Reports of Practical
Oncology and Radiotherapy

Węzeł wartowniczy w raku jelita grubego

Zbigniew Lorenc, Jacek Starzewski, Danuta Kokocińska, Monika Brzezińska, Mieszko Opiłka

Katedra i Oddział Kliniczny Chirurgii Ogólnej i Koloproktologicznej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach, pl. Medyków 1, 41-200 Sosnowiec

Rep Pract Oncol Radiother **2004;9:307-11, review paper**

Received May 13th, 2004; received in a revised form July 13th, 2004; accepted December 20th, 2004

Streszczenie

Wstęp: W pracy dokonano przeglądu na podstawie piśmiennictwa badań na temat przydatności identyfikacji węzła wartowniczego w ocenie stanu zaawansowania klinicznego raka jelita grubego. Przeprowadzono analizę wyników badań w tym zakresie wykonanych w różnych ośrodkach chirurgicznych. Zwrócono uwagę na te elementy które mają zasadnicze znaczenie w rokowaniu u chorych na raka jelita grubego oraz na prawdopodobne przyczyny błędów jakie są popełniane przy kwalifikacji chorych do określonej grupy zaawansowania klinicznego. Potwierdzenie przerzutów w węzłach chłonnych warunkuje zastosowanie terapii uzupełniającej i daje większe szanse na osiągnięcie dobrych wyników leczenia. Dotychczas stosowane techniki badawcze nie zawsze dają pewność właściwie postawionego rozpoznania w zakresie stopnia zaawansowania choroby, stąd poszukiwanie nowych metod, które zwiększyłyby szansę na precyzyjne określenie stadium choroby i umożliwiłyby zastosowanie odpowiedniego, skutecznego leczenia.
Materiał i metody: Omówiono koncepcję „węzła wartowniczego" oraz korzyści jakie może przynieść jego identyfikacja w ocenie zaawansowania choroby. Przedstawiono techniki wybarwiania węzłów chłonnych, rodzaje barwników i sposób nastrzyknięcia tkanki.
Wyniki: Uwzględniono skuteczność diagnostyczną tej metody badawczej w różnych badaniach oraz ocenę patomorfologiczną węzła wartowniczego opartą na barwieniu hemoatoksylinowo-eozynowym, metodach immunohistochemicznych, a także przy zastosowaniu technik molekularnych. Dokonano oceny wyników dodatnich oraz fałszywie ujemnych prowadzonych badań.
Wniosek: Stwierdzono przydatność nowej metody diagnostycznej w raku jelita grubego wymagającą jednakże dalszych badań oraz uwidoczniono korzyści jakie może przynieść zastosowanie tej metody w praktyce.
Słowa kluczowe: rak jelita grubego, węzeł wartowniczy, stadium zaawansowania choroby.

Sentinel lymph node in colorectal cancer

Summary

Introduction: In the paper a review of the literature on the usefulness of the sentinel lymph node (SLN) identification in clinical staging of the colorectal cancer was performed. Studies conducted In different surgical departments were analyzed. Crucial elements in prognosis in patients with colorectal cancer and mistakes made in clinical staging of theses patients were pointed out. Lymph nodes metastases warrants the adjuvant therapy and improves results of treatment. The diagnostic methods used at the moment are not very accurate in clinical staging, therefore a search for the new methods, which would enable more precise staging and at the same time the suitable treatment is being made.
Material and methods: The sentinel node concept and the benefits of its identification are discussed. Techniques of the SLN dying (dyes, application) are presented.
Results: The diagnostic efficacy of the method in different studies and the detailed pathological examination (haematoxylin-eosin, immunohistochemistry, molecular techniques) is being analyzed. Positive and false negative results in the studies are evaluated.
Conclusion: The usefulness of the method and application in the clinical setting in colorectal cancer is shown, still further studies are needed.
Key words: colorectal cancer, sentinel lymph node, advanced cancer stage.

Praca prezentowana podczas I Sympozjum Naukowo-Szkoleniowego "Sentinel Node'", Poznań, 2004

Wstęp

W ostatnich latach obserwujemy wzrost zachorowań na nowotwory złośliwe jelita grubego sięgający 2.5% do 3% rocznie. W ciągu ostatnich 30 lat wskaźnik zachorowań zwiększył się zarówno u kobiet jak i w grupie mężczyzn. Obserwuje się duże zróżnicowanie tego wskaźnika na 100.000 mieszkańców - USA 15.1 u mężczyzn; 9.3 u kobiet, w Gambii 0.7; Algierii 1.3; Indiach i Nigerii od 1 do 3. W Polsce zachorowalność jest wyższa w populacji uprzemysłowionej niż wiejskiej (wskaźnik 12.1 u mężczyzn i 6.9 u kobiet). Łącznie (rak okrężnicy i odbytnicy) stanowią około 10% wszystkich nowotworów, rak jelita grubego zajmuje 2 miejsce na liście zachorowań i zgonów w Polsce oraz pierwsze miejsce wśród zgonów w grupie nowotworów układu pokarmowego w Stanach Zjednoczonych. Występuje zwiększone ryzyko zachorowań w niektórych grupach etnicznych a najwyższe ryzyko zachorowalności obserwuje się u Japończyków na stałe mieszkających w USA. Wśród czynników etiopatogenetycznych wymienia się spożywanie diety bogatej w tłuszcze zwierzęce oraz obecność niektórych chorób uwarunkowanych genetycznie (polipowatość rodzinna, niepolipowaty rak jelita grubego) jak również nieswoistych chorób zapalnych (wrzodziejące zapalenie jelita grubego - u 20-25% chorych leczonych ponad 10 lat). Czynnikiem predystynującym jest obecność gruczolaków (głównie kosmkowych) a także gruczolaków o wielkości powyżej 1 cm oraz mnogich choć ostateczna przyczyna choroby nie jest do końca wyjaśniona.

Najważniejszym czynnikiem rokowniczym jest stopień zaawansowania klinicznego nowotworu w momencie rozpoznania choroby. Obecność przerzutów w węzłach chłonnych zmniejsza szansę na 5-letnie przeżycie o 20-30%, a dodatkowo co czwarty chory w stadium I lub II choroby umiera z powodu wznowy lub przerzutów w ciągu 5 lat mimo braku w pierwotnym rozpoznaniu przerzutów. Być może przyczyną takiego stanu rzeczy jest obecność przerzutów lub mikroprzerzutów w węzłach chłonnych pierwotnie nierozpoznanych lub niemych klinicznie ale rozwijających się w dalszym przebiegu choroby i powodujących powstanie przerzutów dokonanych [1].Grupą chorych w której zapewne popełnia się najwięcej błędów w odpowiedniej kwalifikacji są pacjenci w stadium III, w którym chorzy powinni zostać poddani terapii uzupełniającej o ile oczywiście zostali do tej grupy zakwalifikowani. Przeżywalność 5-letnia w tej niejednolitej grupie chorych jest różna w zależności od liczby węzłów zmienionych przerzutowo i wynosi od 38% do 73% (Hyder), 17% do 58% (Moran) i 29% do 69% (Tang). Przyczyną niepowodzeń w leczeniu raka jelita grubego jest zbyt późne rozpoznanie choroby, często w stadium uniemożliwiającym leczenie radykalne a także terapia nie zawsze adekwatna do stopnia zaawansowania choroby przede wszystkim z powodu niewłaściwej oceny stopnia zaawansowania klinicznego choroby, głównie w zakresie obecności przerzutów w węzłach chłonnych i w wątrobie.

Nadzieją na ograniczenie błędów we właściwej ocenie stanu zaawansowania klinicznego jest badanie węzła wartowniczego. Wprowadzenie tej metody jako rutynowej w czerniaku oraz raku piersi zachęciło chirurgów zajmujących się leczeniem nowotworów jelita grubego do wprowadzenia jej także w chirurgii jelita grubego. Koncepcja "węzła wartowniczego" oparta jest na fakcie, że ośrodkowy kanał limfatyczny biegnący od guza pierwotnego prowadzi chłonkę do pierwszego, "wartowniczego" węzła regionalnego jej spływu. Kanał ten może zawierać komórki nowotworowe z guza pierwotnego, które mogą osiedlać się w zatokach podtorebkowych węzła wartowniczego (WW) i proliferować do przerzutów węzłowych. Wyrafinowane techniki histopatologiczne takie jak immunohistochemia i sekwencyjne cięcia potwierdzają, że WW jest węzłem chłonnym z największym prawdopodobieństwem rozwoju przerzutów u pacjentów u których doszło do ich powstania. Konieczna jest jednak najpierw identyfikacja kanału limfatycznego, a dopiero potem odnalezienie WW, bowiem w innym przypadku można przeoczyć bliżej położone węzły chłonne. Ocena tego pierwszego węzła na drodze spływu chłonki z guza pozwoli być może na określenie na jego podstawie stanu innych węzłów chłonnych. Podkreśla się także ułatwienie identyfikacji węzłów przez histopatologa przez samo ich wybarwienie co zaobserwowano także w badaniach własnych. Poddanie badaniu immunohistochemicznemu głównie tych węzłów, w których prawdopodobieństwo wystąpienia przerzutów jest największe a badanie hematoksylinowo - eozynowe jest ujemne może pozwolić na zmianę stopnia zaawansowania choroby. Barwienie układu chłonnego pozwala także w niektórych przypadkach na rozpoznanie nietypowego spływu chłonnego (Ota), a poddanie WW dokładniejszym badaniom immunohistochemicznym ewentualnie technikom molekularnym (RT-PCR) pozwala na zwiększenie odsetka rozpoznania mikroprzerzutów (Mori, Nakamori). Liefers podaje uwidocznienie tym sposobem nawet do 54% ukrytych mikroprzerzutów. Badanie to może ułatwić zmianę stadium choroby na wyższe i kwalifikację chorego do leczenia uzupełniającego w postaci terapii adjuwantowej [2].

Barwnikiem stosowanym w identyfikacji WW może być Lymphazurin 1% [3,4], 10% Fluorescein [5], Isosulfan blue [2,6,7,8] a także Patent Blau [9,10]. Tego ostatniego barwnika użyto też we własnych badaniach. Ostrzyknięcia guza dokonuje się w trakcie operacji po zmobilizowaniu jelita podsurowicówkowo [3,7] ewentualnie podśluzówkowo drogą endoskopową [10,11]. Publikowano także prace w których wstrzyknięcia barwnika dokonywano już po wycięciu guza - ex vivo [8,12,13]. Zwraca się uwagę na użycie odpowiedniej ilości barwnika zależnej od wielkości guza [6]. Skuteczność identyfikacji węzła wartowniczego przedstawia *Tabela 1*.

Liczbę odnalezionych węzłów wartowniczych w poszczególnych badaniach przedstawia *Tabela 2*.

Tabela 1. Skuteczność identyfikacji węzła wartowniczego.
Tabele 1. Efficacy of sentinel lymph node identification.

autor	liczba chorych	liczba chorych z zidentyfiko-wanym WW	skuteczność identyfikacji
Levine	37	34	92%
Saha	86	85	99%
Lasser	30	30	100%
Sefr	20	20	100%
Viehl	31	27	87%
Paramo	55	45	82%
Bilchik	100	97	97%
Fitzgerald	26	23	88%
Joosten	50	35	70%
Feig	48	47	98%
Bendavid	20	18	90%
Wong	26	24	92%
Esser	31	18	58%
Merrie	26	23	88%
Wood	75	72	96%
Lorenc	36	21	70%

Tabela 2. Liczba badanych węzłów chłonnych oraz węzłów wartowniczych.
Tabele 2. Number of the lymph notes examined and sentinel nodes.

autor	liczba chorych	ogólna liczba badanych węzłów	liczba WW
Lasser	30	10 - 55 (śr. 23)	1 - 4 (śr. 2)
Turner	51	śr. 14	śr. 3
Bilchik	40	śr. 15	1 - 3
Sefr	20	1 - 38 (śr. 13.6)	1 - 3 (śr. 1.5)
Levine	37	-	1 - 6 (śr. 1.9)
Tsoulias	14	śr. 13.7	śr. 1.7
Fitzgerald	26	-	śr. 2.5
Saha	86	1367 (śr. 16)	śr. 1.6
Bendavid	50	-	śr. 3.9
Wong	26	479 (śr. 18)	śr. 2.8
Lorenc	36	746 (sr. 21)	1 - 2

Węzły chłonne usunięte w czasie operacji poddawane są skrupulatnym badaniom histopatologicznym. Jeśli w rutynowym barwieniu hematoksylinowo-eozynowym wynik pod kątem obecności przerzutów jest ujemny stosuje się badania immunohistochemiczne lub techniki molekularne (RT-PCR) [7]. Obserwuje się różne sposoby cięcia sekwencyjnego materiału badawczego. Najczęstszym jest wykonywanie badań na kilku przekrojach skrawków o grubości 3-4 mikronów co 20-40 mikronów [3] lub rzadszych co 250 mikronów [14]. W badaniach własnych wykonywano cięcia na 3 poziomach, od 3 do 7 skrawków na każdy poziom tkanki, różnica pomiędzy poziomami wynosiła w zależności od grubości węzła od 60 do 100 mikronów. Skrawki z I i III poziomu grubości 4 mikronów barwiono H-E, z drugiego poziomu, grubości 3.5 mikrona przekazywano do badań immunohistochemicznych. Skuteczność diagnostyczną badania WW w zakresie wyników dodatnich przedstawia *Tabela 3*.

Tabela 3. Skuteczność diagnostyczna w zakresie wyników dodatnich.
Tabele 3. Diagnostic efficacy in positive results group.

autor	liczba chorych	liczba chorych ze zgodnym WW	skuteczność diagnostyczna
Saha	86	82	95%
Paramo	55	44	80%
Sefr	20	14	70%
Lasser	30	26	87%
Wood	75	68	90%
Fitzgerald	26	21	80%
Bilchik	100	92	92%
Tsoulias	14	13	93%
Lorenc	36	17	80%

W badaniu własnym skuteczność 80% osiągnięto w odniesieniu do przypadków z udanym wybarwieniem, w całej grupie badanej była ona niższa i wynosiła 56%.

Wyniki fałszywie ujemne przedstawia *Tabela 4*.

Tabela 4. Wyniki fałszywie ujemne w poszczególnych badaniach.
Tabele 4. False negative results in different tests.

autor	liczba chorych	liczba chorych ze zgodnym WW	wyniki fałszywie ujemne
Saha	86	85	3 chorych (5%)
Paramo	55	45	3%
Feig	48	47	38%
Sefr	20	20	40%
Lasser	30	30	13%
Fitzgerald	26	21	20%
Bilchik	100	97	5%
Viehl	31	-	50%
Merrie	26	23	45%
Joosten	50	35	60%
Lorenc	36	21	4 chorych (19%)

Na uwagę zasługuje duża rozbieżność wyników fałszywie ujemnych (od 3% do 60%). Wśród 3 chorych z wynikiem fałszywie ujemnym Saha stwierdził, że w jednym przypadku dotyczyło to chorej po wcześniejszej resekcji części jelita z powodu nowotworu, w drugim zaobserwowano obecność dwóch ognisk chorobowych, w trzecim był to przerzut raka płuca do kątnicy [3]. Fitzgerald zaobserwował wyniki fałszywie ujemne u chorych w III stadium choroby, zaś Bilchik u pacjentów z guzem T3 i T4 [7,8]. W badanej własnej grupie chorych również stwierdziłem wyniki fałszywie ujemne u pacjentów z obecnością guza o znacznych rozmiarach.

U części chorych zaobserwowano na podstawie badań immunohistochemicznych oraz technik molekularnych zmianę stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu - *Tabela 5*.

Tabela 5. Zmiana stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu.
Tabele 5. Upstaging of the clinical status.

autor	liczba chorych	skuteczność WW	chorzy ze zmianą stopnia zaawansowania
Paramo	55	98%	6 (11%)
Lasser	30	87%	3 (14%)
Tsoulias	14	93%	2 (14%)
Bendavid	20	90%	5 (25%)
Saha	86	95%	15 (18%)

Jak zauważono u części chorych WW był jedynym miejscem przerzutu nowotworu. To bardzo ciekawe spostrzeżenie wskazuje na celowość wykonywania barwienia bowiem zmniejsza ryzyko przeoczenia węzłów chłonnych. Własne badania potwierdzają ten pogląd - w jednym przypadku WW był jedynym węzłem z przerzutem - *Tabela 6*.

Tabela 6. Węzeł wartowniczy jako jedyne miejsce przerzutu.
Tabele 6. Sentinel lymph node as the only site of metastases.

autor	liczba chorych	liczba chorych z WW	WW jako jedyne miejsce przerzutu
Paramo	55	45	9 (20%)
Esser	38	18	2 (11%)
Saha	86	85	15 (18%)
Lorenc	36	21	1 (5%)

Reasumując w zakresie przydatności badania węzła wartowniczego w raku jelita grubego większość autorów ma zdanie pozytywne głównie ze względu na możliwość zmiany stadium zaawansowania klinicznego i zastosowanie terapii adjuwantowej [2,3,4,7,11,15,16], część ograniczone [6,12] bądź negatywne [9,10] ze względu na zbyt wysoki odsetek wyników fałszywie ujemnych. Uważa się, że bardzo ważnym elementem jest wypracowanie prawidłowej techniki wybarwiania. Dalsze badania powinny przynieść poprawę wyników i zwiększenie skuteczności w jej stosowaniu, a także bardziej precyzyjne określenie przydatności metody w codziennej praktyce klinicznej [17].

Korzyści jakie daje badanie węzła wartowniczego według opinii autorów zajmujących się tym problemem są następujące:

1. Ułatwienie identyfikacji węzłów przez histopatologa, a przez to możliwość rozpoznania jedynego miejsca przerzutu.
2. Poddanie węzła bądź węzłów wartowniczych (czyli głównie tych węzłów, w których prawdopodobieństwo wystąpienia przerzutów jest największe) dokładnym badaniom histopatologicznym (poza hematoksylinowo-eozynowym także immunohistochemicznym oraz z użyciem technik molekularnych) i wykryciu tym sposobem mikroprzerzutów, których biologiczne działanie nie jest co prawda do końca wyjaśnione ale może jak się uważa spowodować powstanie przerzutu dokonanego.
3. Możliwa zmiana stadium choroby na wyższe i kwalifikacja chorego do leczenia uzupełniającego (terapia adjuwantowa).
4. Rozpoznanie nietypowego spływu chłonnego u badanych chorych a przez to zmianę marginesu cięcia chirurgicznego (poszerzenie zakresu operacji), szczególnie u pacjentów z wykonanymi poprzednio resekcjami w obrębie jelita grubego.

Piśmiennictwo

1. Ota DM. Is Intraoperative Lymph Node Mapping and Sentinel Lymph Node Biopsy for Colorectal Carcinoma Necessary? Ann Surg Oncol 2000;7(2):82-4.
2. Paramo JC, Summerall J, Wilson C, Cabral A, Willis I, Wodnicki H, et al. Intraoperative sentinel lymph node mapping in patients with colon cancer. Am J Surg 2001;182(1):40-3.
3. Saha S, Wiese D, Badin J, Beutler T, Nora D, Ganatra BK, et al. Technical details of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer and its impact on staging. Ann Surg Oncol 2000; 7(2): 120-4.
4. Esser S, Reilly WT, Riley LB, Eyvazzadeh C, Arcona S. The role of sentinel lymph node mapping in staging of colon and rectal cancer. Dis Colon Rectum 2001;44(6):850-4.
5. Saha S, Dan A, Wiese D, Lam L, Ganatra B, Desai D. et al. Comparitive analysis of Lymphazurin 1% vs. Fluorescein 10% in sentinel lymph node (SLN) mapping for colorectal (CR) tumors. The 3rd International Sentinel Node Congress Yokohama, Japan November 16-18, 2002 abstracts book, 167.
6. Viehl CT, Hamel CT, Marti WR, Guller U, Eisner L, Stammberger U, et al. Identification of sentinel lymph nodes in colon cancer depends on the amount of dye injected relative to tumor size. World J Surg 2003; 27(12):1285-90.
7. Bilchik AJ, Nora D, Tollenaar RA, van de Velde CJ, Wood T, Turner R, et al. Ultrastaging of early colon cancer using lymphatic mapping and molecular analysis. Eur J Cancer 2002; 38(7):977-85.

8. Fitzgerald TL, Khalifa MA, Al. Zahrani M, Law CH, Smith AJ. J Surg Oncol 2002;80(1):27-32.
9. Merrie AE, van Rijn AM, Phillips LV, Rossaak JI, Yun K, Mccall JL. Diagnostic use of the sentinel node in colon cancer. Dis Colon Rectum 2001;44(3):410-7.
10. Joosten JJ, Strobbe JJ, Wauters CA, Pruszczynski M, Wobbes T, Ruers TJ. Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma. Br J Surg 1999; 86(4): 482-6.
11. Tsioulias GJ, Wood TF, Spirt M, Morton DL, Bilchik AJ. Am J Surg 2002;68(7):561-5.
12. Sefr R, Penka I, Coufal O, Vagundova M, Fait V, Kaplan Z, et al. Sentinel node biopsy in colorectal carcinoma - pilot study. Rozhl Chir 2003;82(9):486-91.
13. Wong JH, Steineman S, Calderia C, Bowles J, Namiki T. Ex vivo sentinel node mapping in carcinoma of the colon and rectum. Ann Surg 2001;233(4):515-21.
14. Meyer JS. Sentinel lymph node biopsy: strategies for pathob-gic examination of the specimen. J Surg Oncol 1998; 69(4):212-18.
15. Lasser P, Cote JF, Sabourin JC, Boige V, Elias D, Duvillard P, et al. Is sentinel lymph node mapping relevant for colon cancer?: a feasibility study. Ann Chir 2003;128(7):433-7.
16. Bendavid Y, Latulippe JF, Younan RJ, Leclerc YE, Dube S, Heyen F, et al. Phase I study on sentinel lymph node mapping in colon cancer: a preliminary report. J Surg Oncol 2002;79(2): 81-4.
17. Levine EA, Shen P, Shiver S.A., Waters G, Brant A, Geisenger KR. Intraoperative imprint cytology for evaluation of sentinel lymph nodes from visceral malignancies. J Gastrointest Surg 2003;7(5):687-91.