничка употреба. Во моментот во науката се презентирани бројни студии што имаат различни резултати, кои се спротоставени меѓу себе и кои се со различна сензитивност од ниски 58%¹⁵⁷ до високи 100%^{158,159,160,161}. За ова објаснување се наоѓа во нестандартните дефиниции, а особено во искуството на хирурзите и нивниот тренинг во методот. Но, со текот на време, а 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 Tc99m. Единствената причина поради која беше потребно да се аплицира колоидот ендоскопски е за да може да се направи предоперативна селективна абдоминална слика со цел откривање аберантна лимфна дренажа кај пациентите. Стапката на детекција, односно идентификација на сентинелниот јазол беше 100%, односно од вкупно 34 пациенти, кај сите беше пронајден сентинелен јазол и тоа кај 82,35% (26/34) пациенти беше изолиран само ЕДЕН сентинел, додека кај 17,65% од пациентите (6/34) беа изолирани ДВА сентинели. Ова е важен резултат, бидејќи за разлика од методот со метиленско сино, каде што сентинели се изолираат минимум четири по пациент, со нашиот метод тој број е сведен на само еден, а ретко на два сентинели, што во практика би значело пофокусирана скапа анализа на помалку сентинелни јазли. Најголем број сентинелни лимфни јазли беа пронајдени во опсег од 3 см. од примарниот тумор и тоа кај 44,12%. 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 гама-сондата го детектира и самиот тумор, но со стекнување на првично искуство лесно се надминува овој проблем, особено доколку е вклучен специјалист по нуклеарна медицина, кој е трениран за работа со сондата, како што беше во нашата студија. Кај 31 од 34 пациенти статусот на сентинелот одговараше со другите регионални лимфни јазли, со што точноста на методот изнесува 91,1% или, во

превод, можноста да се предвиди pN статусот на пациентот со испитување само на сентинелот изнесува 91,1%. Тројцата пациенти кај кои сентинелот не се совпаднал со другите регионални јазли се, всушност, пациенти кај кои сентинелот предвидел негативен статус (не се пронајдени метастази во сентинелот), додека кај некој од регионалните јазли е пронајдена метастатска болест, значи сентинелите биле лажно негативни. Поради овие три лажно негативни сентинели од 34 пациенти сензитивноста на методот изнесува 80% (12/15), бидејќи вкупно 15 пациенти беа со pN+ статус, а негативната предиктивна стапка е 86,36 %. Од овие тројца пациенти со лажно негативен сентинел забележливо е дека сите тројца се мажи, а ниту една не е жена, иако поради малиот број 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. Исто така, од резултатите е забележливо дека сите пациенти со лажно негативен сентинел имале напредната локална болест, и тоа двајца ШВ, а еден IVa стадиум на болест (се работи за пациент со микроскопска перитонеална дисеминација невидлива за голо око). Исто така, сите пациенти се во висок T стадиум, еден T3 и двајца T4a. Од ова може да се заклучи дека шансите за лажно негативен резултат се поголеми кај пациентите со напредната локална болест, односно голем тумор. Кога би ги разгледувале само пациентите со T1 и T2 тумори, тогаш сензитивноста и негативната предиктивна стапка би биле 100%. Ова е во согласност и со испитувањето на некои други автори, кои методот го препорачуваат за тумори во низок стадиум. Кај високиот стадиум на болест некои од лимфните јазли целосно се заменети со туморски депозити, поради што и доаѓа до редистрибуција на лимфната дренажа кон нови лимфни јазли (skip метастази) кај кои во тој момент нема метастази и, следствено на тоа, се добиваат лажно негативни резултати.

Со употреба на три антители за имунохистохемија, кај двајца пациенти 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 што со конвенционалното хематоксилин-еозин бојење се означени дефинитивно како pN0. Со тоа миграцијата во повисок стадиум на болест (upstaging) во нашата студија изнесуваше 10,5% (2/19). Но, овде мора да се истакне дека кај тројца пациенти сентинелот беше

ексклузивно место на метастази (само сентинелот беше позитивен од сите изолирани регионални јазли), што е од големо значење, бидејќи тој од страна на патологот можеби и не би бил пронајден. Некои автори ова го сметаат за релативен upstaging и е во поддршка за самиот концепт на испитувањето. Кога овој релативен апстејџинг би го додале на вистинскиот, тогаш вкупниот upstaging во оваа студија би изнесувал 26,3% (5/19).

Во нашата студија кај ниту еден пациент не докажавме постоење на аберантна лимфна дренажа, иако во некои студии таа се движи 1–7%. Но, и во моментов, со денешните стандарди, не се трага предоперативно по аберантна лимфна дренажа и единствено концептот на сентинелен јазол неа систематски ја испитува. Кога таа не би била предмет на анализа (и онака е со мал процент застапена, а, во исто време, по неа може да се трага интраоперативно со гама-сондата), тогаш клиничкиот протокол би бил многу поедноставен отколку во нашата студија. Имено, радиоколоидот би се инјектирал супсерозно за време на оперативниот зафат, и по половина час ин виво или по ресекција на препаратот екс виво, со гама-сонда би се идентификувал сентинелот. Единствено ректалните карциноми би барале ректоскопска апликација, доколку тие пациенти не се неoadјувантно третирани. Со ова, практично, целиот сентинел-протокол би се состоел од интервенции што се многу едноставни и за кратко време изводливи во клиничката практика, а значително би го подобриле стјџингот на пациентите.

Од добро изведените, мултицентрични, рандомизирани студии во науката особено се издвојуваат:

Stojadinovic et al.¹⁶² покажа дека конвенционалниот патолошки стејџинг е помалку ефективен од стејџингот што се базира на екс виво 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%, точноста, пак, 90,7%. Фокусираната анализа на сентинелниот лимфен јазол идентификувала метастази кај 57% од пациентите, споредено со 31% кај конвенционалниот стејџинг. 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 сентинел лимфниот 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 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 Bilchik et al.⁹ 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 три сентинелни лимфни јазли и целосен број на 14,5 испитани лимфни јазли, што е во согласност со денешните препораки за бројот на лимфни јазли што треба да бидат анализирани. Процентот на погрешно оценети како негативни, дефиниран како можност да не се пронајде тумор 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.

Vembenek 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% со микрометастази. Аберантно дренирање било идентификувано кај 1,6% од пациентите. За разлика од студијата на Стојадиновиќ, биопсијата на сентинелниот лимфен јазол била спроведена ин виво 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 такви процедури.

Во студијата на Van der Zaag et al.¹⁶³, 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, Ber-EP4) со што првично обележаните лимфни јазли како No при употреба само на ХЕ боење се апстејдирани на N+ во 33%.

Во студијата на Marki et al.¹⁶⁴, работена со метиленско сино, стапката на детекција изнесува 78%, сензитивноста на методот 75%, додека upstaging е достигнат од 4% со употреба на антители кон панкератин (MNF116).

Неодамнешната метаанализа (од 2012 година) на Van der Zaag¹⁶⁵, во која се анализирали 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% (0–50%).

Спротивно, пак, на овие резултати, студијата ГАЛГБ 8001, предводена од Monica Bertagnolli¹⁶⁶, исто така работена со метиленско сино, дава сосема поинакви резултати со стапка на детекција од 92% и многу ниска сензитивност од 58%, како и ниска негативна предиктивна стапка од 58%. Но, ако се погледне дизајнот на оваа мултицентрична студија, која вклучувала 25 хирурзи од 13 институции во САД, кои извеле само 72 биопсии на сентинелен лимфен јазол (помалку од три интервенции по хирург), се става под знак прашалник квалитетот на резултатите во оваа студија. Дополнително, во оваа студија не бил употребуван никаков посебен метод за откривање на микрометастази во сентинелите (ниту имунохистохемија ниту RT-PCR) и поради тоа и ниската сензитивност и НПС во оваа студија. Сепак, овој факт не го спречил авторот на еден од најдобрите учебници по дигестивана хирургија (Maingot's abdominal operations) во последното издание на оваа книга, а врз база само на ова истражување, да заклучи дека нема понатамошна потреба од истражување на ова поле.

Од студиите што користеле радиокоolid како метод за откривање на сентинелот кај КРК, а се многу малку на број, најдобро дизајнирана и изведена е студијата на van

Scheltinga et al.¹⁶⁷ Во оваа студија е користен Technitium 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 пациенти, првично означени со ХЕ како No, или 8,2%.

Неодамнешна студија од Норвешка¹⁶⁸, од 2012 година, анализираше вкупно 14 пациенти со употреба на радиоактивен колоид на Tc99m, 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 негативната предиктивна стапка – 33%. Била забележана аберантна лимфна дренажа кај еден пациент. Со употреба на имунохистохемија биле апстејцирани 7% од пациентите.

Во студијата на Kitigawa et al.¹⁶⁹, работена со радиоколоид, 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), што значи дека кај четворица пациенти имало лажно негативен резултат кај СЛЈ. Авторите заклучиле дека употребата на радиоколоид е безбедна, а дека методот е погоден начин за ултрастејџинг кај T1 и T2 тумори на колонот, со оглед дека сите четири лажно негативни резултати се јавиле кај напреднати T3 тумори.

За разлика од метиленското сино, кое сè уште најшироко се употребува како метод за изолирање на СЛЈ, методот со радиоколоид има неколку предности. Прво, со оглед дека 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 СЛЈ¹⁷⁰. 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 обезитноста, на пример, се избегнати¹⁷¹. И, 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.

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 исти 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 патологијата и нуклеарната медицина се, исто така, критични компоненти. Кај патологијата точната проценка и соодветното обојување се неопходни не само за да бидат идентификувани метастазите туку и за да се избегнат лажно негативни резултати. Техниките што се користат за ова мапирање се подобруваат секојдневно со напредокот на технологијата. Радиофармацевтските препарати во тоа, 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.

И, навистина, живееме во ера на минимално инвазивна медицина, која има главна цел намалување на морбидитетот и побрзо закрепнување на пациентите по медицинските интервенции, најчесто хируршките интервенции. Имајќи предвид дека трансаналната ендоскопска микрохирургија (ТЕМ) е сè почеста кај пациентите, со оглед на тоа што скрининг-програмите во развиените земји кај хирурзите носат сè поголем број пациенти со рана болест, мали тумори, и тука сентинелниот јазол би играл голема улога. Засега ТЕМ се препорачува кај пациентите со Т1 тумор, кој е добро диференциран и не поголем од 2 см. Сите тумори над овие параметри бараат ресекциона, голема хирургија, бидејќи кај нив шансите за метастази во лимфните јазли се поголеми од 22%. Кога би можеле да најдеме начин за испитување на сентинелниот јазол кај пациентите предоперативно, тогаш голем број од пациентите што немаат метастази во лимфните јазли, а се со Т2 големина или лошо диференцирани, би добиле можност за минимално инвазивна ТЕМ процедура што би било во духот на времето во кое живееме.

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, а веруваме во не толку далечна иднина, ќе може да биде многу корисно средство во лекувањето на пациентите со низок стадиум на болест. 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. Со оглед на тоа што ваквиот број пациенти се зголемува, би било добро преку вакви истражувања навремено да се адресираат дилемите очекувани во иднина.

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

6. ЗАКЛУЧОЦИ

1. Одредувањето на сентинелниот лимфен јазол кај колоректалниот карцином со употреба на радиоактивно обележан колоид со Tc99m е можно, безбедно и едноставно следено со висока стапка на идентификација, сензитивност и негативна предиктивна вредност за другите регионални лимфни јазли.
2. Преку фокусирана и екстензивна патохистолошка анализа на само еден сентинелен јазол, може да се очекува миграција на пациентите (upstaging) во процент што би ја оправдал ваквата клиничка употреба.
3. Преку големи, мултицентрични, рандомизирани клинички студии е потребно јасно да се дефинира улогата на микрометастазите (pNmi+) како прогностички фактор кај пациентите со колоректален карцином.
4. Потребно е стандардизирање на дефинициите во понатамошните клинички испитувања на оваа тема со цел да се објективизираат резултатите што произлегуваат од нив и нивна правилна интерпретација и споредба.
5. Одредувањето на сентинелниот лимфен јазол е мултидисциплинарен процес, кој ги вклучува хирургијата, патологијата и нуклеарната медицина, со единствена цел – точен стејџинг на пациентите со колоректален карцином од кој понатаму зависи нивниот онколошки третман.

7. АПСТРАКТ

Вовед: Присуството на метастази во регионалните лимфни јазли е најзначајниот прогностички фактор кај пациентите болни од колоректален карцином. Одредувањето на сентинелниот лимфен јазол значително би придонел во точната анализа и во конечната дијагноза кај овие пациенти, несомнено влијаејќи на тераписките одлуки. Целта на оваа докторска дисертација беше да се процени валидноста на сентинелниот лимфен јазол кај пациентите со колоректален карцином, со употреба на колоид обележан со Tc99m, како и процентот на upstaging при неговата патохистолошката анализа со употреба на имунохистохемија.

Материјал и методи: Студијата беше дизајнирана како проспективна контролирана студија и се изведуваше на Универзитетската клиниката за дигестивна хирургија во Скопје во период од 30 месеци (2013–2015 година). Сите пациенти потпишаа информирана согласност за учество во студијата. Колоидот на Tc99m беше по ендоскопски пат инјектиран супсерозно околу туморот во количина од 4 мл, односно доза од 148 MBq. По апликацијата е направена селективна абдоминална слика на раната дистрибуција на колоидот низ лимфните јазли до сентинелот. Пациентите се оперираа наредниот ден со стандардна хируршка техника, која вклучуваше комплетна регионална лимфаденектомија. Ex vivo, со помош на гама-сцинтилациона сонда, беше пронајден и изолиран сентинелниот лимфен јазол со најголема радиоактивност и посебно испратен за патохистолошка анализа, која вклучуваше, покрај стандардните, и имунохистохемиски боења за откривање на микрометастатска болест.

Резултати: Во оваа проспективна контролирана студија беа вклучени вкупно 94 пациенти, од кои 34 поминаа низ целосниот клинички протокол по исполнувањето на инклузионите и на ексклузионите критериуми. Кај сите пациенти беше изолиран барем еден сентинелен лимфен јазол (средно 1,17), со што стапката на детекција со овој метод изнесува 100%. Кај 31 од 34 пациенти сентинелниот лимфен јазол точно го предвиде статусот на другите регионални лимфни јазли, со што точноста на методот изнесува 91,1%. Кај тројца пациенти добивме лажно негативен резултат (сентинелот беше негативен, додека некој од другите регионални јазли – позитивен), поради што сензитивноста на

методот е 80%, додека негативната предиктивна стапка е 86,36%. Со употреба на имунохистохемија, кај двајца пациенти беа пронајдени микрометастази, кои не беа видливи со стандардните хематоксин/еозин боења. Со ова добивме вистински upstaging од 10,5 %, со оглед на тоа што во студијата 15 пациенти беа N(+) додека 19 N(-) со конвенционалните боења. Кај тројца пациенти сентинелот беше ексклузивно место на откриените метастази од сите изолирани регионални лимфни јазли. Во оваа студија кај ниту еден пациент не пронајдовме аберантна лимфна дренажа.

Заклучок: Одредувањето на сентинелниот лимфен јазол кај колоректалниот карцином со употреба на радиоактивен колоид на Tc99m е можно, едноставно за изведба и со голема сензитивност и со негативна предиктивна стапка што е слична на другите методи што користат метиленско сино. Корисноста на самото сентинелно испитување треба да се докаже во поголеми рандомизирани, мултицентрични студии и засега клиничките одлуки за толкувањето на пронајдените микрометастази останува контроверзно и треба да се ограничени во рамки на клиничките студии. Сепак, во време на минимално инвазивна медицина овој концепт на сентинелен лимфен јазол кај колоректалниот карцином веруваме дека ќе си го добие своето место во клиничките протоколи за лекување на овие тешко болни пациенти.

Клучни зборови: колоректален карцином, сентинел лимфен јазол, микрометастази, нодален ultrastaging, радиоактивен колоид, имунохистохемија

8. ABSTRACT

Introduction: The presence of metastasis in the regional lymph nodes is the most important prognostic factor in patients with colorectal cancer. The identification of the sentinel lymph node could significantly improve the accuracy of the analysis and the definite diagnosis in this patients and would undoubtedly influence the decision on appropriate therapy. The goal of this doctoral thesis is to evaluate the validity of the sentinel lymph node in colorectal cancer patients by using the Tc99m marked colloid, as well as the percentage of upstaging when applying histopathological analysis using immunohistochemistry.

Material and methods: This study has been designed as a prospective controlled study at the University Clinic for Digestive Surgery in Skopje in the period of 30 months (in 2013-2015). All patients included in the study have signed an informed consent form. The Tc99m colloid has been injected around the tumor submucosally, through endoscopy in the amount of 4 ml or one dose of 148 MBq. After the application a selective abdominal imaging on gama camera has been done to detect the distribution of the colloid through the lymph nodes to the sentinel node. The patients have been operated on the next day using a standard surgical technique involving complete regional lymphadenectomy. Using a gamma scintillation probe the most radioactive sentinel lymph node was detected and isolated *ex vivo*, and directed for histopathological analysis which applied not only the standard staining but also immunohistochemistry to detect the micrometastases.

Results: This prospective controlled study involved 94 patients and 34 of them who have met all inclusion and exclusion criteria have been subjected to a complete clinical protocol. In all patients at least one sentinel lymph node was identified (median number 1.17) which makes for a 100% detection rate. In 31 out of 34 patients the sentinel lymph node has accurately predicted the status of the rest of the regional nodes which makes the accuracy of the method to be at 91.1%. With 3 patients there was a false negative result (the sentinel node was negative while some of the other regional nodes were positive) which makes the sensitivity of the method to be 80% while the negative predictive value is 86.36%. Using immunohistochemistry helped detect

micrometastases in 2 patients which would have remained undetected if standard hemotoxillin/eosin staining has been applied. Since 15 patients in this study have been N(+) while 19 N(-) using conventional staining, this has contributed to the upstaging of 10.5% of the patients. In 3 patients the sentinel node, from all the isolated nodes, was the exclusive location where metastases were detected. Aberrant lymphatic drainage was not detected in any of the patients in this study.

Conclusion: The identification of the sentinel lymph node in colorectal cancer applying the radioactive Tc99m colloid is possible, simply done and provides great sensitivity, while its negative predictive value is similar to the other methods that use blue dye as a mapping agent. The extent of the usefulness of sentinel node identification should be researched in bigger in size, randomized and multi-centric studies and for the time being the clinical decisions on interpreting the detected micrometastasis remain controversial and should be limited to clinical studies. Nevertheless in the era of minimally invasive medical procedures we believe that the concept of sentinel lymph node in colorectal cancer will gain its importance and find its place among the arsenal of clinical options for fighting this terrible disease.

Key words: colorectal cancer, sentinel lymph node, micrometastases, nodal ultrastaging, radioactive colloid, immunohistochemistry.

9. ИНДЕКС

ASA – American Society of Anesthesiologists

КРК – колоректален карцином

AJCC – American Joint Committee on Cancer

UICC – Union for International Cancer Control

ИТК – изолирани туморски клетки

QUASAR – Quick and Simple And Reliable

LNR – Lymph Node Ratio

CME – Complete mesocolic excision

TME – Total mesorectal excision

ММ – микрометастази

СЛЈ – сентинелен лимфен јазол

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

10. РЕФЕРЕНЦИ И ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014;64:9–29.
- ² Zinner et al. *Maingot's Abdominal Operations*, 12th Edition (Zinner, *Maingot's Abdominal Operations*).
- ³ MacDonald JS. Adjuvant therapy of colon cancer. *CA Cancer J Clin.* 1999;49:202–219.
- ⁴ Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C, editors. *International Union Against Cancer. TNM Classification of Malignant Tumors*. 7th ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009, ISBN: 978-1-4443-3241-4.
- ⁵ Edge SB, Byrd SR, Compton CC, et al. eds. *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York: Colon and rectum. In: Springer-Verlag; 2010:143–164.
- ⁶ Andre T, Boni C, Navarro M, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol.* 2009;27:3109–3116.
- ⁷ Graham JS, Cassidy J. Adjuvant therapy in colon cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2012;12:99–109.
- ⁸ Kuebler JP, Wieand HS, O'Connell MJ, et al. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. *J Clin Oncol.* 2007;25:2198–2204.
- ⁹ Bilchik AJ, DiNome M, Saha S, et al. Prospective multicenter trial of staging adequacy in colon cancer. *Arch Surg.* 2006;141:527–534.
- ¹⁰ Weitz J, Koch M, Debus J, et al. Colorectal cancer. *Lancet.* 2005;365:153–165.
- ¹¹ 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.
- ¹² 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.
- ¹³ Benson AB, Bekaii-Saab T, Chan E, Chen YJ, Choti MA, Cooper HS, Engstrom PF, Enzinger PC, Fakih MG, Fuchs CS, Grem JL, Hunt S, Leong LA, Lin E, Martin MG, May KS, Mulcahy MF, Murphy K, Rohren E, Ryan DP, Saltz L, Sharma S, Shibata D, Skibber JM, Small W, Sofocleous CT, Venook AP, Willett CG, Freedman-Cass DA, Gregory KM. Rectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2012; 10: 1528-1564.

- ¹⁴ Benson AB, Arnoletti JP, Bekaii-Saab T, Chan E, Chen YJ, Choti MA, Cooper HS, Dilawari RA, Engstrom PF, Enzinger PC, Fleshman JW, Fuchs CS, Grem JL, Knol JA, Leong LA, Lin E, May KS, Mulcahy MF, Murphy K, Rohren E, Ryan DP, Saltz L, Sharma S, Shibata D, Skibber JM, Small W, Sofocleous CT, Venook AP, Willett C. Colon cancer. *J Natl ComprCanc Netw* 2011; 9: 1238-1290.
- ¹⁵ Fielding LP, Arsenault PA, Chapuis PH, Dent O, Gathright B, Hardcastle JD, Hermanek P, Jass JR, Newland RC. Clinicopathological staging for colorectal cancer: an International Documentation System (IDS) and an International Com-Resch A et al . Lymph node staging in colorectal cancer *WJG*|www.wjgnet.com 8524 December 14, 2013|Volume 19|Issue 46|prehensive Anatomical Terminology (ICAT). *J GastroenteroHepatol* 1991; 6: 325-344.
- ¹⁶ Chen SL, Bilchik AJ. More extensive nodal dissection improves survivalfor stages I to III of colon cancer: a population-based study. *Ann Surg.*2006;244:602–610.
- ¹⁷ Kim SH, Ha TK, Kwon SJ. Evaluation of the 7th AJCC TNMstaging systemin point of lymph node classification.*J Gastric Cancer.* 2011;11:94–100.
- ¹⁸ Johnson PM, Porter GA, Ricciardi R, et al. Increasing negative lymph nodecount is independently associated with improved long-term survival in stage IIIB and IIIC colon cancer. *J Clin Oncol.* 2006; 24:3570–3575.
- ¹⁹ Chen SL, Steele SR, Eberhardt J, et al. Lymph node ratio as a quality andprognostic indicator in stage III colon cancer. *Ann Surg.* 2011;253:82–87.
- ²⁰ Hong KD, Lee SI, Moon YH. Lymph node ratio as determined by the 7thedition of theAmerican Joint Committee on Cancer staging systempredictssurvival in stage III colon cancer. *J Surg Oncol.* 2011;103:406–410.
- ²¹ Wang J, Hassett JM, DaytonMT, et al. Lymph node ratio: role in the stagingof node-positive colon cancer. *Ann Surg Oncol.* 2008;15:1600–1608.
- ²² Wong SL. Lymph node evaluation in colon cancer: assessing the linkbetween quality indicators and quality. *JAMA.* 2011;306:1139–1141.
- ²³ Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, GuillemJ, Miedema B, Ota D, Sargent D. Guidelines 2000 forcolon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:583-596.
- ²⁴ Pickren JW. Current concepts in cancer.Nodal clearanceand detection.*JAMA* 1975; 231: 969-971.
- ²⁵ Scott KW, Grace RH. Detection of lymph node metastasesin colorectal carcinoma before and after fat clearance.*Br JSurg* 1989; 76: 1165-1167.

- ²⁶ Cawthorn SJ, Gibbs NM, Marks CG. Clearance technique for the detection of lymph nodes in colorectal cancer. *Br JSurg* 1986; 73: 58-60.
- ²⁷ Jass JR, Miller K, Northover JM. Fat clearance method versus manual dissection of lymph nodes in specimens of rectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 1986; 1: 155-156.
- ²⁸ Wright FC, Law CH, Last LD, Ritacco R, Kumar D, Hsieh E, Khalifa M, Smith AJ. Barriers to optimal assessment of lymph nodes in colorectal cancer specimens. *Am J Clin Pathol* 2004; 121: 663-670.
- ²⁹ Fleshman JW. Total number of lymph nodes as a quality of care measure for stage III colon cancer: is it reliable as a quality indicator? *Ann Surg* 2009; 249: 564.
- ³⁰ Caplin S, Cerottini JP, Bosman FT, Constanda MT, Givel JC. For patients with Dukes' B (TNM Stage II) colorectal carcinoma, examination of six or fewer lymph nodes is related to poor prognosis. *Cancer* 1998; 83: 666-672.
- ³¹ Choi HK, Law WL, Poon JT. The optimal number of lymph nodes examined in stage II colorectal cancer and its impact on outcomes. *BMC Cancer* 2010; 10: 267.
- ³² Tepper JE, O'Connell MJ, Niedzwiecki D, Hollis D, Compton C, Benson AB, Cummings B, Gunderson L, Macdonald JS, Mayer RJ. Impact of number of nodes retrieved on outcome in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19: 157-163.
- ³³ Cianchi F, Palomba A, Boddi V, Messerini L, Pucciani F, Perigli G, Becchi P, Cortesini C. Lymph node recovery from colorectal tumor specimens: recommendation for a minimum number of lymph nodes to be examined. *World J Surg* 2002; 26: 384-389.
- ³⁴ Prandi M, Lionetto R, Bini A, Francioni G, Accarpio G, Anfossi A, Ballario E, Becchi G, Bonilauri S, Carobbi A, Cavaliere P, Garcea D, Giuliani L, Morziani E, Mosca F, Mussa A, Pasqualini M, Poddie D, Tonetti F, Zardo L, Rosso R. Prognostic evaluation of stage B colon cancer patients is improved by an adequate lymphadenectomy: results of a secondary analysis of a large scale adjuvant trial. *Ann Surg* 2002; 235: 458-463.
- ³⁵ Law CH, Wright FC, Rapanos T, Alzahrani M, Hanna SS, Khalifa M, Smith AJ. Impact of lymph node retrieval and pathological ultra-staging on the prognosis of stage II colon cancer. *J Surg Oncol* 2003; 84: 120-126.
- ³⁶ Tsai HL, Lu CY, Hsieh JS, Wu DC, Jan CM, Chai CY, Chu KS, Chan HM, Wang JY. The prognostic significance of total lymph node harvest in patients with T2-4N0M0 colorectal cancer. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 660-665.

- ³⁷ Vather R, Sammour T, Zargar-Shoshtari K, Metcalf P, Connolly A, Hill A. Lymph node examination as a predictor of long-term outcome in Dukes B colon cancer. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 283-288.
- ³⁸ Baxter NN, Ricciardi R, Simunovic M, Urbach DR, Virnig BA. An evaluation of the relationship between lymph node number and staging in pT3 colon cancer using population-based data. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 65-70.
- ³⁹ 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.
- ⁴⁰ De Ridder M, Vinh-Hung V, Van Nieuwenhove Y, Hoorens A, Sermeus A, Storme G. Prognostic value of the lymph node ratio in node positive colon cancer. *Gut* 2006; 55: 1681.
- ⁴¹ Lee HY, Choi HJ, Park KJ, Shin JS, Kwon HC, Roh MS, Kim C. Prognostic significance of metastatic lymph node ratio in node-positive colon carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 1712-1717.
- ⁴² Schumacher P, Dineen S, Barnett C, Fleming J, Anthony T. The metastatic lymph node ratio predicts survival in colon cancer. *Am J Surg* 2007; 194: 827-831; discussion 831-832.
- ⁴³ Wang J, Hassett JM, Dayton MT, Kulaylat MN. Lymph node ratio: role in the staging of node-positive colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1600-1608.
- ⁴⁴ Park IJ, Choi GS, Jun SH. Nodal stage of stage III colon cancer: the impact of metastatic lymph node ratio. *J Surg Oncol* 2009; 100: 240-243.
- ⁴⁵ Wang J, Kulaylat M, Rockette H, Hassett J, Rajput A, Dunn KB, Dayton M. Should total number of lymph nodes be used as a quality of care measure for stage III colon cancer? *Ann Surg* 2009; 249: 559-563.
- ⁴⁶ Peschard F, Benoist S, Julié C, Beauchet A, Penna C, Rougier P, Nordlinger B. The ratio of metastatic to examined lymph nodes is a powerful independent prognostic factor in rectal cancer. *Ann Surg* 2008; 248: 1067-1073.
- ⁴⁷ Rosenberg R, Friederichs J, Schuster T, Gertler R, Maak M, Becker K, Grebner A, Ulm K, Höfler H, Nekarda H, Siewert JR. Prognosis of patients with colorectal cancer is associated with lymph node ratio: a single-center analysis of 3,026 patients over a 25-year time period. *Ann Surg* 2008; 248: 968-978.
- ⁴⁸ Rosenberg R, Engel J, Bruns C, Heitland W, Hermes N, Jauch KW, Kopp R, Pütterich E, Ruppert R, Schuster T, Friess H, Hölzel D. The prognostic value of lymph node ratio in a population-based collective of colorectal cancer patients. *Ann Surg* 2010; 251: 1070-1078.

- ⁴⁹ Telian SH, Bilchik AJ. Significance of the lymph node ratio in stage III colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1557-1558.
- ⁵⁰ Lane RHS, Thompson MR, Whatley P, et al. Effect of specialisation on outcome in patients having surgery for rectal cancer *Gut* 1999;44 Suppl 1:T63.
- ⁵¹ Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, Hammond ME, Henson DE, Hutter RV, Nagle RB, Nielsen ML, Sargent DJ, Taylor CR, Welton M, Willett C. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 979-994.
- ⁵² Monig SP, Baldus SE, Zirbes TK, Schroder W, Lindemann DG, Dienes HP, et al. Lymph node size and metastatic infiltration in colon cancer. *Ann Surg Oncol*. 1999;6:579-581.
- ⁵³ Herrera-Ornelas L, Justiniano J, Castillo N, et al: Metastases in small nodes from colon cancer. *Arch Surg* 122:1253-1256, 1987.
- ⁵⁴ Simunovic M, Baxter NN. Lymph node counts in colon cancer surgery: lessons for users of quality indicators. *JAMA* 2007; 298: 2194-2195.
- ⁵⁵ Shen SS, Haupt BX, Ro JY, Zhu J, Bailey HR, Schwartz MR. Number of lymph nodes examined and associated clinicopathologic factors in colorectal carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 781-786.
- ⁵⁶ Okuyama T, Oya M, Ishikawa H. Budding as a risk factor for lymph node metastasis in pT1 or pT2 well-differentiated colorectal adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 2002; 45:628-634.
- ⁵⁷ Tekkis PP, Smith JJ, Heriot AG, Darzi AW, Thompson MR, Stamatakis JD. A national study on lymph node retrieval in resectional surgery for colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 1673-1683.
- ⁵⁸ Canessa CE, Badía F, Fierro S, Fiol V, Háyek G. Anatomic study of the lymph nodes of the mesorectum. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1333-1336.
- ⁵⁹ Topor B, Acland R, Kolodko V, Galandiuk S. Mesorectal lymph nodes: their location and distribution within the mesorectum. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 779-785.
- ⁶⁰ Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, Tosolini M, Camus M, Berger A, Wind P, Zinzindohoué F, Bruneval P, Cugnenc PH, Trajanoski Z, Fridman WH, Pagès F. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 2006; 313: 1960-1964.
- ⁶¹ Galon J, Fridman WH, Pagès F. The adaptive immunologic microenvironment in colorectal cancer: a novel perspective. *Cancer Res* 2007; 67: 1883-1886.

- ⁶² Søreide K, Janssen EA, Söiland H, Körner H, Baak JP. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Br J Surg* 2006; 93:395-406.
- ⁶³ Søreide K, Nedrebø BS, Søreide JA, Slewa A, Körner H. Lymph node harvest in colon cancer: influence of microsatellite instability and proximal tumor location. *World J Surg* 2009; 33: 2695-2703.
- ⁶⁴ Rullier A, Laurent C, Capdepon M, Vendrely V, Belleannée G, Bioulac-Sage P, Rullier E. Lymph nodes after preoperative chemoradiotherapy for rectal carcinoma: number, status, and impact on survival. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 45-50.
- ⁶⁵ Baxter NN, Morris AM, Rothenberger DA, Tepper JE. Impact of preoperative radiation for rectal cancer on subsequent lymph node evaluation: a population-based analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 61: 426-431.
- ⁶⁶ Doll D, Gertler R, Maak M, Friederichs J, Becker K, Geinitz H, Kriner M, Nekarda H, Siewert JR, Rosenberg R. Reduced lymph node yield in rectal carcinoma specimen after neoadjuvant radiochemotherapy has no prognostic relevance. *World J Surg* 2009; 33: 340-347.
- ⁶⁷ Morcos B, Baker B, Al Masri M, Haddad H, Hashem S. Lymph node yield in rectal cancer surgery: effect of preoperative chemoradiotherapy. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 345-349.
- ⁶⁸ Wijesuriya RE, Deen KI, Hewavisenthi J, Balawardana J, Perera M. Neoadjuvant therapy for rectal cancer down-stages the tumor but reduces lymph node harvest significantly. *Surg Today* 2005; 35: 442-445.
- ⁶⁹ Wichmann MW, Müller C, Meyer G, Strauss T, Hornung HM, Lau-Werner U, Angele MK, Schildberg FW. Effect of preoperative radiochemotherapy on lymph node retrieval after resection of rectal cancer. *Arch Surg* 2002; 137: 206-210.
- ⁷⁰ Nagtegaal ID, van Krieken JH. The role of pathologists in the quality control of diagnosis and treatment of rectal cancer—an overview. *Eur J Cancer* 2002; 38: 964-972.
- ⁷¹ Habr-Gama A, Perez RO, Proscurshim I, Rawet V, Pereira DD, Sousa AH, Kiss D, Ceconello I. Absence of lymph nodes 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.
- ⁷² Kim YW, Kim NK, Min BS, Lee KY, Sohn SK, Cho CH, Kim H, Keum KC, Ahn JB. The prognostic impact of the number of lymph nodes retrieved after neoadjuvant chemoradiotherapy with mesorectal excision for rectal cancer. *J Surg Oncol* 2009; 100: 1-7.

- ⁷³ Nicastrì DG, Doucette JT, Godfrey TE, Hughes SJ: Is occult lymph node disease in colorectal cancer patients clinically significant? A review of the relevant literature. *J Mol Diagn* 2007, 9:563-571.
- ⁷⁴ Iddings D, Ahmad A, Elashoff D, Bilchik A: The prognostic effect of micrometastases in previously staged lymph node negative (N0) colorectal carcinoma: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2006, 13:1386-1392.
- ⁷⁵ Bilchik A, Nissan A, Wainberg Z, Shen P, McCarter M, Protic M, et al: Surgical quality and nodal ultrastaging is associated with long-term disease-free survival in early colorectal cancer: an analysis of 2 international multicenter prospective trials. *Ann Surg* 2010, 252:467-474.
- ⁷⁶ Rahbari NN, Bork U, Motschall E, Thorlund K, Bùchler MW, Koch M, Weitz J. 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.
- ⁷⁷ Wolmark N, Fisher B, Wieand HS (1986) The prognostic value of the modifications of the Dukes' C class of colorectal cancer. An analysis of the NSABP clinical trials. *Ann Surg* 203:115-122.
- ⁷⁸ Nordgård O, Oltedal S, Kørner H, Aasprong OG, Tjensvoll K, Gilje B, Heikkilä R. Quantitative RT-PCR detection of tumor cells in sentinel lymph nodes isolated from colon cancer patients with an ex vivo approach. *Ann Surg* 2009; 249: 602-607.
- ⁷⁹ Van der Zaag ES, Buskens CJ, Kooij N, Akol H, Peters HM, Bouma WH, et al: Improving staging accuracy in colon and rectal cancer by sentinel lymph node mapping: A comparative study. *Eur J Surg Oncol* 2009,35:1065-1070.
- ⁸⁰ Davies M, Arumugam PJ, Shah VI, Watkins A, Roger MA, Carr ND, et al: The clinical significance of lymph node micrometastasis in stage I and stage II colorectal cancer. *Clin Transl Oncol* 2008, 10:175-179.
- ⁸¹ Saha S, Monson KM, Bilchik A, Beutler T, Dan AG, Schochet E, et al: Comparative analysis of nodal upstaging between colon and rectal cancers by sentinel lymph node mapping: a prospective trial. *Dis Colon Rectum* 2004, 47:1767-1772.
- ⁸² Bembenek AE, Rosenberg R, Wagler E, Gretschel S, Sendler A, Siewert JR, et al: Sentinel lymph node biopsy in colon cancer: a prospective multicenter trial. *Ann Surg* 2007, 245:858-863.
- ⁸³ 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; 127: 392-399.

- ⁸⁴ Aselli G. De Lactibus sive Lacteis Venis, Quarto Vasorum Mesarai Corum Genere Invento. Milan, Italy: J. B. Bidellius; 1627.
- ⁸⁵ Hewson W. An Inquiry into the Properties of the Blood. In: Gulliver G, ed. The Works of William Hewson FRS. London: Sydenham Society; 1846.
- ⁸⁶ Bartholin T. De Lacteis Thoracis in Homine Brutisque Nuperrime Observatis. Martzan M, ed. Copenhagen: Hafniae; 1652.
- ⁸⁷ Virchow R. Die Krankhaften Geschwulste. Berlin, Germany: August Hirschwald; 1863.
- ⁸⁸ Virchow RLK. Cellular Pathology 1859. Special Edition. London: John Churchill; 1978:204–207.
- ⁸⁹ Gerota D, Zur Technik der Lymphgefassinjection. Eine neue injections Masse für Lymphgefass. Polychrom Inject Anat Anzeiger. 1896;12:216–224.
- ⁹⁰ Hudack SS, McMaster PD. The lymphatic participation in human cutaneous phenomena, J Exp Med. 1933;57:751-775.
- ⁹¹ Sage HH, Gozun BV. Lymphatic scintigrams: a method for studying the functional pattern of lymphatics and lymph nodes. Cancer. 1958;11:200-203.
- ⁹² 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.
- ⁹³ 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.
- ⁹⁴ Cabañas RM. El tratamiento ganglionar en el cancer del pene [thesis]. New York: 1975.
- ⁹⁵ Gould EA, Winship T, Philbin PH, et al. Observations on a “sentinel node” in cancer of the parotid. Cancer. 1960;20:77-18.
- ⁹⁶ Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. Arch Surg. 1992;127:392–399.
- ⁹⁷ Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. Ann Surg. 1994;220:391-398.
- ⁹⁸ 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.

- ⁹⁹ Zervos EE, Burak WB, Jr. Lymphatic Mapping in Solid Neoplasms: State of the Art. *Cancer Control* 2002 May-Jun;9(3):189-202.
- ¹⁰⁰ 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.
- ¹⁰¹ Wood TF, Tsioulis GJ, Morton DL, et al. Focused examination of sentinel lymph nodes upstages early colorectal carcinoma. *Am Surg*. 2000;66:998-1003.
- ¹⁰² Viehl CT, Hamel CT, Marti WR, et al. Identification of sentinel lymph nodes in colon cancer depends on the amount of dye injected relative to tumour size. *World J Surg* 2003; 27(12).
- ¹⁰³ Bembenek AE, Rosenberg R, Wagler E, Gretschel S, Sendler A, Siewert JR, Nährig J, Witzigmann H, Hauss J, Knorr C, Dimmler A, Gröne J, Buhr HJ, Haier J, Herbst H, Tepel J, Siphos B, Kleespies A, Koenigsrainer A, Stoecklein NH, Horstmann O, Grützmann R, Imdahl A, Svoboda D, Wittekind C, Schneider W, Wernecke KD, Schlag PM. Sentinel lymph node biopsy in colon cancer: a prospective multicenter trial. *Ann Surg* 2007; 245: 858-863.
- ¹⁰⁴ Thompson JF, Niewind P, Uren RF, et al. Single-dose isotope injection for both preoperative lymphoscintigraphy and intraoperative sentinel lymph node identification in melanoma patients. Thompson JF, Niewind P, Uren RF, et al. Single-dose isotope injection for both preoperative lymphoscintigraphy and intraoperative sentinel lymph node identification in melanoma patients. *Melanoma Res*. 1997;7:500-506.
- ¹⁰⁵ Nedrebø BS, Søreide K, Eriksen MT, Dorum LM, Kvaløy JT, Søreide JA, Kørner H: Survival effect of implementing national treatment strategies for curatively resected colonic and rectal cancer. *Br J Surg* 2011; 98: 716–723.
- ¹⁰⁶ Søreide K, Berg M, Skudal BS, Nedreboe BS: Advances in the understanding and treatment of colorectal cancer. *Discov Med* 2011; 12:393–404.
- ¹⁰⁷ Søreide K, Nedrebø BS, Knapp JC, Glomsaker TB, Søreide JA, Kørner H: Evolving molecular classification by genomic and proteomic biomarkers in colorectal cancer: potential implications for the surgical oncologist. *Surg Oncol* 2009; 18: 31–50.
- ¹⁰⁸ Compton CC, Greene FL: The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 295–308.
- ¹⁰⁹ Nedrebø BS, Søreide K, Eriksen MT, Kvaløy JT, Søreide 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, E-pub ahead of print.

- ¹¹⁰ 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.
- ¹¹¹ Shia J, Wang H, Nash GM, Klimstra DS: Lymphnode staging in colorectal cancer: revisiting the benchmark of at least 12 lymph nodes in r0 resection. *J Am Coll Surg* 2012; 214: 348–355.
- ¹¹² 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.
- ¹¹³ 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.
- ¹¹⁴ 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.
- ¹¹⁵ 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.
- ¹¹⁶ 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.
- ¹¹⁷ Goldstein NS, Weldon S, Coffey M, et al: Lymph node recovery from colorectal resection specimens removed for adenocarcinoma: Trends overtime and a recommendation for a minimum number of lymph nodes to be removed. *Am J Clin Pathol* 106:209-216, 1996.
- ¹¹⁸ Wong JH, Severino R, Honnebier MB, et al: Number of nodes examined and staging accuracy in colorectal carcinoma. *J Clin Oncol* 17:2896-2900, 1999.
- ¹¹⁹ 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.
- ¹²⁰ 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.
- ¹²¹ 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.

- ¹²² 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.
- ¹²³ 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.
- ¹²⁴ 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.
- ¹²⁵ Nedrebø BS, Søreide K, Nesbakken A, Tandberg Eriksen M, Søreide JA, Kørner H: Assessment of risk factors associated with poor lymph node harvest after colon cancer surgery in a national cohort. *Colorectal Dis* 2013, in press.
- ¹²⁶ 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.
- ¹²⁷ Lindboe CF: Lymph node harvest in colorectal adenocarcinoma specimens: the impact of improved fixation and examination procedures. *APMIS* 2011; 119: 347–355.
- ¹²⁸ 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.
- ¹²⁹ Newell KJ, Sawka BW, Rudrick BF, Driman DK: GEWF solution. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 642–645.
- ¹³⁰ 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.
- ¹³¹ Iversen LH, Laurberg S, Hagemann-Madsen R, Dybdahl H: Increased lymph node harvest from colorectal cancer resections using GEWF solution: a randomised study. *J Clin Pathol* 2008; 61: 1203–1208.
- ¹³² 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.
- ¹³³ Kuo YH, Lee KF, Chin CC, Huang WS, Yeh CH, 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.

- ¹³⁴ Nowaczyk P, Murawa D, Polom K, Waszyk- Nowaczyk M, Spsychala 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.
- ¹³⁵ 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* 2012, E-pub ahead of print.
- ¹³⁶ Chou JF, Row D, Gonen M, Liu YH, Schrag D, 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.
- ¹³⁷ Bilimoria KY, Palis B, Stewart AK, Bentrem DJ, Freel AC, Sigurdson ER, Talamonti MS, Ko CY: Impact of tumor location on node evaluation for colon cancer. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 154–161.
- ¹³⁸ 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.
- ¹³⁹ Søreide K: High-fidelity of five quasimonomorphic mononucleotide repeats to high frequency microsatellite instability distribution in early-stage adenocarcinoma of the colon. *Anticancer Res* 2011; 31: 967–971.
- ¹⁴⁰ Belt EJ, te 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.
- ¹⁴¹ 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 N0M0 colorectal cancer and the microsatellite instability phenotype. *Arch Surg* 2010; 145: 12–17.
- ¹⁴² MacQuarrie E, Arnason T, Gruchy J, Yan S, Drucker A, Huang WY: Microsatellite instability status does not predict total lymph node or negative lymph node retrieval in stage III colon cancer. *Hum Pathol* 2012; 43: 1258–1264.
- ¹⁴³ 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.
- ¹⁴⁴ 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.

- ¹⁴⁵ 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.
- ¹⁴⁶ 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.e1,805–807.
- ¹⁴⁷ Vaccaro CA, Im V, Rossi GL, Quintana GO, Benati ML, Perez de Arenaza D, Bonadeo FA: Lymph node ratio as prognosis factor for colon cancer treated by colorectal surgeons. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 1244–1250.
- ¹⁴⁸ Park IJ, Choi GS, Jun SH: Nodal stage of stage III colon cancer: the impact of metastatic lymph node ratio. *J Surg Oncol* 2009; 100:240–243.
- ¹⁴⁹ Wang J, Hassett JM, Dayton MT, Kulaylat MN: Lymph node ratio: role in the staging of node-positive colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1600–1608.
- ¹⁵⁰ Telian SH, Bilchik AJ: Significance of the lymph node ratio in stage III colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1557–1558.
- ¹⁵¹ Derwinger K, Carlsson G, Gustavsson B: A study of lymph node ratio as a prognostic marker in colon cancer. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 771–775.
- ¹⁵² De Ridder M, Vinh-Hung V, Van Nieuwenhove Y, Hoorens A, Sermeus A, Storme G: Prognostic value of the lymph node ratio in node positive colon cancer. *Gut* 2006; 55: 1681.
- ¹⁵³ Lykke J, Roikjaer O, Jess P, Danish Colorectal Cancer Group: The relation between lymph node status and survival in stage I–III colon cancer: results from a prospective nationwide cohort study. *Colorectal Dis* 2012, E-pub ahead of print.
- ¹⁵⁴ Rahbari NN, Bork U, Mottschall 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* 54:200-206, 2011.
- 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.
- ¹⁶³ 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.
- ¹⁶⁴ 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.
- ¹⁶⁵ 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.
- ¹⁶⁶ Bertagnolli M, Miedema B, Redston M, et al. Sentinel node staging of respectable colon cancer: results of a multicenter study. *Ann Surg*. 2004;240:624–630.
- 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(S243): 153-157.
- ¹⁶⁸ de Haas RJ, Wicherts DA, Hobbelenk 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 Aug;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.

11. АНЕКС 1

Информација за испитаникот

Име на студијата: ВАЛИДНОСТА НА СЕНТИНЕЛНИОТ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ КАЈ ПАЦИЕНТИ СО КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ ИЗОЛИРАН СО УПОТРЕБА НА РАДИОАКТИВЕН КОЛОИД НА Tc99m

Претставувана од: д-р Светозар Антовиќ, mail: svetozarantovic@yahoo.com
Универзитетска клиника за дигестивна хирургија
Водњанска б.б. 1000, Скопје
тел. +389 (0) 23147026

Ве молиме да го прочитате внимателно овој документ

Ве повикуваме за учество во клиничка студија. Пред да ја дадете вашата согласност потребно е целосно да ја разберете студијата, зошто се спроведува и што ќе вклучува. Поставете прашања за сите информации кои не ви се јасни. Претставникот на студијата е тука да одговори веднаш или во било кое време во текот на студијата.

Информација за испитаникот

1. Зошто се прави истражувањето?

Цел на ова истражување е да се одреди валидноста на сентинелниот лимфен јазол кај пациенти кои боледуваат од колоректален карцином. Имено овој лимфен јазол е од голема важност за правилна дијагноза на болеста и нејзиното понатамошно лекување. Резултатите од ова истражување би биле од голема полза за планирање на понатамошни истражувања во насока на подобрување на лекувањето на оваа тешка болест.

2. Зошто сум прифатен/а (повикан/а) да учествувам во студијата?

Ве повикуваме да учествувате во оваа студија бидејќи вие сте кандидат за оперативно лекување на потврден колоректален карцином. Ги исполнувате условите на анестезиолошка проценка за виталност и отсуство на други болести. Во текот на истражувањето ќе се направат вонстандардни анализи, кои очекуваме да го зголемат степенот на точност на дијагнозата за Вашата болест.

3. Колку луѓе ќе учествуваат во истражувачката студија?

Во студијата ќе бидат вклучени минимум 30 пациенти со колоректален карцином, со слични карактеристики како и Вашите.

4. Колку долго ќе трае моето учеството во студијата?

Вашето учество ќе трае се додека сте хоспитализирани на Клиниката за дигестивна хирургија во Скопје што очекуваме да трае 10 дена. Понатаму ќе продолжи само протоколот за следење на оперирани пациенти од колоректален карцином.

5. Што ќе се прави за да се одлучи дали сум погоден/а за учество во истражувачката студија?

Ќе се следи процедура на предоперативно испитување, ќе се направи КТ на абдоменот, ќе се направи рендгенска снимка на бели дробови, ЕКГ – испитување за работата на срцето, мерење на телесна тежина и висина. Потоа ќе следи преглед од анестезиолог. Врз основа на добиените резултати и наод од хирургот и анестезиологот се носи одлука за вклучување во студијата.

6. Кои процедури, лекови или други третмани се вклучени во истражувачката студија?

Ден пред операцијата по ендоскопски пат со колоноскопија, околу туморот ќе се инјектира радиоактивен колоид со технициум 99 (**Sentiscint Tc 99m Medi-radiofarma Ltd**) во количина од 4 мл која одговара на **4 mCi** (мили кири). Ова е дијагностички трасер, гама емитер, со ниска енергија а голем дострел, без радијационо оптоварување. Веднаш потоа на институтот за Патофизиологија со помош на гама камера (**Mediso DHV nucline spirit**) ќе се следи дистрибуцијата на колоидот правејќи на тој начин лимфен мапинг кој е важен за воочување на евентуалнта аберантна дренажа и тоа ќе трае еден час. На денот на операцијата наутро во 8:00ч се прави повторно снимање со гама камера која ја покажува доцната дистрибуција на контрастот. Потоа следи операцијата која во детали ќе ви биде објаснета од страна на хирургот. Веднаш по вадење на препаратот со гама детекторска сонда (**Europrobe**) се одредува радиоактивноста на лимфниот базен и со тоа се пронаоѓа вистинскиот СЛЈ кој е со највисока радиокативност и тој посебно се праќа за целосна патохистолошка анализа. На Институтот за патологија сите лимфни жлезди прво се третираат стандардно со ХЕ а потоа сите со имунохистохемиска метода која очекуваме да ја зголеми дијагностичката точност на анализата.

7. Кои се ризиците и непријатностите од оваа истражувачка студија?

Не постојат дополнителни ризици кои би ги имале со прифаќање на учеството во студијата. Од инвазивни испитувања кои можат да Ви предизвикаат непријатност би ја издвоиле колоноскопијата која и предходно Ви е направена заради дијагноза и биопсија на туморот и ви е објаснета во целост заедно со нејзините ризици.

8. Колку ќе влијае на мојот животен стил да бидам дел од оваа студија?

Студијата трае за време на хоспитализацијата во болница и надвор од неа нема никако да влијае на вашиот животен стил.

9. Има ли други избори за понудениот третман?

Во моментов, хируршкиот третман на колоректалниот карцином е најбитен во лекувањето на пациентите и не постои друг тип на третман.

10. Има ли причини порано да заврши моето учество во истражувањето?

Да, доколку за време на оперативниот третман се открие дека болеста е во многу висок стадиум а што не е одкриено со предоперативните истражувања. Во тој случај валидноста на сентинелниот лимфен јазол нема да се одредува.

11. Дали резултатите од тестовите и студијата ќе ми бидат покажани?

Резултатите од тестовите ќе Ви бидат покажани, како и резултатите од студијата, доколку сакате, без идентитетот на учесниците. Резултатите од студијата ќе бидат објавени во научен труд кој е јавен и достапен.

12. Дали крв, ткиво или други примероци ќе бидат складирани и користени за истражување во иднина?

Да, сите анализи кои ќе се прават на Институтот за патологија ќе бидат чувани во соодветна база.

13. Дали било кој од истражувачите има финансиски интерес поврзан со истражувачката студија?

Не.

14. Дали ќе имам некаков паричен надомест или корист за учеството во студијата?

Никој од учесниците во студијата нема да има материјална корист и надомест.

15. Што се случува со собраните информации поврзани со мене?

Информациите ќе се обработат и анализираат, а потоа систематизирано заедно со информациите од другите учесници ќе се презентираат во научен труд.

16. Кои процедури на приватност и доверливост ќе се применат за добиените информации за мене во студијата?

Сите пациенти ќе се заведат под шифра која е поврзана само со нивниот број на историја и сите информации за иследувањето ќе се водат во досие со шифра без лични податоци. Досието за студијата ќе се чува во заклучена просторија до крај на студијата, а потоа во архива.

17. Која е политиката во однос на настанатите повреди поврзани со истражувањето?

Повредите, несаканите настани и последиците за време на Вашето учество во студијата ќе бидат испитани и згрижени. Пациентите ќе бидат цело време третирани и следени по правилата и протокол за пациенти оперирани од колоректален карцином. Секојдневна визита и терапија до исписот ќе се ординира од страна на хирург. При појава на компликација се прават дополнителни иследувања стандардни за компликации по хируршки третман на ова заболување. Доколку има потреба и дополнителна интервенција.

17. Дали ќе бидам информиран/а за сите новини во текот на студијата кои можат да влијаат на мојата одлука да учествувам во оваа студија?

Да, доколку има новини кои би влијаеле на одлуката ќе бидете информирани.

19. Кој ќе одговара на прашањата за истражувањето и за моите права во истражувањето?

Сите информации поврзани со студијата, дополнителни прашања кои би сакале да ги поставите ќе може да ги добиете од претставникот на студијата чиј е-маил и телефонски број се на почетокот на информативниот лист.

**ВИ БЛАГОДАРАМ ЗА ВНИМАНИЕТО И ЗА ПОКАЖАНИОТ ИНТЕРЕС ЗА
ВКЛУЧУВАЊЕ ВО СТУДИЈАТА**

Формулар за информирана согласност

Доколку по дадените информации се согласувате да учествувате во студијата, Ве молиме прочитајте, а потоа потпишете се подолу.

Овој документ содржи важна информација. Преку него може да решите дали сакате да учествувате во оваа студија. Не мора уште веднаш да одлучите дали ќе учествувате во студијата. Може да земете примерок од овој формулар дома, да го разгледате детално и пред да одлучите да поразговарате со вашите најблиски или со други медицински професионалци. Доколку сеуште имате прашања обратете му се на вашиот одговорен доктор за студијата пред да одлучите да го потпишете овој формулар.

Ќе ви биде дадена копија од овој потпишан документ.

име и презиме на испитаникот

дата на потпишувањето