

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2002
УДК 618.19-006.6-07:616.428

Д. В. Комов, Е. В. Поддубская, В. Д. Ермилова, А. С. Ожерельев,
С. В. Ширяев, Г. А. Оджарова, В. А. Хайленко,
М. Б. Ориновский, М. П. Баранова

«СТОРОЖЕВОЙ» ЛИМФАТИЧЕСКИЙ УЗЕЛ: ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ТАКТИКИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

НИИ клинической онкологии

«Сторожевой» лимфоузел (СЛУ) — это лимфоузел в регионарном бассейне, который является первым барьером на пути продвижения опухолевых клеток от первичной опухоли. Впервые R. Cabanas в 1977 г. описал использование лимфографии для идентификации СЛУ при раке полового члена [3]. В 1992 г. появилось сообщение D. Morton и соавт., которые описали технику лимфографии с использованием метиленовой сини в процессе лечения меланомы [7]. Большое количество сообщений по использованию этой методики при раннем раке молочной железы появилось в печати в 1994–1995 гг.

Тактика хирургического лечения больных раком молочной железы на ранних стадиях болезни эволюционирует от расширенных хирургических вмешательств к различным типам органосохраняющих операций в сочетании с химиолучевой и гормонотерапией в различных вариантах. В настоящее время мы находимся в начале нового этапа — консервативной хирургической тактики у больных с начальными стадиями рака молочной железы, ограничивающей хирургическое вмешательство секторальной резекцией молочной железы и биопсией СЛУ [6].

Методика биопсии СЛУ подразумевает обнаружение его в клетчатке путем введения перитуморально индикатора с последующим выявлением афферентного лимфатического сосуда и лимфоузла 1-го порядка [1].

Предшествующие попытки снизить травматичность лимфаденэктомии посредством частичного удаления лимфоузлов или удаления только лимфоузлов 1-го порядка были неудовлетворительны, поскольку не гарантировали, что оставшиеся лимфоузлы на самом деле не поражены. Важнейший вопрос, на который нужно было ответить при разработке методики, — является ли состояние СЛУ точным показателем процесса метастазирования в подмышечные лимфоузлы. Согласно гипотезе, если СЛУ не содержит метастазов, то и остальные лимфоузлы также негативны и не нуждаются в иссечении. Отказ от подмышечной лимфаденэктомии предупреждает развитие таких осложнений, как лимфорея, нарушение чувствительности,

CLINICAL INVESTIGATIONS

D. V. Komov, E. V. Poddubskaya, V. D. Ermilova, A. S. Ozherelyev,
S. V. Shiryaev, G. A. Odjarova, V. A. Khailenko, M. B. Orinovsky,
M. P. Baranova

THE SENTINEL NODE: OPTIMAL DIAGNOSTIC AND TREATMENT POLICY IN BREAST CANCER

Institute of Clinical Oncology

The sentinel node (SN) is a regional lymph node acting as a barrier on the way of tumor cells from the primary. R. Cabanas was the first to describe in 1977 experience in the use of lymphography to identify SN in penis cancer [3]. In 1992 D. Morton et al., described a lymphography procedure using methylene blue in the treatment for melanoma [7]. Many reports on the use of this procedure in early breast cancer were published during 1994–1995.

The policy of surgical treatment in early breast cancer was evolving from wide operations to a variety of breast preservation procedures in combination with chemoradio- and hormone therapy. Today we are witnessing the beginning of a new stage, i.e. conservative surgical policy in early breast cancer with surgical operation limited to lump resection and SN biopsy [6]. SN biopsy involves peritumoral administration of an indicator to identify an afferent lymph vessel and a node of first order [1].

Previous attempts to reduce lymphadenectomy traumatism by partial or first order node dissection ended in failure since they could not ensure non-involvement of the remaining nodes. The question arises whether the SN status is a reliable indicator of metastasis to axillary nodes? The assumption is that if the SN is free from metastasis, then other lymph nodes are also negative and do not require dissection. The treatment without axillary node dissection helps to avoid complications such as lymphorrhea, abnormal sensibility, shoulder joint stiffness, lymphedema, poor cosmetic effect [9].

There is increasing information about accuracy of SN identification, however, we lack data of prospective randomized studies to assess the role of this procedure in disease staging and evaluation of survival in comparison with conventional treatment policies [8]

The SN identification procedure is as follows: an indicator is administered into the primary area to be carried with lymph flow to and accumulated in a first-order node. There are no standard methods described in the literature. All reported

тугоподвижность плечевого сустава, лимфостаз, неудовлетворительный косметический эффект [9].

В настоящее время накапливаются данные о точности различных методов обнаружения СЛУ, однако нет данных о проспективных рандомизированных исследованиях, требуемых для оценки важности этой процедуры в определении стадии опухолевого процесса, в выборе объема хирургического вмешательства и в оценке выживаемости в противовес традиционным методам лечения [8].

Схематично методику выявления СЛУ можно описать следующим образом: в область первичной опухоли вводится индикатор, который с током лимфы попадает в лимфоузел 1-го порядка и накапливается там. При изучении различных публикаций становится ясным, что до настоящего времени не существует стандартной методики. Все сведения о проведенных исследованиях различаются по многим аспектам. В ранее опубликованных работах [8, 9] изучались способ, размер, доза, место инъекции, время миграции изотопа, метод идентификации СЛУ.

Существует три способа обнаружения СЛУ. Первый и наиболее простой — введение перитуморально 1% раствора метиленовой сини или 1% лимфазурина непосредственно перед операцией и выявление СЛУ визуально в клетчатке по прокрашиванию. Второй способ — проведение лимфосцинтиграфии накануне операции с разметкой на коже локализации СЛУ (в двух проекциях). Третий — исследование СЛУ интраоперационно с использованием ручного гамма-детектора (Gamma Detection Probe). Для выполнения этой процедуры непосредственно перед операцией перитуморально вводится изотопный препарат [2]. Путем введения датчика в рану определяются локализация наиболее «нагруженного» изотопом лимфоузла (или узлов), его удаление и исследование отдельно.

Процент больных, которым смогли определить СЛУ, — один из критериев оценки эффективности методики. По данным разных авторов [8–11], этот процент колеблется от 71 до 98. Наиболее эффективным является сочетание двух или трех вышеперечисленных методов, хотя и каждый в отдельности является достаточно информативным.

Существует несколько способов введения индикатора: внутрикожный, подкожный, перитуморальный и внутритуморальный. В различных ситуациях каждый из указанных методов имеет право на существование. При раке молочной железы наиболее часто используемый и эффективный способ введения индикатора — перитуморальный. Исследователями предложены различные виды индикаторов. Простейшими являются 1% раствор метиленовой сини и 1% раствор лимфазурина. Наиболее широко и эффективно используются различные радионуклиды, например ^{99m}Tc -трисульфид коллоид, ^{99m}Tc -альбумин, ^{99m}Tc -сульфид коллоид [5, 7].

Следует отметить, что коллоидные изотопные препараты не являются специфичными для лимфоузлов. Правильнее будет сказать, что макрофаги лимфоузла, независимо от наличия в нем метастазов, «захватывают» РФП. Лимфоузел, «тяжело нагруженный» опухолевыми клетками, может не накапливать индикатор и остаться необнаруженным. Хотя макрофаги в лимфоузле способны накапливать большое количество коллоида, это не гарантирует, что весь радиоактивный индикатор, который достиг СЛУ, останется там. Часть красителя может проходить по отводящим лимфатическим сосудам в следующий по

studies were different in many aspects. Previous papers [8,9] studied type, dose, site of injection, isotope migration time, SN identification procedure.

There are three ways to identify an SN. The first and the simplest way is to administer peritumorally 1% methylene blue solution or 1% lymphazurin immediately before surgery and to identify the SN visually by coloration of cellular tissue. The second way is to perform lymphoscintigraphy on the day before surgery and to mark the SN location on the skin (in two views). The third way is intraoperative SN identification using a manual gamma-detection probe. This procedure requires administration of an isotopic indicator immediately before surgery [2]. The probe is inserted in the wound and the node(s) most heavily loaded with the isotope is (are) identified, dissected and studied individually.

Percentage of patients in whom the SN identification was a success is a test for method effectiveness. According to different authors this percentage varies from 71 to 98. Each of the above-mentioned methods is rather informative, but combinations of two or three of them give the best results.

There are several ways of indicator administration, i.e. intracutaneous, subcutaneous, peritumoral and intratumoral. Each of these methods may be reasonable in specific situations. Peritumoral administration is most common in breast cancer. There are several types of indicators. The simplest ones are 1% methylene blue and 1% lymphazurin solutions. The commonest radionuclides are ^{99m}Tc -trisulfide colloid, ^{99m}Tc -albumin, ^{99m}Tc -sulfide colloid.

Note, that colloid isotopes are not specific for lymph nodes. It is more correct to say that node macrophages capture the radiopharmaceutical irrespective of the presence of metastasis. A heavily loaded lymph node may fail to accumulate the indicator and remain unidentified. Although node macrophages can accumulate a large amount of a colloid, this cannot ensure accumulation of all the radioactive indicator portion reaching the SN in the node. A part of the portion may come to the next node by afferent vessels. Dissection of an adjacent node with the SN left untouched may also produce a false-negative result.

Correctly identified and really unchanged SN may be dissected at a disease stage when tumor emboli are on the way from the primary to the SN, the remaining embolus migrating into a previously unseen node.

Micrometastases are another cause of mistakes. Thorough study of dissected lymph nodes thought to be negative identifies occult metastases in 10–15% of cases. Micrometastases contain 2 to 10 individual cells. Clinical significance of micrometastases is not clear, and further study is needed.

There are reports of the use of SN identification procedure to limit extent of surgical intervention. For instance, C. Cox et al. carried out SN identification in 466 patients of whom axillary lymph node dissection was performed in 120 only [5].

Another problem is atypical ways of lymph distribution from the tumor. According to different authors [4] SNs were identified in subclavicular, supraclavicular regions with axillary nodes remaining intact. There are reports of metastasis to contralateral nodes and negative ipsilateral nodes. Parasternal SNs were identified in 2–3% of cases with tumors located in external quadrants. Parasternal node involvement is classified as N3. However,

цепочке лимфоузлов. Также причиной ложнонегативных результатов может быть удаление смежного со сторожевым лимфоузла и оставление непосредственно сторожевого.

Правильно идентифицированные и по-настоящему не измененные СЛУ могут быть удалены на такой стадии развития болезни, когда опухолевые эмболы находятся между первичной опухолью и СЛУ. При этом оставленный эмбол может мигрировать в ранее немаркированный лимфоузел.

Еще одной причиной ошибки может быть наличие микрометастазов. Детальное исследование удаленных лимфоузлов, вначале считавшихся негативными, в 10–15% случаев обнаруживает скрытые микрометастазы. Количественная оценка микрометастазов колеблется в пределах от 2–10 отдельных клеток. Клиническое значение микрометастазов еще не определено и требует продолжительного наблюдения.

Имеются данные об исследованиях, авторы которых уже используют методику обнаружения СЛУ для ограничения объема оперативного вмешательства. Например, С. Сох и соавт. исследовали методику выявления СЛУ у 466 больных, из них подмышечная лимфаденэктомия была выполнена 120 пациенткам [5].

Следует отдельно обсудить вопрос о так называемых «нестандартных» путях распространения лимфы от опухоли. По данным разных авторов [4], СЛУ определялся в подключичной, надключичной зонах при непораженных аксиллярных лимфоузлах. Имеются сообщения о метастазировании в контралатеральные лимфоузлы при интактных лимфоузлах на стороне опухоли. При локализации опухоли в наружных квадрантах в парастеральной зоне СЛУ обнаруживался в 2–3% случаев. Согласно классификации, поражение парастеральных лимфоузлов классифицируется как N3. Однако изолированное поражение парастеральных лимфоузлов может быть не столько показателем более агрессивной опухоли, сколько отражением особенностей лимфооттока в СЛУ. Благодаря удалению пораженных лимфоузлов в этих областях количество рецидивов болезни может быть сокращено.

Несомненный интерес представляют вопросы безопасности персонала, участвующего в лечении этих больных. Исследовался уровень излучения, попадающего на руки, брюшную стенку, грудь хирурга, ассистентов, операционной сестры и патологоанатомов. Авторы [10, 11] сделали вывод, что уровень излучения, попадающего на хирурга и ассистентов, составляет 0,07 и 0,01 мЗв за процедуру соответственно. Исходя из среднего числа процедур (100) на одного хирурга в год, общее значение на порядок ниже средней допустимой дозы 50 мЗв/год. Эффективная доза облучения пациента при однократном исследовании составляет 0,5 мЗв, а доза облучения при маммографии (4 снимка) составляет примерно 0,4 мЗв.

Материал и методы. Мы изучили результаты использования методики СЛУ на примере 40 больных раком молочной железы в возрасте от 37 до 70 лет (средний возраст больных — 51 год). Первичная опухоль соответствовала стадии T1–2, клинически подмышечные лимфоузлы не были изменены. Опухоль локализовалась преимущественно в наружных квадрантах. Диагноз у всех больных был цитологически верифицирован. В работе использовался коллоид, меченный ^{99m}Tc , который вводился перитуморально с 4 позиций в объеме 0,25 мл на каждую инъекцию с общей активностью 1 мКи.

Исследования проводились в среднем через 2,5 ч в режиме статической сцинтиграфии на гамма-камере ICOM (SIEMENS). Набор импульсов составлял 2 млн на проекцию. СЛУ маркировали на коже. Исследование про-

а positive isolated parasternal node may be indicative of specific ways of lymph flow rather than of aggressive course of the disease. Dissection of such lymph nodes may reduce recurrence.

Of special importance is the problem of personnel safety. There were studies of irradiation of hands, abdominal wall, chest of the surgeon and assistants, nurses and pathologists. The authors estimated the radiation load for the surgeon and assistants as 0.07 and 0.01 mZv per procedure. Mean number of the procedures per surgeon per year being 100, the total radiation dose is one order of magnitude lower than a mean permitted dose of 50 mZv. Radiation effective dose per patient per procedure is 0.5 mZv, cf. with a 0.4 mZv at mammography (4 shots).

Materials and Methods. We studied SN identification procedure in 40 breast cancer patients aged 37 to 70 years (median 51 years). The primary was assessed as T1–2, axillary lymph nodes were clinically unchanged. The tumors were mainly located in external quadrants. The diagnosis was verified histologically in all the cases. ^{99m}Tc -labeled colloid was administered peritumorally from 4 positions at 0.25 ml per injection to a total radioactivity 1 mCi. Stationary scintigraphy using an ICOM (SIEMENS) gamma-camera was performed at 2.5 h after the administration with 2 million pulses per view. The identified SN was marked on the skin. The study was performed on the day before surgery.

Immediately before incision 1% methylene blue solution at 1 ml was administered peritumorally into four points (a total dose 4 ml). SN was identified by coloration.

We found SN intraoperatively basing on scintigraphy findings and by coloration in 90% (36 patients) of cases studied. Three of them had atypical SN location, one patient with the primary in the upper external quadrant had an SN at 6 cm medially from the tumor between the greater pectoral muscle and chest wall, another two women had intramammary SNs. We identified a total of 50 SNs (mean 1.25). Histological study discovered axillary lymph node metastases in 30% of the patients, all of them also having positive SNs. None of the patients developed metastases into nodes of the following order if the SN was intact.

We continue our study and plan to use a manual gamma-detection probe in combination with the two above-mentioned methods. We believe SN biopsy promising. Further study in this field may lead to finding of objective test to identify candidates for lymph node dissection. This will reduce percentage of patients developing functional complications due to lymphadenectomy. A lymph flow scheme may be drawn up for every individual patient, and individual treatment (parasternal lymph node dissection, adjuvant chemotherapy and radiotherapy) may be undertaken in every case.

This method is also promising in melanoma, cancer of the oral cavity, penis, vulva and other sites.

водилось накануне оперативного вмешательства. После обработки операционного поля, непосредственно перед разрезом кожи, перитуморально в четыре точки вводился 1% раствор метиленовой сини по 1 мл (суммарно 4 мл). СЛУ выявлялся по прокрашиванию.

Интраоперационно на основании маркировки локализации лимфоузла по данным лимфосцинтиграфии, а также по прокрашиванию нам удалось обнаружить СЛУ у 90% (36) обследованных больных. Из них у 3 пациенток локализация СЛУ была нетипичной, у 1 пациентки при локализации опухоли в верхненаружном квадранте СЛУ располагался медиальнее опухоли на 6 см между большой грудной мышцей и грудной стенкой, а у 2 женщин — интрамаммарно.

В общей сложности выявлено 50 СЛУ (среднее количество 1,25). При гистологическом исследовании материала у 30% женщин были выявлены метастазы в аксиллярных лимфоузлах, среди них во всех случаях оказался пораженным и СЛУ. Не было отмечено ни одного случая обнаружения метастазов в лимфоузлах следующего порядка, если СЛУ не был изменен.

Наши исследования продолжаются, в ближайшее время планируется использование ручного гамма-детектора в сочетании с двумя вышеуказанными методами. По нашему мнению, методика биопсии СЛУ является перспективной. Дальнейшие исследования в этой области могут привести к разработке объективных критериев, позволяющих выделить группы больных, подлежащих и не подлежащих подмышечной лимфодиссекции. Это поможет уменьшить количество пациенток, страдающих различными функциональными нарушениями вследствие перенесенной лимфаденэктомии. Использование методики обнаружения СЛУ позволит составить схему лимфооттока (лимфодренажа) для каждой конкретной больной, что даст возможность подойти к лечению больных более индивидуально (проведение парастернальной лимфодиссекции, проведение адъювантной химиотерапии и лучевой терапии).

Перспективным также является использование методики при меланоме, раке полости рта, полового члена, вульвы и, возможно, при других локализациях опухолей.

Поступила 02.04.2001 / Submitted 02/04/2001

© Коллектив авторов, 2002

УДК 616.71-006.3.04

Р. А. Кешта¹, Е. В. Степанова², М. Р. Личиницер¹

ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ САРКОМАХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

¹НИИ клинической онкологии, ²НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

В структуре злокачественных опухолей человека саркомы мягких тканей (СМТ) занимают весьма скромное место, составляя около 1% всех онкологических заболеваний. Наиболее высокая заболеваемость наблюдается в возрасте 20—30 и 40—50 лет. Под общим названием «саркомы мягких тканей» объединяют большое количество злокачественных опухолей, различающихся по клиническим и морфологическим признакам. Выделяют опухоли и опухолеподобные образования следующих тканей и элементов сложных структурных образований: фиброзной, жировой, мышечной, лимфоидной, синовиальной ткани, мезотелия, кровеносных сосудов, периферических нервов, симпатических ганглиев, параганглиозных структур, мультипотентной мезенхимы и эмбриональных структур. Многие из них вызывают у патологоанатомов существенные трудности как в аспекте практической морфологической диагностики, так и в решении вопросов их клеточной дифференцировки. Наибольший прогресс в решении указанных проблем связан с использованием иммуногистохимии.

За последние несколько десятилетий достигнут значительный прогресс в понимании молекулярной биологии клетки. Стали известны многие механизмы контроля клеточного

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Atkins C. D., Warshaw M. //Lancet. — 1997. — Vol. 13, N 350. — P. 808.
2. Bakalakos E. A., Burak W. E. Jr. //Surg. Oncol. Clin. N. Am. — 1999. — Vol. 8, N 1. — P. 129—144.
3. Cabanas R. //Cancer. — 1977. — Vol. 39. — P. 456—466.
4. Chung M. N., Ye W., Giuliano A. E. //Ann. Surg. Oncol. — 2001. — Vol. 8, N 9. — P. 688—692.
5. Cox C. E., Pendas S., Cox J. M. //Ann. Surg. — 1998. — Vol. 227, N 5. — P. 645—651.
6. Keshitgar M. R., Baum M. //World J. Surg. — 2001. — Vol. 25, N 6. — P. 761.
7. Morton d. L., Wen D.-R., Wong J. H. et al. //Arch. Surg. — 1992. — Vol. 27. — P. 392—399.
8. Veronesi U., Galimberti V., Zurrida S. //Eur. J. Cancer. — 2001. — Vol. 37, N 4. — P. 454—458.
9. Veronesi U., Paganelli G., Galimberti V. //Lancet. — 1997. — Vol. 28, N 349. — P. 1864—1867.
10. Waddington W. A., Keshitgar M. R., Ell P. J. //Ann. Surg. Oncol. — 2001. — Vol. 8, N 9. — P. 9S—12S.
11. Waddington W. A., Keshitgar M. R., Taylor I. //Eur. J. Nucl. Med. — 2000. — Vol. 27, N 4. — P. 377—391.

R.A.Keshta¹, E.V.Stepanova², M.R.Lichinitser¹

MOLECULAR BIOLOGICAL MARKER EXPRESSION IN SOFT-TISSUE SARCOMAS

¹Institute of Clinical Oncology, ²Institute of Experimental Diagnosis and Therapy of Tumors

Soft tissue sarcomas (STS) are not common tumors being reported at 1% of all human malignancies. The highest incidence is reported in age categories 20 H30 and 40—50 years. The term 'soft-tissue sarcomas' is a general name for a large number of malignant tumors different in clinical and morphological features. The tumors and tumor-like lesions are classified into those originating in fibrous, adipose, muscular, lymphoid, synovial tissues, mesothelium, vessels, peripheral nerves, sympatic ganglia, pluripotent mesenchyma. Many of them are associated with certain difficulties related to practical morphological diagnosis and cell differentiation. The greatest advance in solution of these problems was associated with immunohistochemistry.

Over the last decades there was a significant progress in the understanding of molecular biology of the cell. Many mechanisms were discovered that were responsible for cell division and death control, maintenance of genetic stability, pathways of signal transmission from receptors to nuclei, etc. It has been found that mutations of some genes whose protein products are involved in regulation of the above-mentioned processes (oncogenes) may result in cell transformation. These processes are also controlled by tumor growth suppressor genes. Intercellular interactions