



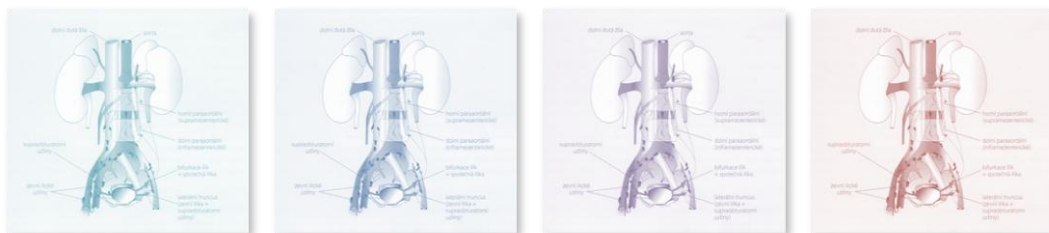
Univerzita Karlova  
Lékařská fakulta v Plzni

# Význam a možnosti detekce sentinelových uzlin u karcinomu endometria

Autoreferát dizertační práce

Autor: MUDr. Martin Hrehorčák  
Školitel: Prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc.  
Oborová rada: Gynekologie a porodnictví

Plzeň 2012



Dizertace byla vypracována v rámci kombinované formy postgraduálního doktorandského studia ve studijním programu gynekologie a porodnictví.

Uchazeč:

MUDr. Martin Hrehorčák  
Gynekologicko – porodnická klinika, 2LF UK  
Fakultní nemocnice v Motole, V Uvalu 84, 150 06 Praha 5

Odborné vedení uchazeče školitel:

Prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc.  
Gynekologicko – porodnická klinika  
2. Lékařská Fakulta, Univerzita Karlova  
Fakultní nemocnice v Motole, V Uvalu 84, 150 06 Praha 5

Oponenti:

Prof. MUDr. Aleš Roztočil, CSc.  
Nemocnice Jihlava, Vrchlického 59, 58633 Jihlava

Doc. MUDr. Jiří Špaček, PhD  
Gynekologicko – porodnická klinika, Lékařská fakulta Hradec Králové  
Sokolská tř. 581, 500 05 Hradec Králové

Prim. MUDr. Ladislav Masák, CSc.  
Onkologický ústav sv. Alžběty, s.r.o., Heydukova 10, 812 50 Bratislava

Stanovisko k dizertaci vypracovala organizace:

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba dizertace se koná dne: \_\_\_\_\_ v hod  
před komisí pro obhajoby doktorských dizertací

S dizertací je možné se seznámit na děkanátě Lékařské fakulty v Plzni

Husova 3

306 05 Plzeň

Doc. MUDr. Zdeněk Novotný, CSc.  
předseda komise pro obhajoby dizertačních prací  
studijního programu gynekologie a porodnictví

## PROHLÁŠENÍ O AUTORSTVÍ

Předkládám tímto k posouzení a obhajobě dizertační práci, zpracovanou na závěr doktorandského studia na Lékařské Fakultě v Plzni, Karlovy univerzity.

Prohlašuji, že jsem se při psaní této dizertační práce opíral o pravdivé údaje získané jednak vlastním pozorováním a jednak z uvedené použité literatury. Práci jsem vypracoval pod vedením školitele samostatně a samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze dne

podpis

## PODĚKOVÁNÍ

Rád bych touto cestou vyjádřil poděkování prof. MUDr. Lukáši Robovi, CSc., za jeho cenné rady, odborné vedení, všestrannou pomoc a trpělivost při vedení mé disertační práce. Rovněž bych chtěl poděkovat Doc. MUDr. Heleně Robové, PhD. za vstřícnost a pomoc při získání potřebných informací a podkladů a také celému týmu lékařů a sester onkogynekologického oddělení, kteří se účastnili péče o pacientky, zejména pak Doc. MUDr. Michaelovi J. Halaškovi, PhD. a as. MUDr. Marku Plutovi, PhD.

## Obsah

1. Úvod do problematiky: .....	1
1.1. Význam lymfadenektomie u karcinomu endometria: .....	1
1.2. Význam sentinelové uzliny.....	4
1.1.1. Detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria .....	5
2. Cíle studie.....	10
3. Soubor a Metodika.....	11
4. Výsledky .....	15
5. Diskuse A závěr .....	20
6. Lieteratura.....	24

## STRUKTUROVANÝ SOUHRN

**Cíl studie:** Zhodnocení výsledků tří různých protokolů detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria a posouzení jejich efektivity a použitelnosti pro praxi.

**Typ studie:** Prospektivní observační klinická studie.

**Název a sídlo pracoviště:** Gynekologicko – Porodnická klinika, UK 2LF a FN Motol, Praha

**Soubor a metodika:** Do studie bylo zařazeno 141 žen s histologicky potvrzeným adenokarcinomem endometria. 10 žen bylo ze studie vyloučeno pro duplicitu s jiným nádorem, extrauterinní šíření anebo neendometroidní typ nádoru. Byly srovnávány tři různé protokoly pro detekci sentinelové uzliny. Aplikovali jsme Tc99 hysteroskopicky, peritumorosně u 22 žen. Subserosně peritumorosně jsme aplikovali kombinaci radiokoidu a patentní modři u 66 žen. Subserosně difusně z osmi vpichů jsme a aplikovali tuto kombinaci u 43 žen.

**Výsledky:** Celkem bylo u 131 žen odstraněno 2220 lymfatických uzlin, což představuje průměrně 16.9 na pacientku. Celkem bylo detekováno 215 sentinelových uzlin u 91 ze 131 pacientek (2.36 na pacientku). Bylo také zjištěno, že distribuce sentinelových uzlin u karcinomu endometria je odlišná od karcinomu hrdla děložního. Celkový detection rate byl 69.46%. V oblasti zevních ilických cév byly sentinelové uzliny nalezeny v 63.4%, v supraobturatorní 17.8%, v oblasti společných ilik v 8.9%, v mediální části laterálního parametria ve 4.25%, v oblasti nesakrální 3.3% a v oblasti paraaortální ve 3.3%.

Tři skupiny s rozdílnou aplikací lymfotropních látek se statisticky významně nelišily co do věku, BMI, míry invaze do myometri, počtu získaných lymfatických uzlin, zastoupení pT stadia nádorů nebo grade. ( $p > 0.05$ ) U hysteroskopické aplikace byla sentinelová uzlina detekována aspoň na jedné straně u 10 žen (45.5%). Ve skupině se subserosní peritumorosní u 48 žen (72.7%), Ve skupině se subserosní aplikací z osmi vpichů ve 33 případech (76.7%).

**Závěr:** Koncept detekce sentinelových uzlin u karcinomu endometria je v současnosti stále ještě nutno považovat za experimentální metodu. Distribuce je při aplikaci do děložního těla odlišná od intracervikální aplikace u karcinomu děložního hrdla. Subserosní aplikace se vyznačuje vyšší detekční schopností a vyšší senzitivitou. Pro stanovení přesné metodiky a role detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria je zapotřebí provést další prospektivní multicentrické studie.

**Klíčová slova:** karcinom endometria, sentinelová uzlina, hysteroskopická aplikace, subserosní aplikace.

## STRUCTURED ABSTRAKT

**Objective:** To evaluate the results of three different protocols of sentinel node identification in endometrial cancer.

**Design:** Prospective observational study.

**Setting:** Department of Obstetrics and Gynecology, Charles University, 2nd Medical Faculty, University Hospital Motol, Prague

**Methods:** 141 women with verified endometrial cancer were included into the study. 10 subjects were excluded due to the duplicity with another malignant tumour, extrauterine spread and non-endometrioid type of the tumour. Three different protocols for sentinel lymph node detection were described: Tc99 was applied hysteroscopically peritumorous in 22 women. Subserous peritumorous application of the radiocolloid and patent blue dye was performed in 66 women. Subserous diffuse injection of this combination to eight sites was performed in 43 subjects.

**Results:** 2220 lymph nodes were harvested in 131 women, average 16.9 per subject. 215 sentinel lymph nodes in 91 women were obtained, average 2.36 per subject. Detection rate was 69.46. 63.4% sentinel nodes were identified in the external iliac area, 17.8% in supraobturator area, 8.9% in common iliac area, 4.25% in medial part of lateral parametrium, 3.3% in praesacral and 3.3% in lower paraaortal area. The three subgroups with different route of tracer application were homogenous regarding age, BMI, myometrial invasion, number of lymph nodes harvested, stage or grade ( $p > 0.05$ ). In hysteroscopy group the detection rate was 45.5%. In subserous peritumorous subgroup the detection was successful in 48 out of 66 cases (72.7%). In the subserous diffuse subgroup the detection rate reached 76.7%.

**Conclusion:** The concept of sentinel node identification in endometrial cancer remains yet experimental. If the tracer is applied into the uterine corpus, the distribution of sentinel nodes differs from the intracervical application in cervical cancer. Subserous application is superior to hysteroscopic. Further prospective multicentric trials are necessary to find the best method for sentinel nodes identification and to establish the role of this procedure in patients treatment.

**Key word:** endometrial cancer, sentinel lymph nodes, hysteroscopic administration, subserous administration.

## 1. ÚVOD DO PROBLEMATIKY:

### 1.1. VÝZNAM LYMFADENEKTOMIE U KARCINOMU ENDOMETRIA:

Jak již bylo uvedeno výše chirurgická léčba karcinomu endometria je základem terapie. I přesto ale neexistuje jednotnost názorů na chirurgické řešení. Na základě našich znalostí způsobu lymfatického řešení u karcinomu endometria a rizika rekurence, lymfadenektomie spolu s hysterektomií a bilaterální adnexektomií je primárním chirurgickým řešením karcinomu endometria. (Tewari et al. 2011).

Lymfadenektomie má své diagnostické i potenciálně terapeutické přednosti jakož i rizika. Diagnostická úloha tohoto výkonu spočívá ve stanovení rozsahu onemocnění, zatímco potenciálně terapeutický efekt spočívá ve snížení pravděpodobnosti relapsu. Efekt lymfadenektomie je přímo úměrný schopnostem chirurga a je spojen s pokročilým chirurgickým tréninkem. (Bonneau et al. 2011) V praxi to znamená, že je zde velká variabilita rozsahu a adekvátnosti výkonu. To co nazýváme lymfadenektomií se pohybuje od samplingu zvětšených uzlin až po extensivní až pečlivou, systematickou pánevní a paraaortální lymfadenektomií až po úroveň renálních cév. Tyto rozdíly vedou k zisku různého množství lymfatických uzlin, které jsou nadále histologicky zpracovány. Chybějící standardizace chirurgického výkonu je nadále komplikovaná zavedením laparoskopických a nověji i roboticky asistovaných technik lymfadenektomie.

Základní kontroverzí je i nadále otázka „jaká subpopulace pacientek s karcinomem endometria může potenciálně mít užitek z chirurgického stagingu. Musíme si uvědomit, že většina pacientek s karcinomem endometria je vyššího věku, často s vyšším BMI a s mnoha přidruženými komorbiditami. Přesné údaje o tom, jak lymfadenektomie přispívá k pooperační morbiditě pacientek nejsou ucelené. Nejčastějšími uváděnými komplikacemi jsou zvýšená krevní ztráta, zvýšená teplota po operaci, infekce operační rány a embolie. Pozdní komplikace jsou nejčastěji edém dolních končetin, obstrukce střev a lymfocysty. Další otázkou je přidružená toxicita plynoucí z provedení paraaortální lymfadenektomie. V jedné největších studií, která se zabývala toxicitou (Cragun et al. 2005) chirurgického stagingu pacientek s karcinomem endometria byly srovnávány výsledky po pánevní a paraaortální lymfadenektomii s těmi jež



měli jen pánevní lymfadenektomii. V této retrospektivní studii nebyly výsledky mezi oběma skupinami statisticky významné. Krevní ztráta, délka hospitalizace a pravděpodobnost krevní transfuze, ale byla u skupiny s paraaortální lymfadenektomií významně vyšší. Výsledky ze studie GOG LAP 2 srovnávající laparoskopii s laparotomií uvádí riziko perioperačního poranění střeva, cévního poranění a poškození močového traktu na úrovni 1 až 3 %. Celkově lze říct, že pánevní a především paraaortální lymfadenektomie jako součást chirurgického stagingu přináší jistá další rizika pro i již tak morbidní pacientky. Studie zabývající se touto problematikou vykazují velké rozdíly v rozsahu a závažnosti komplikací a taky jejich reprodukovatelnost je velmi obtížná.

Současná debata o potřebě lymfadenektomie byla započatá v důsledku publikování dvou randomizovaných klinických studií, které se zabývaly otázkou, zda lymfadenektomie by měla být indikována u všech pacientek. (Kitchener et al. 2009), (Benedetti et al. 2008). Obě studie zahrnovaly pacientky s nízkou pravděpodobností postižení lymfatického aparátu (9% a 13%) a jejich výsledky se nezabývaly rozsahem lymfadenektomie anebo jejich technickou stránkou. Jednoznačně můžeme z těchto studií vyvodit závěr, že lymfadenektomie prováděná u pacientek s nízkým rizikem nezlepšuje výsledky. Nemůžeme však vyvodit jednoznačné závěry u chirurgického stagingu pacientek s vysokým rizikem. Ve studii SEPAL (Trimble et al. 1998) byly hodnoceny výsledky u pacientek s vysokým rizikem (grade 3, hloubka invaze do myometria, LVSI invaze). Tyto pacientky byly rozděleny do dvou skupin. Pacientky s paraaortální lymfadenektomií vykazovaly delší dobu přežití než ty, které měly jen pánevní lymfadenektomii. Tento přínos, ale nebyl pozorován u pacientek s nízkým rizikem. Studie PORTEC identifikovala pacientky ve stádiu 1C grade 3 jako vysoce rizikové pro časný metastatický rozsev a následné úmrtí jestliže byly léčené jen hysterektomií (žádný staging) s následnou pánevní teleterapií. Tyto pacientky měly 31% riziko relapsu. (Creutzberg et al. 2000)

Zdá se tedy, že z lymfadenektomie mohou profitovat ty pacientky, které mají další asociované rizika, jakými je histologický grade 3, hluboká invaze do myometria a LVSI.

Další otázkou zůstává, jak můžeme informaci z chirurgického stagingu využít pro adjuvantní terapii. V případě, že by bylo možné identifikovat pacientky s rizikem lokoregionální nebo distální rekurence, bylo by možné i adekvátně modifikovat jejich následnou léčbu. Například u pacientek s vysokým rizikem lymfatického nebo pánevního šíření je indikována radiační terapie zahrnující tyto oblasti. U pacientek s vysokým rizikem abdominálních a hematogenních

metastáz je indikovaná následná chemoterapie. Jak již bylo uvedeno dříve, základním protokolem pro léčbu karcinomu endometria i nadále zůstává hysterektomie s bilaterální adnexektomií s peritoneální laváží a chirurgickým stagingem. Potřeba provést lymfadenektomii záleží na typu nádoru, jeho grade, na hloubce invaze do endometria a přítomnosti extrauterinních metastáz. Pánevní a paraaortální lymfadenektomie je indikována u pacientek s následnými rizikovými faktory: extrauterinní šíření, grade 3, neendometroidní typ nádoru nebo průkaz invaze více než do poloviny myometria. U pacientek se serózním papilárním karcinomem endometria připojujeme omentektomií, apendektomii a biopsii peritonea.

Cílem chirurgického stagingu by měla být identifikace pacientek s diseminací onemocnění nebo těch, které mají vysoké riziko relapsu. Měl by být součástí pooperačního rozhodování o následné léčbě a potencionálně by měl vést i k redukci počtu pacientek, které vyžadují následnou léčbu.

Jiný pohled na význam chirurgického stagingu nám však poskytuje pohled na statistická data v jednotlivých věkových kohortách. Více než 90% případů je u žen nad 50 let s průměrem 63 let. Incidence u starších žen (60 až 69let) vzrostla například ve Velké Británii o 19% mezi roky 1993 - 2001. U nás je tento trend také zřejmý. Z tohoto pohledu je jasné, že nejproblematictější skupinou je kohorta žen mezi 65 až 85 rokem, která je nejvýznamnější z pohledu mortality (70% je v této věkové kohortě). Bohužel komorbidita a rizika pro radikální chirurgickou léčbu jsou v této skupině téměř pravidlem. Chirurgický staging byl postupně v řadě doporučených postupů akceptován od „maximalistické“ varianty ACOG/SOG guidelines 2005, který vyžaduje lymfadenektomii pro všechna stadia invazivních karcinomů až po provokativní závěr mezinárodní ASTEC studie publikované v roce 2009 (Kitchener et al. 2009) se závěrem, že lymfadenektomii nelze doporučit mimo klinické studie. V této studii bylo randomizováno 1 408 žen do ramena s hysterektomií a do druhého ramene s pánevní lymfadenektomií. Zastoupení žen s nálezem pozitivních lymfatických uzlin bylo přibližně 9%. Rozdíl mezi 5ti-letým přežitím byl jen 1% a rozdíl v 5ti-letém „recurrence free survival“ byl 6%, takže nebyl zjištěn žádný přínos ve smyslu celkového nebo recurrence free survivalu. Hazard ratio pro celkové přežití bylo v této studii 1.04 a recurrence free survival byl 1.25. I přesto, že této studii bylo vyčítáno, že ve skupině s lymfadenektomií bylo více žen s rizikovými faktory, zatímco radioterapie byla indikována u stejného počtu pacientek v obou skupinách, její závěry jsou velice zajímavé.

V jiné studii (LINCE) (Benedetti et al. 2008) bylo obdobně randomizováno 514 žen. Recurrence free survival byl 83,3%, resp. 80%. Hazard ratio pro recurrence free survival bylo 1.2 a pro úmrtí bylo 1.1. Rameno s lymfadenektomií mělo ale statisticky signifikantně vícero časných i pozdních komplikací.

Jak bylo již výše uvedeno studie PORTEC (Creutzberg et al. 2000) a GOG 99 (Keys et al. 2004) potvrdily pokles v četnosti rekurence bez zlepšení přežití s přidáním adjuvantní terapie. Studie Kwona et al (Kwon et al. 2009) retrospektivně hodnotila ženy, které podstoupily operaci pro karcinom endometria. Autoři hodnotili 316 případů, kde byly dostupné veškeré informace o uterinních rizikových faktorech (věk nad 60 let, grade 3, hloubka invaze nad 50% a invaze do hrdla děložního) a které postoupily lymfadenektomii. Zaznamenali 12% pozitivních lymfatických uzlin a 5ti-leté přežití bylo 53,1% pro ženy s pozitivními uzlinami a dvěma nebo třemi rizikovými faktory a 75% u žen s pozitivními lymfatickými uzlinami a se žádným nebo jedním rizikovým faktorem. Pozitivita lymfatických uzlin nebyla nezávislým faktorem pro přežití (HR 1,39, CI 95% 0,89 – 2,18). Současný český konsensus Guideline 2010 je kompromisem těchto krajních variant

## 1.2. VÝZNAM SENTINELOVÉ UZLINY

V posledních 20-ti letech se terapie nádorových onemocnění výrazně změnila. U nádoru prsu byla radikální mastektomie postupně nahrazena prsem zachovávající operací kombinovanou s adjuvantní terapií, chemoterapií a hormonální léčbou. Redukce radikality vedla k výraznému snížení morbidit se zachováním obdobného přežití. Vzhledem k tomu, že uzlinové metastázy jsou jednou z nejčastějších charakteristik šíření nádorů, jejich zhodnocení je požadováno ke stanovení stagingu, stanovení prognózy a plánování adjuvantní terapie. **Sentinelová uzlina je definována jako první uzlina nebo skupina uzlin, které drénují postiženou anatomickou oblast, nebo přímo primární nádor.** Status sentinelové uzliny by měl odrážet situaci v celé lymfatické oblasti. To znamená, že jestli je sentinelová uzlina negativní, následné lymfatické uzliny by měly být také negativní. Koncept sentinelové uzliny je založen na detekci s využitím barviva a/nebo radiokoloidů s následným vyjmutím uzliny a jejím histologickým zhodnocení. Předmětem diskuse je také význam malých shluků nádorových buněk (mikrometastáza), které lze identifikovat sériovým prořezáním sentinelové uzliny s využitím metod imunohistochemie.

### 1.1.1. DETEKCE SENTINELOVÉ UZLINY U KARCINOMU ENDOMETRIA

Jak již bylo uvedeno výše hlavním cílem detekce sentinelové uzliny u časných nádorů karcinomu endometria je redukce morbidit spojené s lymfadenektomií a zároveň správná identifikace těch, kteří mohou mít užitek z adjuvantní terapie. Bylo zjištěno, že hloubka invaze do myometria a histologický grade jsou nezávislými prognostickými faktory pro šíření do lymfatických uzlin u časných nádorů endometria (stage I). Jak již bylo uvedeno výše, některé studie (ASTECC, LINCE apod.) naznačily, že lymfadenektomie nepřináší kromě preciznějšího stagingu žádný významný terapeutický efekt. Bez informace o stavu lymfatických uzlin nelze ale spolehlivě provést staging dle FIGO. (Abu Rustum et al. 2009b) Některé studie (Frumovitz et al. 2004) naznačily, že existují výrazné diskrepance v předoperačním a pooperačním stagingu (až 27%). Zobrazovací metody nejsou spolehlivé a jejich přínos není dostatečný. V recentní studii (Ballester et al. 2010) jenom 70% pacientek bylo správně předoperačně zařazeno do stage dle FIGO. Neosvědčily se ani metody, které jsou specifitější pro detekci nádorových struktur jakými je PET. Tady vzniká dilema mezi efektem lymfadenektomie, její zátěží pro již tak z větší části rizikové pacientky a potřebou mít v rukách dostatečnou informaci o rozsahu šíření nádoru aby bylo možné selektovat pacientky pro adjuvantní terapii. Detekce sentinelové uzliny je dobrou alternativou pro skupinu pacientek, které nebudou profitovat z kompletní lymfadenektomie, která je spojená s vysokou morbiditou. ((Ballester et al. 2009; Mais et al. 2011)

V souvislosti s hledáním efektivní metody pro detekci sentinelové uzliny se odborníci potýkají především s těmito problémy: jaká je lymfatická drenáž z děložního těla? Odráží výběr místa aplikace markeru skutečnou drenáž nádoru? Jakým způsobem dosáhnout detekce sentinelové uzliny, neboli jaká technika je nejvhodnější? (Kitchener 2011) Nadále je samozřejmě zapotřebí najít techniku, která by byla dostatečně senzitivní s vysokou negativní predikční hodnotou. Většina studií je ale zatím zatížená malými čísly a hledáním správné strategie. (Levenback et al. 2009)

Jednou z prvních studií zabývajících se detekci sentinelových uzlin u karcinomu endometria byla studie skupiny z MD Anderson Cancer Center (Burke et al. 1996). Jednalo se o malou studii, která zahrnovala 15 žen se středním vysokým rizikem. Využily isosulfan, který injikovali do

fundu z celkem 4 vpichů. Detekce byla úspěšná v 67%. Poměrně vysoké bylo zastoupení pozitivních uzlin (27%). Tato studie naznačila, že je možné uvažovat o tomto konceptu také u karcinomu endometria, ale také naznačila, že drenáž z dělohy je komplexnější a složitější.

V letech 2001 a 2002 Holub a kol. (Holub et al. 2002; Holub et al. 2001) publikoval zprávu o možnosti detekce sentinelové uzliny laparoskopicky. Využili patentní modř s detekcí v 62.5%. Barvivo aplikovali z několika bodů subserózně a lymfatika byla zobrazena v průběhu 30-60 sekund. V další studii srovnávali subserózní a cervikokorporální aplikaci barviva u 25 pacientek. Subserózní aplikace vedla k detekci sentinelové uzliny v 61.5% ale v případě cervikokorporální aplikace to bylo již 83.3%. Cervikokorporální aplikací bylo detekováno také signifikantně více sentinelových uzlin. V roce 2004 tato skupina publikovala další studii pojednávající o laparoskopické detekci SN a byli úspěšní v 84%. (Holub et al. 2004). V roce 2002 byla opublikována první studie, kde autoři zkoušeli identifikaci SN pomocí kombinace patentní modři s radioizotopem Technecia značeného radiokoloidu. (Pelosi et al. 2002). v roce 2004 (Niikura et al. 2004) byla poprvé vyzkoušena detekce sentinelové uzliny pomocí hysteroskopické aplikace. (Gien et al. 2005) Jako marker využili koloid značený radioizotopem technecia. Od té doby bylo publikováno téměř 40 studií zabývajících se touto problematikou.

Většina studií se potýká s problémem mapování lymfatických uzlin s ohledem na komplexní lymfatický systém děložního těla. Senzitivita metody je spojená s anatomickými a technickými obtížemi jakými jsou adekvátnost injekce, místo injekce, použitá látka, doba od aplikace po detekci apod. I když například intracervikální aplikace může poskytovat dobré výsledky, co se týče detekce, neodráží přesně obraz lymfatické drenáže z děložního těla.

Neúspěch při identifikaci sentinelové uzliny může spočívat v blokaci lymfatických uzlin nádorovými buňkami. Lopes et al. (Lopes et al. 2007) uvádějí „failure rate“ až 55.6%. u velké části těchto pacientek pak bylo zjištěno metastatické postižení. Děloha vzniká splynutím Müllerových vývodů a z toho plyne také drenáž do obou stran pánve. Nedá se tudíž předpokládat, že stav sentinelové uzliny na jedné straně reflektuje stav lymfatického aparátu na kontralaterální straně. Některé studie uvádí bilaterální identifikaci, což je poměrně zajímavé. V tom případě poklesne detekce na 12 až 73%. V případě, že je brána v úvahu detekce sentinelu na hemipelvis, výrazně to omezuje použitelnost pro karcinom endometria vzhledem k výraznému poklesu senzitivity. Touto problematikou se také zabývá největší publikovaná studie z USA (Barlin et al. 2012), kde kombinovaná detekce je udávána 81%, ale na hemipelvis to je jen 51%. Falešná

negativita dosahovala 14.9%. Autoři tudíž volili zajímavý algoritmus: v případě nedetekování sentinelu v konkrétní polovině pánve, provedli lymfadenektomii v této specifické oblasti. Tak snížily falešnou negativitu na 2%.

Falešná negativita je samozřejmě klíčovým ukazatelem. V mnoha z publikovaných studií je tento parametr rovný nule. Musíme si ale uvědomit, že to může být jednak způsobené malým množstvím pacientek a jednak spojené s relativně nízkou incidencí metastáz do lymfatických uzlin u časných karcinomu endometria. Velká recentně publikovaná multicentrická studie SENTI-ENDO (Ballester et al. 2011) uvádí jen 3 pacientky s falešně negativními uzlinami. V této studii bylo ale poměrně mnoho metastáz (až 17%).

Z hlediska aplikace markeru pro detekci sentinelové uzliny se v současnosti používají hlavně tato místa k injekci pro lymfatický mapping: subserózní aplikace do oblasti děložního fundu, intracervikální aplikace a aplikace pod endometrium, prostřednictvím hysteroskopie. (Ayhan et al. 2008) (Khoury-Collado and Abu-Rustum 2008; Khoury-Collado et al. 2009) Několik studií využívalo subserózní aplikace markerů a detection rate se pohyboval v rozmezí od 45 až 92%. Nejvyšší detekce dosáhl Altgassen (Altgassen et al. 2007) Bylo to 92% a použil injekci z osmi subserózních vpichů (4 ventrálně a 4 dorzálně). Tyto údaje mohou naznačovat, že senzitivita stoupá s počtem vpichů na různých místech děložního těla. Tato technika může být podobná, jakou popsal Li (Li et al. 2007), který udával detekci sentinelové uzliny v 75%. Intracervikální aplikace je nejjednodušší a nejčastěji používanou technikou pro aplikaci modři a koloidů značeného techneciem 99m. V mnoha studiích byl marker aplikován intracervikálně nebo v kombinaci s injekcí do subserózního endometria. Senzitivita se pohybovala v rozmezí 41 až 100%. Teoretickým problémem s touto technikou aplikace markerů je otázka zda šíření lymfatických uzlin se odlišuje od karcinomu hrdla děložního a karcinomu endometria. Takže je diskutabilní, zda intracervikální injekce může poskytnout spolehlivou informaci o sentinelové uzlině u karcinomu endometria. Je známý fakt, že lymfatická drenáž z děložního fundu se uskutečňuje také prostřednictvím ligamentum infundibulopelvicum. V nedávné době publikoval Abu Rustum (Abu Rustum et al. 2009b) se spolupracovníky studii, kde kombinovali intracervikální injekci a injekci do fundu děložního, ale tato technika nepřinesla zvýšení detekce. Mnohé studie se také zabývaly hysteroskopickou aplikací za účelem identifikace sentinelové uzliny. Jednou z největších je studie, kterou publikoval Delaloye. (Delaloye et al. 2007). Zajímavé je, že žádný z pacientů neměl pozitivní uzliny jen v paraaortálním prostoru.

Tento způsob detekce volily i Niikura (Niikura et al. 2004) a Maccauro (Maccauro et al. 2005) a dosáhli velmi dobrých výsledků. Detection rate se při tomto způsobu aplikace pohyboval od 40 do 100%. Jedním z hlavních problémů hysteroskopické operace je riziko diseminace maligních buněk. Maccauro (Maccauro et al. 2005) a Raspagliesi (Raspagliesi et al. 2004) udávají jen jednoho pacienta s pozitivní laváží. Gien (Gien et al. 2005) nezjistil u žádného pacienta pozitivní peritoneální laváž. Většina studií detekovala sentinelové uzliny v oblasti pánve (zevní iliická, společná iliická a v oblasti okuratorové fossy). Jen 4% byly lokalizovány v paraaortální prostoru.

Nedávno byla publikována metaanalýza 26ti studií, která hodnotila výkonnost detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria. (Kang et al. 2011). V této studii bylo dohromady hodnoceno 1101 výkonů. Průměrný počet sentinelových uzlin byl 2.6. Celková detekce byla 78% (95% CI=73-84%) a senzitivita dosahovala 93% (95%CI=87-100%). Byla zaznamenána vysoká heterogenita mezi výpovědnou hodnotou studií. Celkem hysteroskopická aplikace byla spojena se statisticky významným poklesem v detection rate, subserosní vedla k poklesu senzitivity. Senzitivita byla na úrovni jiných nádorů, kde se využívá detekce sentinelové uzliny (např. kolorektální karcinom, karcinom vulvy). Detection rate byl ale poněkud nižší než u jiných solidních nádorů, což pravděpodobně plyne z komplexní lymfatické drenáže dělohy, jak jsme již uváděli. Detection rate je mimořádně významný pro úspěšné zavedení metody, její klinické využitelnosti a diagnostické spolehlivosti. Byl zaznamenán také mimořádně významný efekt malých studií. Autoři doporučili další studie, které by objasnily nejlepší metodiku a nejspolehlivější cestu k detekci sentinelových uzlin u karcinomu endometria.

Tabulka 1 - Studie zabývající se detekci sentinelové uzliny u karcinomu endometria - přehled

AUTHOR	APLIKACE	ZNAČENÍ	POČET ŽEN	DR %
(Holub et al. 2002)	subserosně intracervikálně	Blue dye Blue dye	13 12	62% 83%
(Gargiulo et al. 2003)	laparoskopicky intracervikálně	Tc	11	100%
(Gargiulo et al. 2003)	hysteroskopicky	Tc Tc+Blue dye	28	61%
(Holub et al. 2004)	subserosně	Blue dye	25	84%
(Niikura et al. 2004)	hysteroskopicky	Tc	28	82%
(Fersis et al. 2004)	hysteroskopicky	Tc	10	70%
(Barranger et al. 2005)	intracervikálně	Tc Blue dye	17	94%
(Raspagliesi et al. 2004)	hysteroskopicky	Tc Blue dye	18	83%
(Gien et al. 2005)	subserosně pod HS hysteroskopicky	Blue dye	16	51% 56%
(Maccauro et al. 2005)	hysteroskopicky	Tc Blue dye	26	100%
(Delaloye et al. 2007)	hysteroskopicky	Tc Blue dye	60	82%
(Dzvincuk et al. 2006)	intracervikálně	Tc	33	79%
(Frumovitz et al. 2007)	subserosně	Tc Blue dye	18	45%
(Altgassen et al. 2007)	subserosně	Blue dye	25	92%
(Lopes et al. 2007)	subserosně	Blue dye	40	78%
(Li et al. 2007)	subserosně	Blue dye	20	75%
(Perrone et al. 2008)	intracervikálně hysteroskopicky	Tc	23 17	70% 65%
(Clement et al. 2008)	hysteroskopicky	Tc blue dye	5	40%
(Ballester et al. 2008)	intracervikálně	Tc blue dye	46	87%
(Bats et al. 2008)	intracervikálně	Tc blue dye	43	69.8%
(Abu Rustum et al. 2009)	intracervikálně subserosně	Tc blue dye	42	86%
(Robova et al. 2009)	hysteroskopicky subserosně	Tc blue dye	67	50% 73.1%
(Khoury-Collado et al. 2009)	intracervikálně intracervikálně+subserosně	Tc blue dye	115	85%
(Vidal-Sicart et al. 2009)	subserosně	Tc	35	64%
(Feranec et al. 2010)	hysteroskopicky	Tc blue dye	21	81%
(Mais et al. 2010)	intracervikálně LS intracervikálně LT	blue dye	17 17	82% 41%
(Ballester et al. 2011) SENTI-ENDO	intracervikálně	Tc blue dye	125	89%
(Khoury-Collado et al. 2011)	intracervikálně	Tc blue dye	266	84%
(Cordero Garcia et al. 2012)	intracervikálně	Tc blue dye	19	89.5%
(Barlin et al. 2012)	intracervikálně	Tc blue dye	498	81%



## 2. CÍLE STUDIE

Koncepce identifikace sentinelových lymfatických uzlin již byla ověřena u řady gynekologických nádorů a je ve standardních postupech u karcinomů prsu a vulvy. Probíhají rozsáhlé klinické studie týkající se karcinomu hrdla děložního. Na našem pracovišti se dlouhodobě specializujeme na problematiku méně radikálních postupů u gynekologických malignit. Publikovali jsme v oblasti detekce sentinelové uzliny u karcinomu vulvy. (Rob et al. 2007), karcinomu prsu. Dále jsme publikovali velké studie hodnotící detekci sentinelu u karcinomu hrdla děložního. (Pluta et al. 2009; Rob et al. 2005a; Rob et al. 2010a; Rob et al. 2010b; Rob et al. 2008; Rob et al. 2011; Rob et al. 2005b). Tento koncept u uvedených nádorů vede k individualizaci terapie, ze které profitují pacientky a přináší srovnatelné léčebné výsledky při výrazném zlepšení kvality života operovaných žen. U karcinomů endometria se zatím nepodařilo vypracovat spolehlivý protokol aplikace a identifikace, jehož detekční schopnost by byla využitelná v klinické praxi. Lymfatická drenáž z děložního těla, respektive u nádorů endometria má složitější charakter a teoreticky závisí na lokalizaci nádoru a rozsahu infiltrace myometria. Peritumorózní hysteroskopická nebo peritumorózní subserózní aplikace lymfotropních látek je v řadě případů obtížně technicky proveditelná a neposkytuje dostatečnou detekci. V naší práci se zabýváme různými technikami aplikace markeru za účelem nalezení metody, která bude jednoduchá, efektivní a použitelná v klinické praxi.

### **Cíle projektu:**

1. Prospektivně provést srovnání metod detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria pomocí aplikace kombinace lymfotropních látek (patentové modři a Techneciem99 značeného radiokoloidu) do děla děložního.
2. Srovnat distribuci detekovaných sentinelových uzlin po aplikaci do těla děložního s intracervikální aplikací u karcinomu hrdla děložního.
3. Porovnat metodu hysteroskopické, subserosní - peritumorosní a subserosní - difusní (z osmi vpichů) aplikace markeru.

### 3. SOUBOR A METODIKA

Od ledna 2004 do března 2012 bylo do studie zahrnuto 141 žen s časnými stadiemi karcinomu endometria. Byly to pacientky po kyretáži, nebo po hysteroskopické biopsii s ověřeným endometroidním karcinomem jejichž interní stav umožňoval radikální chirurgickou léčbu a které odsouhlasily účast na projektu. U každé ženy bylo provedené ultrazvukové nebo NMR vyšetření dělohy s určením míry invaze a její lokalizace. Do projektu nebyly zahrnuty ženy s variantami non-endometroidních karcinomů. 10 pacientek bylo ze studie vyřazeno pro přítomnost duplicity jiného nádoru nebo vzdálených metastáz. Jak již bylo napsáno v úvodu, neproblematičtější bylo hledání optimální metody aplikace radiokoloidu. V letech 2004 až 2006 jsme randomizovali pacientky do dvou skupin: do skupiny, kdy jsme aplikovali lymfotropní látky hysteroskopicky a do druhé, kde aplikace byla subserosní ze 4 vpichů. Na základě předběžných výsledků, kdy hysteroskopická (23 případů) aplikace představovala výrazně nižší pravděpodobnost detekce, jsme v následujících letech tuto metodu opustili a v letech 2006 až 2009 bylo u všech pacientek prováděno jen subserosní aplikaci ze 4 vpichů. V následujícím období (2009 až 2012) jsme aplikovali lymfotropní látky subserosně z 8 vpichů (4 z ventrální strany a 4 na dorzální straně dělohy).

**Subserosní peritumorosní (ze 4 vpichů).** Pro techniku aplikace bylo použito vlastní schéma časování tzv. „jednodenního krátkého protokolu“ využívající radiokoloid technecia (SENTISCINT – <sup>99m</sup>Tc koloidní albumin, MEDI-RADIOPHARMA LTD, Maďarsko) v dávce 20 MBq ředěné do 2 ml fyziologického roztoku, připraveného 30 až 60 minut před vlastní operací a 2 ml Patentové modři (BLEU PATENTÉ V 2.5% - Guerbert, Francie) ředěné ve 2 ml fyziologického roztoku. K peroperační detekci radioaktivity byla použita ruční nebo laparoskopická gama sonda (NEOPROBE, Johnson and Johnson, USA). Radiokoloid technecia byl aplikován na operačním sále po otevření dutiny břišní laparotomií nebo speciální jehlou při laparoskopii „peritumorosně“, se snahou o aplikaci dle předchozího ultrazvukového popisu v některých případech i NMR popisu maximální invaze nádoru do stěny děložní. Děložní tělo nebylo fixováno a hrany nebyly zachyceny žádnými nástroji pouze šetrně a dvěma prsty při laparotomii nebo atraumatickým nástrojem při laparoskopii. Aplikace byla prováděná ze 2 až 3 vpichů subserosně a to do nepostížené části myometria v okolí tumoru. Důležité bylo se vyvarovat přímé aplikace do tumoru. Do každého místa aplikace bylo aplikováno cca 0.6-1 ml radiokoloidu. Adheze nebyly rozrušovány, retroperitoneum zůstalo intaktní. Patentová modř

byla aplikována stejnou technikou následně. Po aplikaci se čekalo 5-10 minut a pouze se sleduje eventuelně průběh modrých kanálů. Poté bylo široce otevřeno retroperitoneum a kontrolovány pomocí gama sondy všechny regiony lymfatického šíření. Za aplikaci byl zodpovědný operátor.

**Hysteroskopická, peritumorosní.** Hlavním úskalím hysteroskopické aplikace byla velice obtížná až nemožná peritumorosní aplikace u plošně a invazí do myometria rozsáhlejších nádorů, kdy nejsme schopni exaktněji odhadnout nezasažené okolí nádoru, tedy teoreticky nepostižené myometrium. Intratumorózní aplikace není správnou cestou u žádného z nádorů, kde se využívá v klinické praxi či experimentu mapování sentinelových uzlin. V experimentu byla hysteroskopie prováděna ráno cca 3 hodiny před vlastní operací a následně byla provedena scintigrafie nebo SPET – CT k orientační detekci sentinelových uzlin. Podobně jako u předchozího protokolu byl použitý Techneciem značený marker (SENTISCINT – 99mTc koloidní albumin, MEDI-RADIOPHARMA LTD, Maďarsko) v dávce 20 MBq ředěné do 2 ml fyziologického roztoku, připraveného 30 až 60 minut před použitím. Hodinu po injekci byly provedené snímky za pomoci gama kamery Sopa DXT s nízkoenergetickým snímačem o vysokém rozlišení. Lokalizace sentinelů takto zjištěných byla označena voděodolným markerem na kůži pacientky. Dále byl signál pooperačně ověřen ruční nebo laparoskopickou gama sondou. Podobně jako u cervixu i zde nepovažujeme za přínosné scintigrafické vyšetření, protože měření aktivity pooperačně pomocí sond je exaktnější a přínosnější a z hlediska managementu jednodušší a ekonomicky výhodnější.

**Subserosní, difusní z osmi vpichů.** Úskalí a nemožnost exaktní peritumorosní aplikace subserózní technikou nás vedl k přehodnocení techniky aplikace. Teoreticky vycházíme z předpokladu při aplikaci z 8 vpichů postihneme celotělovou drenáž (obr 4) a snadněji se vyhneme artefaktům, které způsobuje intratumorózní aplikace. Tento protokol byl po pilotním vyzkoušení zaveden v roce 2009. I zde je nutná exaktní topografie odhadu invaze pomocí ultrasonografie ev. NMR aby se bylo možné vyhnout intratumorosní aplikaci. Pro techniku aplikace bylo použito vlastní schéma časování tzv. „jednodenního krátkého protokolu“ využívající radiokoloid technecia (SENTISCINT – 99mTc koloidní albumin, MEDI-RADIOPHARMA LTD, Maďarsko) v dávce 20 MBq ředěné do 2 nebo 4 ml ml fyziologického roztoku, připraveného 30 až 60 minut před vlastní operací a 2 ml Patentové modři (BLEU PATENTÉ V 2.5% - Guerbert, Francie) ředěné 2 ml fyziologického roztoku. K pooperační detekci radioaktivity byla použita ruční nebo laparoskopická gama sonda (NEOPROBE, Johnson and Johnson, USA). Radiokoloid technecia byl aplikován na operačním sále po otevření dutiny břišní

laparotomií nebo speciální jehlou při laparoskopii do 8 bodů – 4 vpichy na přední stěnu a 4 vpichy na zadní stěnu dělohy. Hloubka aplikace je vedena snahou neaplikovat radiokoloid či modř intratumorosně – je tedy prováděna subserosně a maximálně do zevní třetiny myometria. Orientaci nám opět dává předchozího ultrazvukový popis v některých případech i NMR popis maximální invaze nádoru do stěny děložní. Děložní tělo není fixováno a hrany nejsou zachyceny žádnými nástroji pouze šetrně dvěma prsty při laparotomii nebo atraumatickým nástrojem při laparoskopii. Do každého místa aplikace bylo aplikováno cca 0.3 až 0.5 ml radiokoloidu. Adheze se nerozrušují, retroperitoneum zůstává intaktní. Patentová modř byla aplikována stejnou technikou následně. Po aplikaci se čeká 5-10 minut a pouze se sleduje průběh modrých kanálů. Následuje široké otevření retroperitonea a detekce pomocí gama sondy „horkých“ uzlin v jednotlivých oblastech. Za sentinel považujeme uzlinu, která vykazuje více než 10% aktivity dělohy. Za aplikaci je zodpovědný operatér. Pro distribuci a lokalizaci používáme standardizovanou vlastní modifikaci spádových oblastí.

Všechny pacientky podepsaly informovaný souhlas. Ženy s peroperačním nálezem zvětšených uzlin („bulky“) nebo extrauterinní diseminaci byly ze studie vyloučeny. Ze studie byly vyloučeny také ty, jenž měli v histologii nález serosně papilárního karcinomu. Pacientky podstoupily extrafasciální abdominální hysterektomii s bilaterální adnexetomií a pánevní a suprapelvickou lymfadenektomií.

Pro distribuci a lokalizaci používáme standardizovanou vlastní modifikaci spádových oblastí.

**Oblast zevní ilická** – je definována jako uzliny, které jsou v kontaktu se zevní ilickou arterií a vénou od bifurkace až po inguinu. V detailním popisu je rozdělena na tři podoblasti – zevní od společné, zevní střední, zevní od inguiny. Druhou oblastí je oblast **supraobturatorová**. Ta má hranici vnitřní ilické arterie a vény včetně uzlin v jejich kontaktu, obturatorního nervu, pánevní stěny, obliterované chordy arterie umbilicalis a vstupu do femorálního kanálu. I tuto oblast pracovně rozdělujeme na supraobturatorní od ilických cév, supraobturatorní střední, supraobturatorní od kanálu. Třetí oblastí je oblast **společné ilické arterie a vény**. Uzliny musí být v těsné blízkosti nebo v kontaktu s cévou. V některých případech rozpaků v hraničních polohách uzlin je pro určení oblasti rozhodující lokalizace ve vztahu k arterii, která tvoří hranici oblasti. **Presakrální oblast** je ohraničena společnou ilickou arterií a vénou – uzliny nesmí být v kontaktu s těmito cévami a podle lateralizace je dělíme na presakrální vpravo a vlevo.

Další je oblast **mediální části paracervixu** – prostor od děložního hrdla – laterálně ohraničený obliterovanou chordou umbilikální arterie a spodinu tvoří vnitřní ilická arterie a vena a její

odstupující větve. Suprapelvicke uzliny považujeme též za první etáž lymfatické drenáže děložního těla. **Paraaortální dolní - inframezenterická oblast** má dolní hranici u bifurkace společných ilických arterií, horní arteria mezenterika inferior. **Paraaortální horní - supramezenterická oblast** má dolní hranici u arteria mezenterika inferior a kraniálně je ohraničena renálními cévami. Toto rozdělení oblastí považujeme za nejvhodnější, protože používá jasné anatomicky identifikovatelné hranice.

Jako sentinelové uzliny jsou hodnoceny modré uzliny anebo „horké“ - Tc aktivní uzliny vykazující minimálně 1/10 radioaktivity v děložním těle. Aktivita je měřena před extirpací a kontrolně i jejich aktivita ještě měřena mimo operační pole. Tato aktivita je zaznamenána do protokolu, uzliny jsou šetrně vypreparovány z okolní tukové tkáně a odeslány k pooperačnímu zpracování. Histopatologické zpracování sentinelových lymfatických uzlin, ostatních odstraněných lymfatických uzlin, bylo prováděno standardizovaným postupem, definitivní nálezy byly diskutovány průběžně na společném onkogynekologických seminářích.

**Technika zpracování:** po vypreparování z okolní tukové tkáně je sentinelová lymfatická uzlina změřena v podélné ose. Uzliny menší než 8 mm jsou zpracovány vcelku, větší lymfatické uzliny jsou podélně rozpůleny a každá část je zpracována samostatně. Peroperační vyšetření materiálu probíhá standardizovaným protokolem, který sestává ze zamražení tkáně v tekutém dusíku a zhotovení 3 – 6 sériových řezů o tloušťce 4  $\mu\text{m}$ , všechny v jedné úrovni řezu. Tkáňové řezy jsou k histopatologické analýze barveny Harrisovým hematoxylinem. Po peroperačním vyšetření je materiál rozmražen a fixován po dobu 24 hodin ve 4% pufovaném formaldehydu (pH 7,2). Následně jsou lymfatické uzliny zpracovány běžnými histologickými technikami a zality do parafínových bloků, které jsou sériově prokrajovány v intervalu 200  $\mu\text{m}$ . Imunohistochemicky uzliny nebyly v našem souboru standardně vyšetřovány.

**Statistické zpracování.** Pro číselné proměnné byly určeny číselné charakteristiky polohy, aritmetický průměr a medián a charakteristiky variability směrodatná odchylka a směrodatná odchylka průměru. Pro test rovnosti věku ve skupinách byla použita parametrická analýza rozptylu (ANOVA), pro invazi a počet uzlin neparametrická analýza rozptylu (Kruskalův-Wallisův test). Pro posouzení závislosti kvalitativních proměnných byl použit Fisherův (přesný) test v kontingenční tabulce, neboť četnosti v jednotlivých buňkách tabulek nespĺňovaly předpoklady asymptotického chí-kvadrát testu. Výpočty byly provedeny v programu SAS v.9.3 a tabulky a grafy vytvořeny v programu Excel 2010.

## 4. VÝSLEDKY

V letech 2004 až 2012 bylo do studie zařazeno celkem 141 žen s endometrialním karcinomem. Všechny ženy souhlasily se zařazením do studie a splňovaly vstupní kritéria protokolu. Průměrný věk byl 60.08 let (36 až 79 let). Deset žen bylo ze studie vyřazeno kvůli nálezu extrauterinní diseminace, nebo byla zjištěna duplicita se zhoubným nádorem jiného původu. Ze studie byly vyloučeny také ty, jenž měli v histologii nález serosně papilárního karcinomu. Ze zbylých 131 žen bylo do studie s hysteroskopickou aplikací zařazeno 22 pacientek, do skupiny se subserosní peritumorosní aplikací bylo zařazeno 67 pacientek a do souboru se subserosní aplikací z 8 vpichů bylo zařazeno 43 pacientek.

Celkem bylo u 131 žen odstraněno 2220 lymfatických uzlin, což představuje průměrně 16.9 na pacientku. Charakteristika souboru dle jednotlivých stádií a grade je v tabulce 2 a 3

*Tabulka 2 - Složení souboru dle jednotlivých stádií.*

STADIUM FIGO 2009	POČET	%	HLOUBKA INVAZE DO MYOMETRIA / %
1a	84	64,1	21.5
1b	39	29,8	71.1
2	5	3,8	49.2
3a	3	2,3	71.8

*Tabulka 3 – Složení souboru dle grade*

GRADE	POČET	%	HLOUBKA INVAZE DO MYOMETRIA / %
1	78	59,5	29.8
2	34	25,8	48.3
3	14	10,6	48.7

Celkem bylo detekováno 215 sentinelových uzlin u 91 ze 131 pacientek. To znamená, že průměrně bylo nalezeno 2.36 sentinelové uzliny. Detection rate byl 69.46%. Jestliže ale zvažujeme detekci na každou stranu, tak aby byla v každé hemipelvis nalezena alespoň jedna

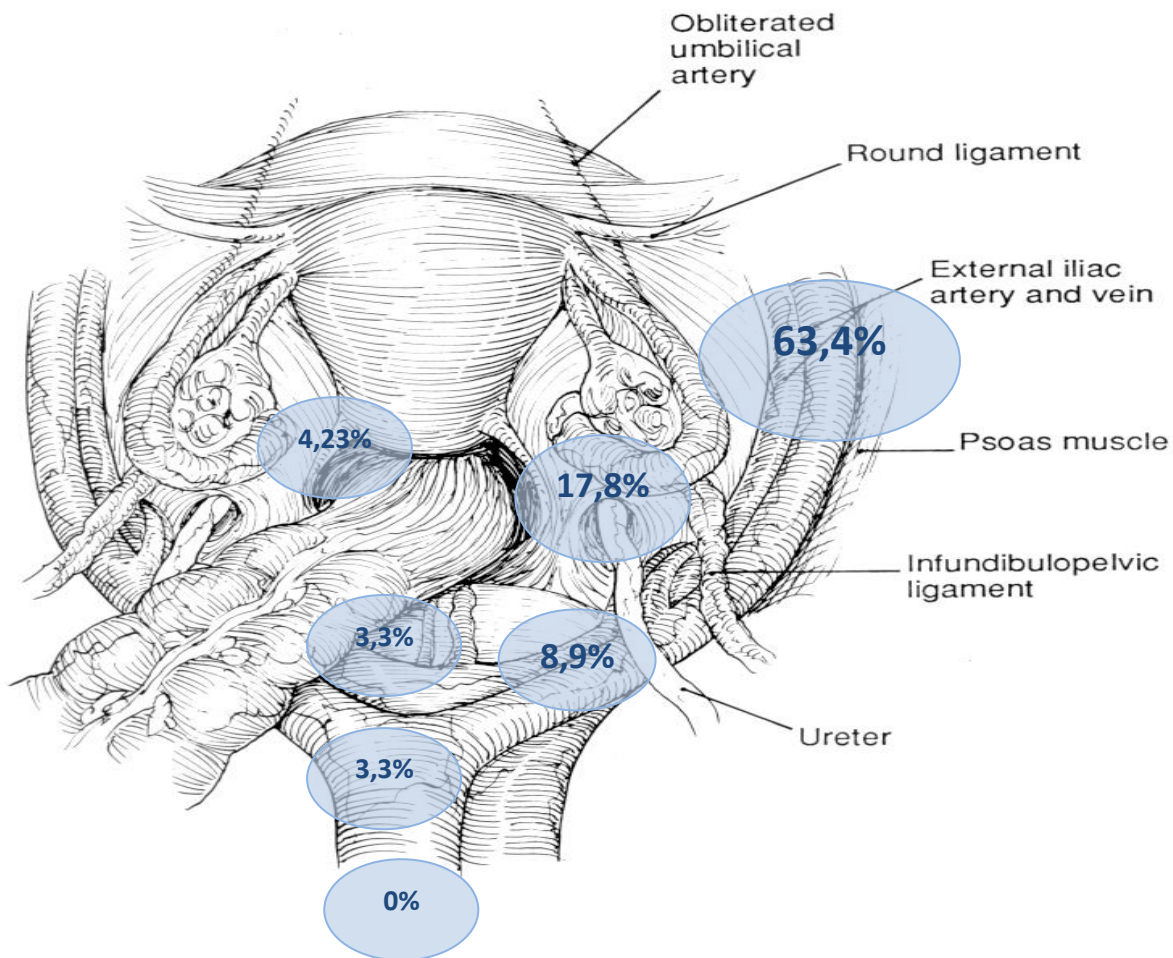
sentinelová uzlina, pak klesá detekce na 43.5%. Celková Senzitivita metody byla stanovená na 57%, ale její výpovědní hodnota je diskutabilní vzhledem k nízkým počtům pozitivních uzlin.

V tabulce 12 je uvedena distribuce 215 sentinelových uzlin dle anatomických oblastí tak jak bylo uvedeno v metodice. V oblasti zevních ilických cév byly sentinelové uzliny nalezeny v 63.4%, v supraobturatorní 17.8%, v oblasti společných ilik v 8.9%, v mediální části laterálního parametria ve 4.25%, v oblasti nesakrální 3.3% a v oblasti paraaortální ve 3.3%.

*Tabulka 4 – Distribuce sentinelových uzlin dle anatomických oblastí*

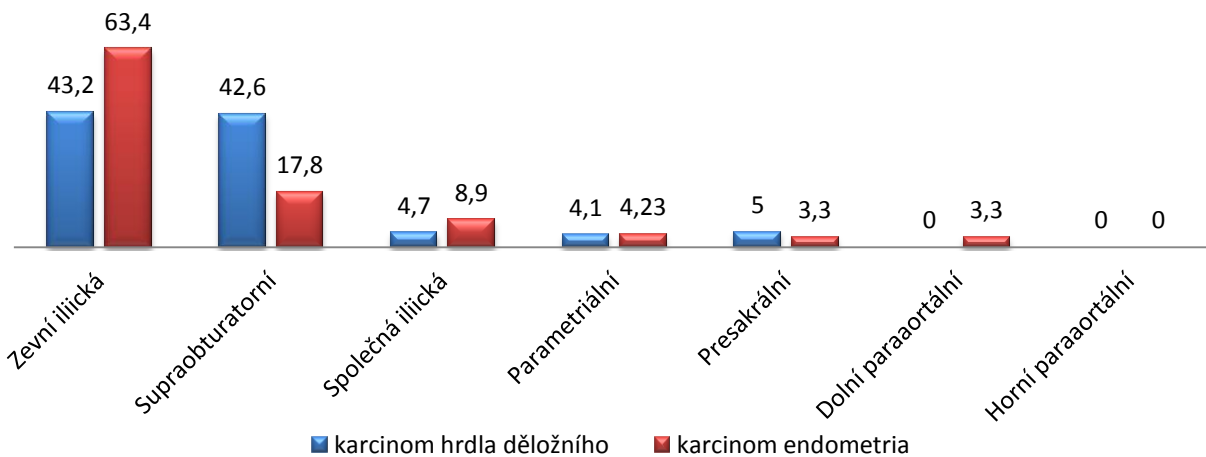
LOKALIZACE	POČET SENTINELOVÝCH UZLIN	%
ZEVNÍ ILIICKÁ ARTERIE A VÉNA	135	63,4
SUPRAOBTURATORNÍ	38	17,8
SPOLEČNÁ ILIICKÁ	19	8,9
PARAMETRIÁLNÍ	9	4,23
PRESAKRÁLNÍ	7	3,3
DOLNÍ PARAAORTÁLNÍ	7	3,3
HORNÍ NESAKRÁLNÍ	0	0
Σ	215	100

Obr. 1 - Distribuce sentinelových uzlin dle anatomických oblastí



Zajímavé je srovnání distribuce sentinelových uzlin u intracervikální aplikace u karcinomu hrdla děložního a karcinomu endometria. Rozdíl v distribuci je zjevný a koresponduje s odlišnou fatickou drenáží jednotlivých anatomických oblastí, které mají odlišný ontogenetický původ.

graf 1 - Srovnání distribuce sentinelových uzlin u karcinomu endometria a karcinomu hrdla děložního





Pozitivní uzliny byly detekovány celkem u sedmi pacientek v celém hodnoceném souboru (n=131), což představuje 5.34%. Jak je vidět z tabulky č. 14 ve čtyřech případech byla pozitivita detekována v námi identifikované sentinelové uzlině. Peroperační histologie identifikovala pozitivitu ve třech případech a v jednom případě pozitivita byla prokázána až v definitivní histologii, kde byla nalezena mikrometastáza 1x1mm. V jednom případě byla pozitivita nalezena u pacientky, kdy se detekce sentinelové uzliny nezdařila. Ve dvou případech byla sentinelová uzlina negativní a nesentinelová uzlina byla pozitivní (falešná negativita).

Tabulka 5 – Charakteristiky pacientek s pozitivními lymfatickými uzlinami

INICIÁLY	VĚK	GRADE	METODA	%INV AZE	T	LN	LN+	LOKALIZACE	S N	STRANA	SN+	POZN
HH	73	2	8 vpichů	80	1b	17	1	společná ilika vpravo	1	unilat	1	záchyt
HZ	65	1	8vpichů	90	1b	21	1	zevní ilika vlevo	0	0	0	SN nedetekována
VH	59	2	HS	55,6	1b	20	1	zevní ilika vpravo	1	unilat	0	falešne neg
ZN	51	3	subserosní	53,8	3a	19	1	zevní ilika vpravo	2	bilat	1	záchyt
MM	55	2	8vpichů	86,9	1b	49	1	zevní ilika vlevo	4	bilat	0	falešně negat
JP	62	2	8vpichů	33,3	1a	24	1	zevní ilika vpravo	1	unilat	1	záchyt
NS	58	3	8vpichů	70	1b	30	1	zevní ilika vlevo	4	bilat	1	záchyt

V našem souboru jsme srovnávali 3 metodiky detekce sentinelové uzliny: hysteroskopickou, subserosní peritumorosní a nakonec subserosní z osmi vpichů tak jak je uvedeno v metodice.

Tyto tři skupiny se statisticky významně neliší co do věku, BMI, míry invaze do myometria (v procentech), počet získaných lymfatických uzlin, zastopení pT stadia nádorů nebo grade.  $p > 0.05$ . Vypočetli jsme detection rate, ale výpočet senzitivity a specificity nebyl možný vzhledem k velmi nízkým počtům pozitivních uzlin.

**Hysteroskopicky (HS)** jsme aplikovali marker u 22 žen. Sentinelová uzlina byla detekována aspoň na jedné straně u 10 žen (45.5%). Bilaterálně u 18.2% žen.

**Subserosně peritumorosně (SS)** jsme aplikovali marker u 66 žen. Sentinelová uzlina byla úspěšně detekována u 48 žen (72.7%), bilaterálně u 51.5% žen.

**Subserosně z osmi vpichů (8)** jsme aplikovali marker u 43ti žen. Sentinelová uzlina byla úspěšně detekována ve 33 případech (76.7%), bilaterálně ve 44.2% případů.

Tyto metody byly statisticky významně odlišné na úrovni  $p < 0.05$ . Nejvíce se lišila hysteroskopická aplikace od aplikací subserosních a metoda s nejvyšší dosaženou detekcí byla subserosní z osmi vpichů.

## 5. DISKUSE A ZÁVĚR

Koncept identifikace sentinelových uzlin je perspektivní metodou vedoucí k redukci rozsahu operačních výkonů u nádorů s predilekčně lymfogenním šířením tak jak potvrdily četné studie u nádorů kolorektálních, nádorech prsu, melanomu a v poslední době také karcinomu vulvy a hrdla děložního. (Levenback 2008) Mezinárodní federace gynekologů a porodníků (FIGO) zařadila v roce 1988 chirurgický TNM staging zahrnující pánevní a paraaortální lymfadenektomií do standardu managementu léčby karcinomu endometria.

I přesto, že mnohé studie se zabývaly významem pánevní a paraaortální lymfadenektomie pro stanovení prognózy a indikaci adjuvantní léčby, stále probíhá odborná diskuse o přínosu ve smyslu terapie a zlepšení prognózy u těchto pacientek. (Mariani et al. 2008; Mariani et al. 2009). Nádory endometria jsou ve většině případů zachyceny relativně časně a postižení lymfatických uzlin je v takovéto populaci vzácné (8-12%). Jak již bylo uvedeno v úvodu několik studií v poslední době prokázalo, že lymfadenektomie v neselektované populaci nevede ke zlepšení recurrence free survival. (Kitchener et al. 2009) Je tedy zřejmé, že systematická pánevní a paraaortální lymfadenektomie je v neselektované populaci nadbytečná v téměř 90% případů. Nejvýznamnější skupina žen s karcinomem endometria je v 6. až 8. decenniu života, často ve spojení s obezitou a s další rizikovou zátěží až polymorbiditou. Tyto skutečnosti zvyšují rizikovitost radikální terapie a často je nutné od doporučené radikality z těchto důvodů ustoupit. Nová FIGO klasifikace, která vznikla na podkladě mnohých studií, které jasně prokázaly, že u endometroidních nádorů s nízkým nebo středním rizikem, s invazí do méně než poloviny myometria je riziko postižení lymfatických uzlin kolem 4-5% a vzdálených metastáz do 1-2%. V našem souboru jsme také prokázali, že prakticky všechny pozitivní nálezy uzlin byly v případech, kdy invaze byla více než 50% do myometria (průměrně 67.1%) viz tab. 5. V současné době jsou zobrazovací metody a především ultrazvuková diagnostika schopny poměrně exaktně změřit předoperačně míru invaze nádoru do myometria. Je potřeba brát ale v úvahu skutečnost, že i přes poměrně dobrou výpovědní hodnotu předoperační diagnostiky, některé studie zaznamenaly významný rozdíl v předoperačním a pooperačním stagingu (až 27%) (Ballester et al. 2010; Frumovitz et al. 2004). Vzhledem k těmto skutečnostem je vhodnost přítomnosti dalšího markeru jakým by mohl být stav sentinelové uzliny velmi žádoucí. V případě, že by se podařilo potvrdit, že jestliže je sentinelová uzlina negativní, jsou ostatní

uzliny s dostatečně vysokou pravděpodobností také negativní, umožňovalo by to přesnější a jednodušší selekci skupiny pacientek s potřebou adjuvantní léčby.

Hlavním tématem práce bylo zhodnocení různých metodik aplikace lymfotropních markeru. V dostupné literatuře jsou popsány různé techniky aplikace těchto látek. V první práci z roku 1996 (Burke et al. 1996) byla použita intraoperační aplikace patentové modři do oblasti děložního fundu. Do dnešní doby bylo publikováno na 40 studií, které se zabývaly hledáním nejhodnější metody vedoucí k nejvyšší detekci. Hlavní problém je v komplexitě lymfatické drenáže z děložního těla. Děloha je ontogeneticky složena z několika oddělených entit a tomu odpovídá také složitost lymfatické drenáže. Mnoho studií zkoumalo intracervikální aplikaci markerů. V této souvislosti je zajímavé naše srovnání distribuce sentinelových uzlin u intracervikální aplikace u karcinomu děložního hrdla a hysteroskopické, subserosní peritumorosní a subserosní difusní z osmi vpichů, což shrnuje 1. Je zřejmé, že distribuce sentinelových uzlin se u obou nádorů významně liší a tudíž je využití intracervikální aplikace lymfotropních látek u nádorů lokalizovaných v děložním těle diskutabilní. Je otázkou proč byla právě tato metoda zvolena v mnoha recentních studiích a žel také v jedné z nejnovějších a zároveň největších multicentrických studií zabývajících se touto problematikou (SENTI ENDO) (Ballester et al. 2011)

V současné době jsou techniky, které jsme v naší studii testovaly využívány poměrně široce. Hysteroskopická peritumorosní aplikace patentové modři, radiokoloidu, nebo kombinace obou látek je prováděná při laparotomii nebo laparoskopii. Peritumorosní hysteroskopickou aplikaci s úspěšností detekce až 82% popsali v souboru 28 žen Niikura et al. (Niikura et al. 2004). Podobné výsledky popsali i další. (Maccauro et al. 2005), (Clement et al. 2008), (Delaloye et al. 2007). Brněnská skupina (Feranec et al. 2010) v této oblasti publikovala také zajímavá data, kdy zaznamenali detekci až 81% (v souboru 21 pacientek). V naší studii jsme dosáhli detekce jen 45.5% (použijeme-li kritérium, že sentinelová uzlina má vykazat minimálně 10% aktivity dělohy). Prakticky žádný publikovaný soubor neobsahoval více než 30 subjektů, což můžeme považovat za důsledek obtížného managementu zahrnujícího provedení hysteroskopie, následně celotělové scintigrafie před samotným operačním výkonem. Ve srovnání s jinými studii jsme používali relativně malé množství radiokoloidu a aplikovali jsme velmi povrchně pod sliznici velmi tenkou jehlou. Tato oblast obsahuje značné množství cév a značná část markeru se tak mohla dostat do oběhu. Z výsledků naší studie vyplývá, že jsme dosáhli lepších výsledků při peritumorosní subserosní aplikací kombinace radiokoloidu technecia a patentové

modři. Srovnatelné výsledky jsme získali také pomocí subserosní difusní aplikací z osmi vpichů, která by na rozdíl od předchozí měla zahrnovat prakticky celou distribuční síť lymfatického aparátu z těla a istmu dělohy a z technického hlediska je jednodušší. Navíc je lépe omezeno riziko intratumorosní aplikace, které vede ke snížení senzitivity a k artefaktům.

Lymfatické mapování u rizikových a pokročilých nádorů se jeví jako neúčinné a jeho přínos jako diskutabilní. (Frumovitz et al. 2007), proto jsme v našem souboru přísně selektovali pacientky s časnými nádory a s nízkým rizikem. Přísná selekce pacientek s časnými nádory endometria vede k velmi nízkému výskytu metastatického postižení a tudíž podobně jako v naší studii i v mnoha ostatních je velmi obtížné stanovit adekvátně specificitu a negativní prediktivitu tohoto testu. To samozřejmě významně snižuje možnosti objektivního zhodnocení metody pro širší použití této techniky a pro stanovení její spolehlivosti.

V našem souboru, ze kterého byly vyloučeny pacientky s pokročilými nádory a také s nejrizikovějšími typy nádorů (serosní papilární a clear cell) byly detekovány nádorové buňky jen v 5.3% případů. Tyto výsledky jsou poněkud nižší, než v publikované literatuře, kdy se pozitivita pohybuje od 9 do 17%. (Khoury-Collado et al. 2011), (Ballester et al. 2011), (Holub et al. 2004; Mariani et al. 2008; Niikura et al. 2007) Domníváme se, že tato diskrepance může souviset s důkladnou selekcí pacientek a také se skutečností, že všechny naše pacientky měly před výkonem provedené detailní ultrasonografické vyšetření, nebo vyšetření NMR.

Ze tří případů, které byly identifikovány jako pozitivní, v jednom případě se jednalo o mikrometastázu a pooperační histologie „selhala“. Toto pozorování se nám shodovalo s výsledky u karcinomu cervixu a vulvy (Rob et al. 2007; Rob et al. 2005b; Strnad et al. 2008). Peroperační histologie prokáže metastatická ložiska větší než 2mm, ale není efektivní u mikrometastáz a u detekce izolovaných nádorových buněk. Toto zjištění také koresponduje s výsledky v literatuře, kde byla pozorována přítomnost mikrometastáz u 0.3% pacientek ale až u 5% těch které měly vyšetřené sentinelové uzliny (Altgassen et al. 2009; Bezu et al. 2010; Frimer et al. 2010; Niikura et al. 2007). Zhodnocení významu mikrometastáz a klinického významu izolovaných nádorových buněk je zásadní otázkou pro budoucí studie. Nádorová pozitivita lymfatických uzlin u časných nádorů s nízkým rizikem u endometroidního typu karcinomu endometria je významně nižší než u časných stádií karcinomů vulvy a cervixu.

Celkově jsme dosáhli 69.5% detekce, ale při metodice z „8 vpichů“ to bylo až 76.7%. nedávno publikována metaanalýza 26 studií (Kang et al. 2011) uvádí celkovou detekci 78% (celkem

z 1101 výkonů), což odpovídá našim výsledkům. Altgassen et al (Altgassen et al. 2007) používal obdobnou techniku a jeho detekce se pohybovala na úrovni 92%.

V naší studii jsme nezachytili sentinelové uzliny v oblasti nad arteria mesenterica inferior. I když některé studie neodlišily horní a dolní paraaortální oblast (Delaloye et al. 2007; Lopes et al. 2007; Maccauro et al. 2005), některé studie, i když velmi vzácně, uváděly metastatické postižení v této oblasti. (Altgassen et al. 2007; Niikura et al. 2004). Abu Rustum (Abu Rustum et al. 2009a) našel jen 1.6% pozitivních paraaortálních uzlin z 1942 případů.

Na rozdíl od studií, které používaly nanokoloid s partikulami méně než 80nm velkými, my jsme použili koloidní albumin s částicemi o velikosti 100 až 600 nm.

Studie měla za cíl srovnat 3 metody detekce sentinelové uzliny u karcinomu endometria. Větší úspěšnosti bylo dosaženo při subserosní (subserosní peritumorosní a subserosní difusní „z osmi vpichů“) aplikaci kombinace radiokoloidu technecia99 a patentové modři než při hysteroskopické technice. Zabývali jsme se hlavně významem detekce sentinelové uzliny u endometroidního karcinomu u pacientek s nízkým rizikem. Náš soubor je jedním z největších a prakticky jediný srovnávající tři způsoby detekce sentinelové uzliny.

Závěry naší studie lze shrnout do těchto bodů:

1. Identifikace sentinelové uzliny u karcinomu endometria je možná a má do budoucna potenciál ovlivnit terapeutické postupy u žen s tímto nádorem obdobně jako je tomu i u jiných gynekologických (vulva, cervix) i negynekologických (melanom, prs, kolorektální karcinom)
2. Bylo také zjištěno, že distribuce sentinelových uzlin u karcinomu endometria při subserosní aplikaci je významně odlišná od intracervikální aplikace u karcinomu hrdla děložního.
3. Subserosní aplikace se jeví jako výhodnější metoda s větší schopností detekce a větší senzitivitou. Ze subserosních technik se jeví jako perspektivnější subserosní difusní aplikace markerů (kombinace Tc99 značeného radiokoloidu a patentní modři). Tato metoda je jednoduchá, lze ji lépe standardizovat a riziko intratumorosní aplikace je nižší než u jiných metod. Takto provedené mapování komplexně zobrazí drenáž děložního těla a vede k detekci na úrovni **76.7%**.

Výsledky této studie ale nemohou být použité k tomu, aby lymfatické mapování mohlo nahradit standard lymfadenektomie u karcinomu endometria. Připouštíme, že to, co je považováno za standardní lymfadenektomii je nadále předmětem odborné diskuse.

## 6. LIETERATURA

1. Abu Rustum, N.R., Gomez, J.D., Alektiar, K.M., Soslow, R.A., Hensley, M.L., Leitao, J., Gardner, G.J., Sonoda, Y., Chi, D.S., Barakat, R.R.: The incidence of isolated paraaortic nodal metastasis in surgically staged endometrial cancer patients with negative pelvic lymph nodes. *Gynecologic Oncology*, 115: 236-238, 2009a.
2. Abu Rustum, N.R., Khoury-Collado, F., Pandit-Taskar, N., Soslow, R.A., Dao, F., Sonoda, Y., Levine, D.A., Brown, C.L., Chi, D.S., Barakat, R.R., Gemignani, M.L.: Sentinel lymph node mapping for grade 1 endometrial cancer: Is it the answer to the surgical staging dilemma? *Gynecologic Oncology*, 113: 163-169, 2009b.
3. Altgassen, C., Muller, N., Hornemann, A., Kavallaris, A., Hornung, D., Diedrich, K., Jarutat, T.: Immunohistochemical workup of sentinel nodes in endometrial cancer improves diagnostic accuracy. *Gynecol. Oncol.*, 114: 284-287, 2009.
4. Altgassen, C., Pagenstecher, J., Hornung, D., Diedrich, K., Hornemann, A.: A new approach to label sentinel nodes in endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*, 105: 457-461, 2007.
5. Ayhan, A., Celik, H., Dursun, P.: Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in gynecological cancers: a critical review of the literature. *World Journal of Surgical Oncology*, 6: 53, 2008.
6. Ballester, M., Dubernard, G., Lecuru, F., Heitz, D., Mathevet, P., Marret, H., Querleu, D., Golfier, F., Leblanc, E., Rouzier, R., Darai, E.: Detection rate and diagnostic accuracy of sentinel-node biopsy in early stage endometrial cancer: a prospective multicentre study (SENTI-ENDO). *The Lancet Oncology*, 12: 469-476, 2011.
7. Ballester, M., Koskas, M., Coutant, C., Chereau, E., Seror, J., Rouzier, R., Darai, E.: Does the use of the 2009 FIGO classification of endometrial cancer impact on indications of the sentinel node biopsy? *BMC Cancer*, 10: 465, 2010.
8. Ballester, M., Rouzier, R., Coutant, C., Kerrou, K., Darai, E.: Limits of lymphoscintigraphy for sentinel node biopsy in women with endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*, 112: 348-352, 2009.
9. Barlin, J.N., Khoury-Collado, F., Kim, C.H., Leitao, M.M., Jr., Chi, D.S., Sonoda, Y., Alektiar, K., Delair, D.F., Barakat, R.R., Abu-Rustum, N.R.: The importance of applying a sentinel lymph node mapping algorithm in endometrial cancer staging: Beyond removal of blue nodes. *Gynecol. Oncol.*, 2012.
10. Benedetti, P.P., Basile, S., Maneschi, F., Alberto, L.A., Signorelli, M., Scambia, G., Angioli, R., Tateo, S., Mangili, G., Katsaros, D., Garozzo, G., Campagnutta, E., Donadello, N., Greggi, S., Melpignano, M., Raspagliesi, F., Ragni, N., Cormio, G., Grassi, R., Franchi, M., Giannarelli, D., Fossati, R., Torri, V., Amoroso, M., Croce, C., Mangioni, C.: Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. *J. Natl. Cancer Inst.*, 100: 1707-1716, 2008.

11. Bezu, C., Coutant, C., Ballester, M., Feron, J.G., Rouzier, R., Uzan, S., Darai, E.: Ultrastaging of lymph node in uterine cancers. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 29: 5, 2010.
12. Bonneau, C., Bricou, A., Barranger, E.: [Current position of the sentinel lymph node procedure in endometrial cancer]. *Bull. Cancer*, 98: 133-145, 2011.
13. Burke, T.W., Levenback, C., Tornos, C., Morris, M., Wharton, J.T., Gershenson, D.M.: Intraabdominal lymphatic mapping to direct selective pelvic and paraaortic lymphadenectomy in women with high-risk endometrial cancer: results of a pilot study. *Gynecol. Oncol.*, 62: 169-173, 1996.
14. Clement, D., Bats, A.S., Ghazzar-Pierquet, N., Le Frere Belda, M.A., Larousserie, F., Nos, C., Lecuru, F.: Sentinel lymph nodes in endometrial cancer: is hysteroscopic injection valid? *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 29: 239-241, 2008.
15. Cragun, J.M., Havrilesky, L.J., Calingaert, B., Synan, I., Secord, A.A., Soper, J.T., Clarke-Pearson, D.L., Berchuck, A.: Retrospective analysis of selective lymphadenectomy in apparent early-stage endometrial cancer. *J. Clin. Oncol.*, 23: 3668-3675, 2005.
16. Creutzberg, C.L., van Putten, W.L., Koper, P.C., Lybeert, M.L., Jobsen, J.J., Warlam-Rodenhuis, C.C., De Winter, K.A., Lutgens, L.C., van den Bergh, A.C., Steen-Banasik, E., Beerman, H., van, L.M.: Surgery and postoperative radiotherapy versus surgery alone for patients with stage-1 endometrial carcinoma: multicentre randomised trial. PORTEC Study Group. *Post Operative Radiation Therapy in Endometrial Carcinoma. Lancet*, 355: 1404-1411, 2000.
17. Delaloye, J., Pampallona, S., Chardonens, E., Fiche, M., Lehr, H.A., De Grandi, P., Delaloye, A.B.: Intraoperative lymphatic mapping and sentinel node biopsy using hysteroscopy in patients with endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*, 106: 89-93, 2007.
18. Feranec, R., Moukova, L., Stanicek, J., Stefanikova, L., Chovanec, J.: [Sentinel lymph node identification using hysteroscopy in patients with endometrial cancer]. *Klin. Onkol.*, 23: 92-98, 2010.
19. Frimer, M., Khoury-Collado, F., Murray, M.P., Barakat, R.R., bu-Rustum, N.R.: Micrometastasis of endometrial cancer to sentinel lymph nodes: Is it an artifact of uterine manipulation? *Gynecologic Oncology*, 119: 496-499, 2010.
20. Frumovitz, M., Singh, D.K., Meyer, L., Smith, D.H., Wertheim, I., Resnik, E., Bodurka, D.C.: Predictors of final histology in patients with endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.*, 95: 463-468, 2004.
21. Frumovitz, M., Bodurka, D.C., Broaddus, R.R., Coleman, R.L., Sood, A.K., Gershenson, D.M., Burke, T.W., Levenback, C.F.: Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in women with high-risk endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*, 104: 100-103, 2007.
22. Gien, L.T., Kwon, J.S., Carey, M.S.: Sentinel node mapping with isosulfan blue dye in endometrial cancer. *J. Obstet. Gynaecol. Can.*, 27: 1107-1112, 2005.
23. Holub, Z., Jabor, A., Kliment, L.: Comparison of two procedures for sentinel lymph node detection in patients with endometrial cancer: a pilot study. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 23: 53-57, 2002.



24. Holub, Z., Jabor, A., Lukac, J., Kliment, L.: Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes using blue dye in women with cervical and endometrial cancer. *Med. Sci. Monit.*, 10: CR587-CR591, 2004.
25. Holub, Z., Kliment, L., Lukac, J., Voracek, J.: Laparoscopically-assisted intraoperative lymphatic mapping in endometrial cancer: preliminary results. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 22: 118-121, 2001.
26. Kang, S., Yoo, H.J., Hwang, J.H., Lim, M.C., Seo, S.S., Park, S.Y.: Sentinel lymph node biopsy in endometrial cancer: Meta-analysis of 26 studies. *Gynecologic Oncology*, 123: 522-527, 2011.
27. Keys, H.M., Roberts, J.A., Brunetto, V.L., Zaino, R.J., Spirtos, N.M., Bloss, J.D., Pearlman, A., Maiman, M.A., Bell, J.G.: A phase III trial of surgery with or without adjunctive external pelvic radiation therapy in intermediate risk endometrial adenocarcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol. Oncol.*, 92: 744-751, 2004.
28. Khoury-Collado, F., Abu-Rustum, N.R.: Lymphatic mapping in endometrial cancer: a literature review of current techniques and results. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 18: 1163-1168, 2008.
29. Khoury-Collado, F., Murray, M.P., Hensley, M.L., Sonoda, Y., Alektiar, K.M., Levine, D.A., Leitao, M.M., Chi, D.S., Barakat, R.R., bu-Rustum, N.R.: Sentinel lymph node mapping for endometrial cancer improves the detection of metastatic disease to regional lymph nodes. *Gynecologic Oncology*, 122: 251-254, 2011.
30. Khoury-Collado, F., Glaser, G.E., Zivanovic, O., Sonoda, Y., Levine, D.A., Chi, D.S., Gemignani, M.L., Barakat, R.R., bu-Rustum, N.R.: Improving sentinel lymph node detection rates in endometrial cancer: How many cases are needed? *Gynecologic Oncology*, 115: 453-455, 2009.
31. Kitchener, H., Swart, A.M., Qian, Q., Amos, C., Parmar, M.K.: Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet*, 373: 125-136, 2009.
32. Kitchener, H.C.: Sentinel-node biopsy in endometrial cancer: a win-win scenario? *Lancet Oncol.*, 12: 413-414, 2011.
33. Kwon, J.S., Qiu, F., Saskin, R., Carey, M.S.: Are uterine risk factors more important than nodal status in predicting survival in endometrial cancer? *Obstet. Gynecol.*, 114: 736-743, 2009.
34. Levenback, C.: Update on sentinel lymph node biopsy in gynecologic cancers. *Gynecol. Oncol.*, 111: S42-S43, 2008.
35. Levenback, C.F., van der Zee, A.G., Rob, L., Plante, M., Covens, A., Schneider, A., Coleman, R., Solima, E., Hertel, H., Barranger, E., Obermair, A., Roy, M.: Sentinel lymph node biopsy in patients with gynecologic cancers Expert panel statement from the International Sentinel Node Society Meeting, February 21, 2008. *Gynecol. Oncol.*, 114: 151-156, 2009.
36. Li, B., Li, X.G., Wu, L.Y., Zhang, W.H., Li, S.M., Min, C., Gao, J.Z.: A pilot study of sentinel lymph nodes identification in patients with endometrial cancer. *Bull. Cancer*, 94: E1-E4, 2007.

37. Lopes, L.A., Nicolau, S.M., Baracat, F.F., Baracat, E.C., Goncalves, W.J., Santos, H.V., Lopes, R.G., Lippi, U.G.: Sentinel lymph node in endometrial cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 17: 1113-1117, 2007.
38. Maccauro, M., Lucignani, G., Aliberti, G., Villano, C., Castellani, M.R., Solima, E., Bombardieri, E.: Sentinel lymph node detection following the hysteroscopic peritumoural injection of 99mTc-labelled albumin nanocolloid in endometrial cancer. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 32: 569-574, 2005.
39. Mais, V., Cirronis, M.G., Piras, B., Silveti, E., Cossu, E., Melis, G.B.: Intraoperative lymphatic mapping techniques for endometrial cancer. *Expert. Rev. Anticancer Ther.*, 11: 83-93, 2011.
40. Mais, V., Peiretti, M., Gargiulo, T., Parodo, G., Cirronis, M.G., Melis, G.B.: Intraoperative sentinel lymph node detection by vital dye through laparoscopy or laparotomy in early endometrial cancer. *J. Surg. Oncol.*, 101: 408-412, 2010.
41. Mariani, A., Dowdy, S.C., Cliby, W.A., Gostout, B.S., Jones, M.B., Wilson, T.O., Podratz, K.C.: Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: a paradigm shift in surgical staging. *Gynecol. Oncol.*, 109: 11-18, 2008.
42. Mariani, A., Dowdy, S.C., Podratz, K.C.: New surgical staging of endometrial cancer: 20 years later. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 105: 110-111, 2009.
43. Niikura, H., Okamoto, S., Yoshinaga, K., Nagase, S., Takano, T., Ito, K., Yaegashi, N.: Detection of micrometastases in the sentinel lymph nodes of patients with endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*, 105: 683-686, 2007.
44. Niikura, H., Okamura, C., Utsunomiya, H., Yoshinaga, K., Akahira, J., Ito, K., Yaegashi, N.: Sentinel lymph node detection in patients with endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*, 92: 669-674, 2004.
45. Pelosi, E., Arena, V., Baudino, B., Bello, M., Gargiulo, T., Giusti, M., Bottero, A., Leo, L., Armellino, F., Palladin, D., Bisi, G.: Preliminary study of sentinel node identification with 99mTc colloid and blue dye in patients with endometrial cancer. *Tumori*, 88: S9-10, 2002.
46. Pluta, M., Rob, L., Charvat, M., Chmel, R., Halaska, M., Jr., Skapa, P., Robova, H.: Less radical surgery than radical hysterectomy in early stage cervical cancer: a pilot study. *Gynecol. Oncol.*, 113: 181-184, 2009.
47. Raspagliesi, F., Ditto, A., Kusamura, S., Fontanelli, R., Vecchione, F., Maccauro, M., Solima, E.: Hysteroscopic injection of tracers in sentinel node detection of endometrial cancer: a feasibility study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 191: 435-439, 2004.
48. Rob, L., Charvata, M., Robova, H., Strnad, P., Pluta, M., Halaska, M., Hrehorcak, M., Schlegerova, D., Taborska, K.: Sentinel lymph node identification (SLNI) in the management of conservative surgery in early cervical cancer: is it acceptable? *Gynecol. Oncol.*, 99: S147-S148, 2005a.
49. Rob, L., Halaska, M., Robova, H.: Nerve-sparing and individually tailored surgery for cervical cancer. *Lancet Oncol.*, 11: 292-301, 2010a.

50. Rob, L., Pluta, M., Skapa, P., Robova, H.: Advances in fertility-sparing surgery for cervical cancer. *Expert. Rev. Anticancer Ther.*, 10: 1101-1114, 2010b.
51. Rob, L., Pluta, M., Strnad, P., Hrehorcak, M., Chmel, R., Skapa, P., Robova, H.: A less radical treatment option to the fertility-sparing radical trachelectomy in patients with stage I cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, 111: S116-S120, 2008.
52. Rob, L., Robova, H., Pluta, M., Strnad, P., Kacirek, J., Skapa, P., Taborska, K.: Further data on sentinel lymph node mapping in vulvar cancer by blue dye and radiocolloid Tc99. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 17: 147-153, 2007.
53. Rob, L., Skapa, P., Robova, H.: Fertility-sparing surgery in patients with cervical cancer. *Lancet Oncol.*, 12: 192-200, 2011.
54. Rob, L., Strnad, P., Robova, H., Charvat, M., Pluta, M., Schlegerova, D., Hrehorcak, M.: Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, 98: 281-288, 2005b.
55. Robova, H., Charvat, M., Strnad, P., Hrehorcak, M., Taborska, K., Skapa, P., Rob, L.: Lymphatic mapping in endometrial cancer: comparison of hysteroscopic and subserosal injection and the distribution of sentinel lymph nodes. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 19: 391-394, 2009.
56. Strnad, P., Robova, H., Skapa, P., Pluta, M., Hrehorcak, M., Halaska, M., Rob, L.: A prospective study of sentinel lymph node status and parametrial involvement in patients with small tumour volume cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, 109: 280-284, 2008.
57. Tewari, K.S., Filiaci, V.L., Spirto, N.M., Mannel, R.S., Thigpen, J.T., Cibull, M.L., Monk, B.J., Randall, M.E.: Association of number of positive nodes and cervical stroma invasion with outcome of advanced endometrial cancer treated with chemotherapy or whole abdominal irradiation: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol. Oncol.*, 2011.
58. Trimble, E.L., Kosary, C., Park, R.C.: Lymph node sampling and survival in endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.*, 71: 340-343, 1998.