



Кафедра онкологии и лучевой терапии  
Московского государственного  
медико – стоматологического  
университета

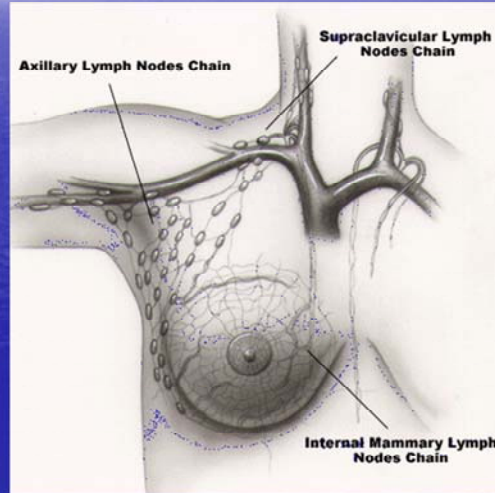
**Современные технологии раннего  
выявления микрометастазов у  
больных злокачественными  
опухолями различных локализаций**

профессор Л.З. Вельшер  
доцент Д.Н. Решетов

**Максимально раннее выявление опухолевого процесса и степени его распространения, наряду с разработкой новых способов лечения, является одной из приоритетных задач современной онкологии**

# Лимфодиссекция

- Уточнение стадии
- Профилактика местных рецидивов
- Улучшение отдаленных результатов



Одним из возможных путей для решения вопроса о степени распространения опухолевого процесса по лимфатическим узлам является такое оперативное вмешательство как лимфодиссекция или лимфоденэктомия. Практические онкологи знают, что при злокачественной опухоли, характеризующейся высокой потенцией к лимфогенному метастазированию, данная манипуляция зачастую проводится профилактически. Особенно это актуально при таких процессах как рак молочной железы, меланома, рак желудка, рак толстой кишки, рак щитовидной железы и некоторых других злокачественных новообразованиях. Целью лимфоденэктомии или лимфодиссекции является уточнение степени распространенности опухолевого процесса, профилактика местных рецидивов и планирование дальнейшего лечения.

# Лимфодиссекция

## Осложнения

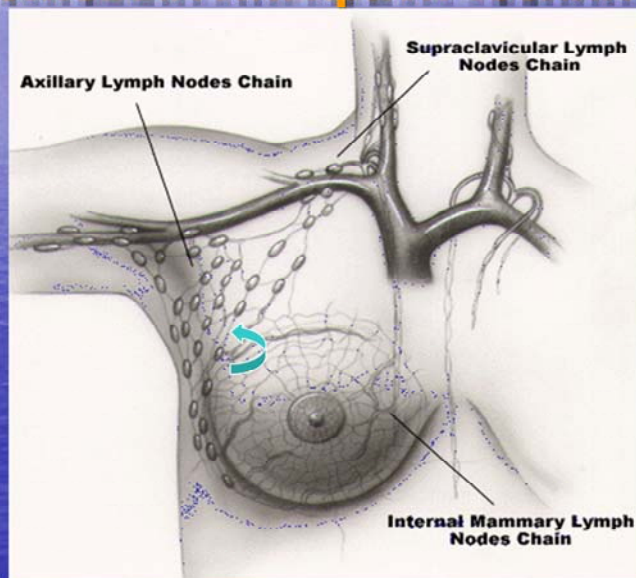
- Отек (10%)
- Боль (81%)
- Потеря работоспособности (27%)
- Общий дискомфорт (39%)



Хорошо известно, что лимфодиссекция, как и любая расширенная операция, сопряжена с целым рядом осложнений: отёк, боль, потеря работоспособности, общий дискомфорт, также можно отметить увеличение времени пребывания больного в стационаре и интенсификацию методов его лечения.

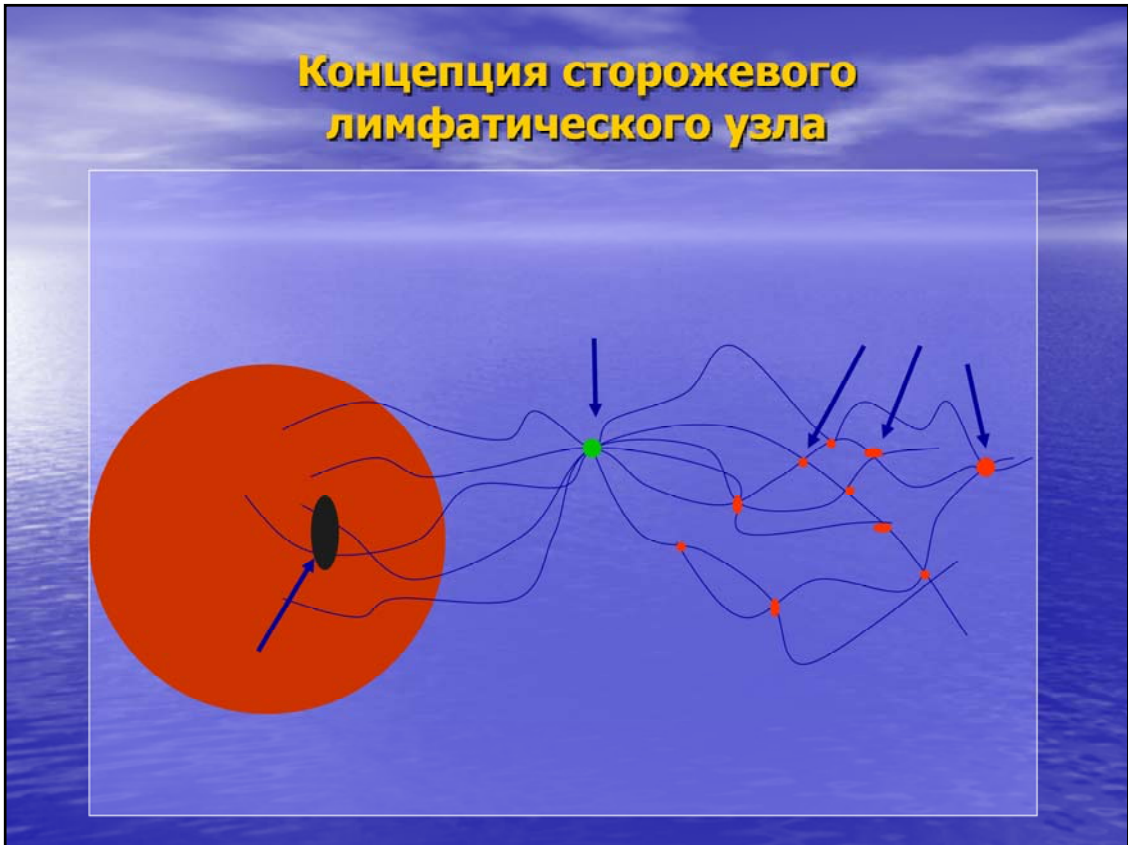


**Одним из возможных путей решения этой задачи является технология поиска микрометастазов в сторожевых лимфатических узлах**



Одним из возможных путей решения этих проблем является технология поиска микрометастазов или, так называемая, технология поиска сторожевых лимфатических узлов (СЛУ), позволяющая избежать выполнения тотальной лимфодиссекции.

## Концепция сторожевого лимфатического узла



Концепция СЛУ была разработана в 60-70гг прошлого столетия. Согласно ей, метастазирование осуществляется в несколько этапов. Первыми поражаются ближайшие к опухолевому очагу лимфатические узлы (ЛУ), ЛУ первого порядка, и только после них наступает поражение очередного звена ЛУ. Исходя из этого, при выявлении и исследовании ЛУ первого порядка, с определенной степенью достоверности, можно судить о наличии метастатического поражения в лимфоузлах второго и третьего порядка.

## История развития вопроса

- 1974г. В.Ю. Янушкевич методом непрямой лимфографии определял зоны регионарного лимфооттока
- 1977 г. R.M. Cabanas выдвинул концепцию существования «сторожевых» лимфатических узлов
- 1992 г. D.L. Morton использовал синий краситель для обнаружения «сторожевых» лимфатических узлов
- 1993 г. J.C. Alex, D.N. Krag разработали наноколлоид, меченый радиоактивным  $^{99m}\text{Tc}$  и ручной гамма-сканер для определения путей лимфооттока

История данного вопроса началась в 1974 году, когда отечественный ученый Янушкевич В.Ю. с помощью метода непрямой лимфографии определил регионарные зоны и направления лимфооттока и пути лимфогенного метастазирования опухолей различных локализаций. Практически параллельно с ним в 1977 году Кабанас, исследуя отток лимфы от опухолей головки полового члена, выдвинул концепцию существования сигнальных или сторожевых лимфатических узлов, где в первую очередь обнаруживаются метастатические очаги. В 1992 году американский учёный Мортон для обнаружения сигнальных или сторожевых ЛУ синтезировал специальный лимфотропный синий краситель. А годом позже, в 1993 году, его соотечественники Алекс и Краг разработали специальный меченый радиомодифицированным технецием лимфотропный наноколлоид и портативный ручной гамма-сканер для определения путей лимфооттока во время хирургического вмешательства.

В 1999 году впервые в России в онкологической клинике МГМСУ для поиска СЛУ появился портативный гамма-сканер, подаренный нашими коллегами из американского Университета Северо-Западного побережья США, являющегося одним из ведущих онкологических учреждений Америки.

В 1999-2000годах на базе нашей клиники американские коллеги выполняли показательные операции, с демонстрацией специальной методики поиска СЛУ. Примерно в это же время методика привлекла внимание специалистов всех крупных онкологических учреждений России. И в 2004 году на Онкологическом конгрессе состоялась первая секция, посвященная проблеме СЛУ.

## История развития вопроса

- 1999 – 2000гг – появление портативного гамма-сканера в России, выполнение показательных операций (Онкологический центр «РЖД»-Чикагский Онкологический центр)
- 2004г – первая секция «Сторожевые узлы» Московского онкологического конгресса





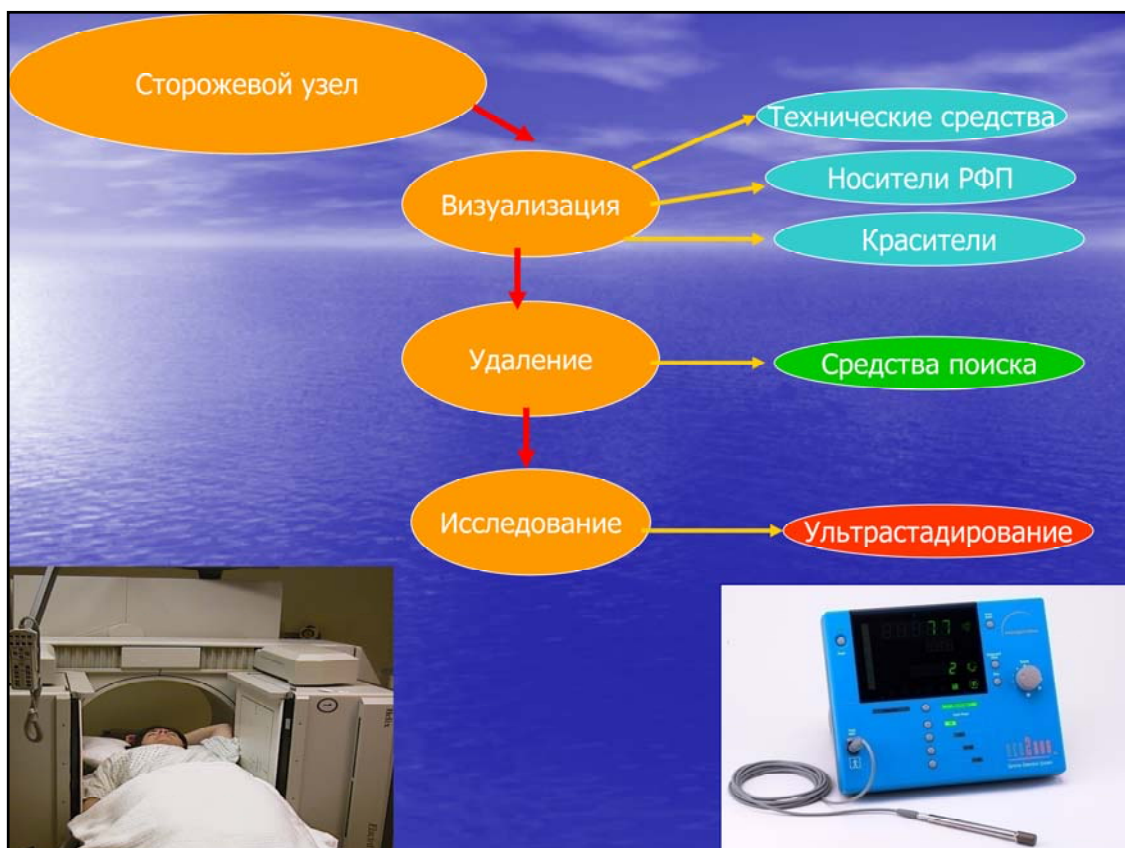
Впервые в России исследования проводились в рамках кооперированной российско-американской научно-исследовательской программы совместно с Северо-Западным Центром охраны здоровья и Северо-Западным Университетом (Чикаго, США)

## Перспективные направления использования метода поиска сторожевых лимфатических узлов

- Меланома кожи
- Рак молочной железы
- Рак желудка
- Колоректальный рак
- Рак щитовидной железы
- Опухоли головы и шеи (слюнные железы, кожа, полость рта, гортаноглотка и гортань, миндалины)



Перспективные направления использования метода поиска СЛУ - это, в первую очередь, исследования при меланоме кожи и раке молочной железы (РМЖ), и на сегодняшний день данная методика включена в стандарт диагностического алгоритма. Также перспективно применение при раке желудка и колоректальном, раке щитовидной железы, а также опухолях головы и шеи.



Составляющие алгоритма поиска СЛУ. Первая часть - визуализация. Для этого требуются определенные технические средства, носители радиофармпрепарата (РФП), а также специальные лимфотропные красители. Второй этап - удаление лимфатических узлов. Для чего необходимы специальные средства поиска ЛУ. И третья часть, один из самых трудоёмких и самых ответственных этапов – морфологическое исследование. Поскольку предусматривается выявление не макрометастазов, а микрометастазов, то речь идёт о, так называемом, ультрастадировании процесса.



## Технология поиска сторожевых лимфатических узлов

- **Непрямая лимфосцинтиграфия**

Препараты: «Наноцис» «Лимфоцис»

- **Непрямая хромолимфография**

Препараты: «Лимфазурин»,  
«Патент-блю»,  
«Метиленовый синий»

Препараты, используемые для поиска СЛУ. Для непрямой лимфографии применяются препараты Наноцис или Лимфоцис, а непрямая хромолимфография выполняется специальным лимфотропным красителем Лимфазурин и Патент-блю. Для некоторых целей, в частности при раке щитовидной железы, мы использовали метиленовый синий.



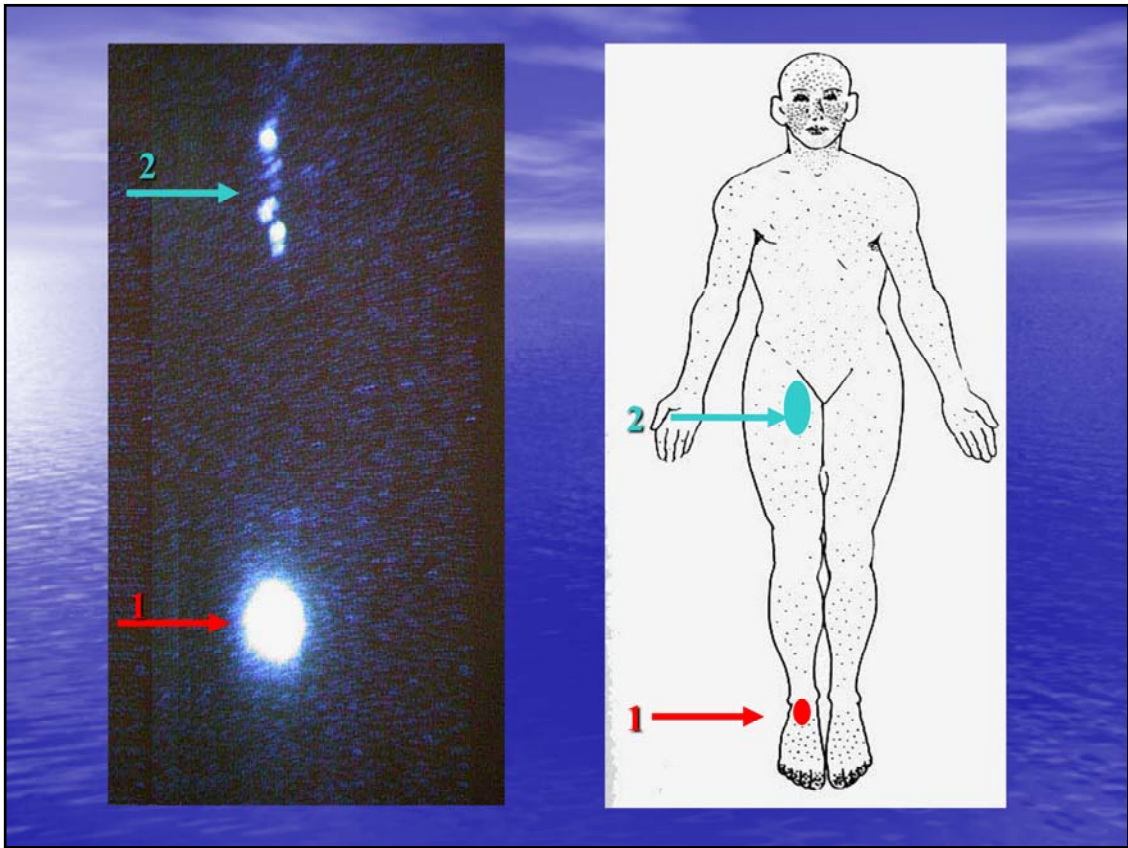


Для выявления путей оттока лимфы перед хирургическим вмешательством злокачественную опухоль обкалывают лимфотропным красителем или метиленовым синим. При меланоме кожи осуществляется внутрикожное обкалывание, отступив 1 см от видимых границ опухоли. При опухолях паренхиматозных органов - перитуморально - препарат вводится вокруг опухоли в 4 - 6 точек.

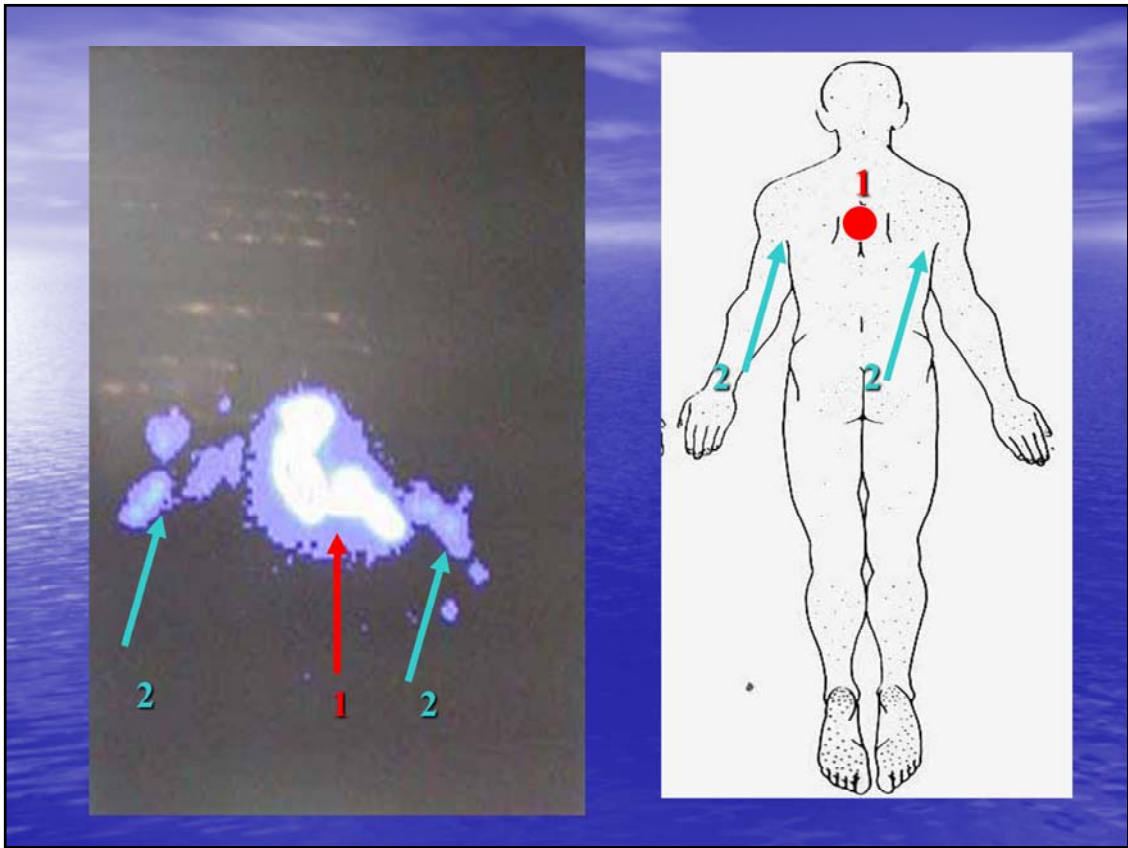
**Обзорная лимфосцинтиграфия, выполняется на 2-детекторном однофотонном эмиссионном компьютерном томографе**



Для получения изображений СЛУ, через определённое время на двух детекторах однофотонного эмиссионного КТ выполняется обзорная лимфосцинтиграфия.

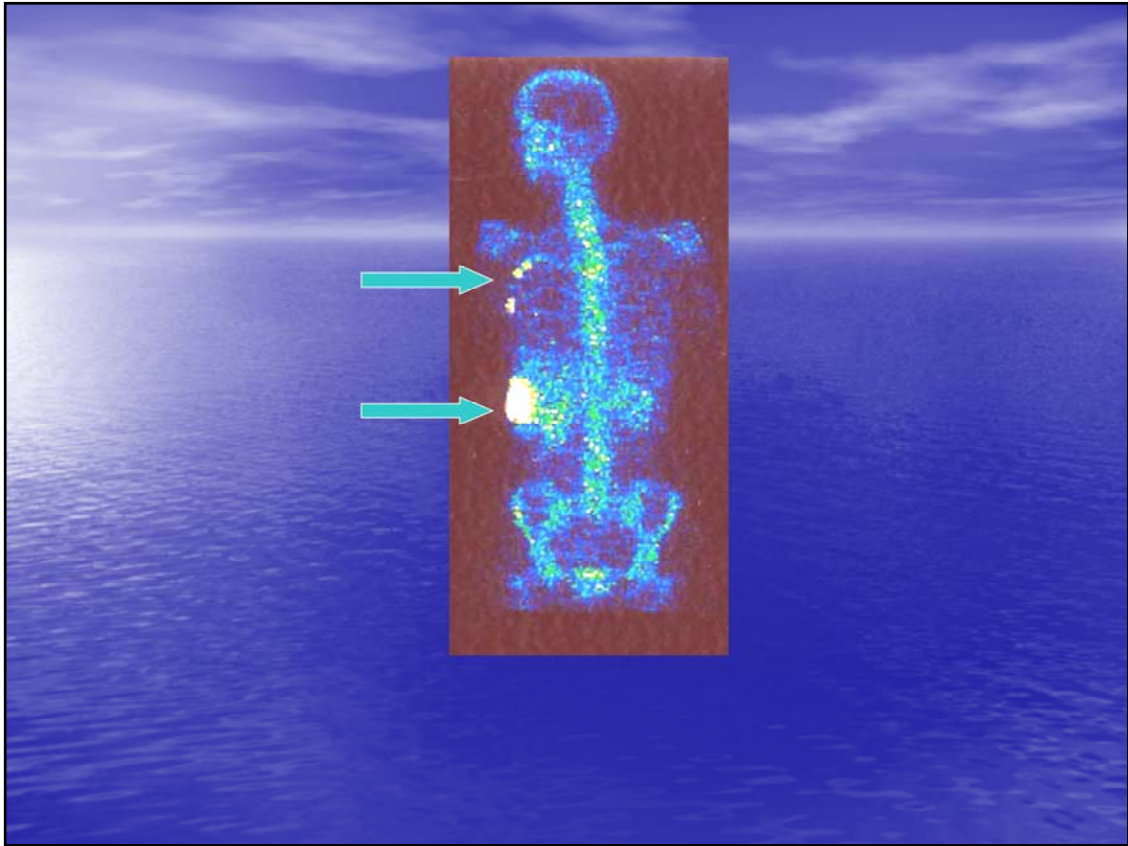


На слайде у пациента с меланомой кожи визуализируется место введения препарата (№1) и место скопления РФП в СЛУ (№2).



У пациента с меланомой кожи визуализируется депо в месте ведения и накопление РФП в СЛУ.





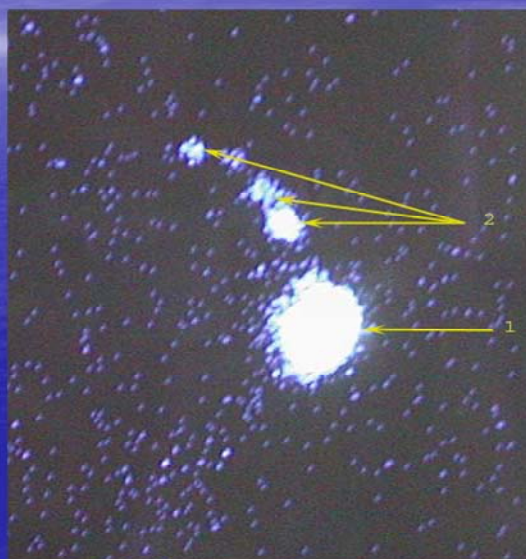
Сцинтиграмма иллюстрирует больного меланомой кожи. Помимо депо и скопления лимфотропного коллоида в лимфатических узлах, видно, что коллоид распространился только в одном направлении, когда возможно распространение в двух направлениях: в подмышечные и пахово-бедренные лимфатические узлы.

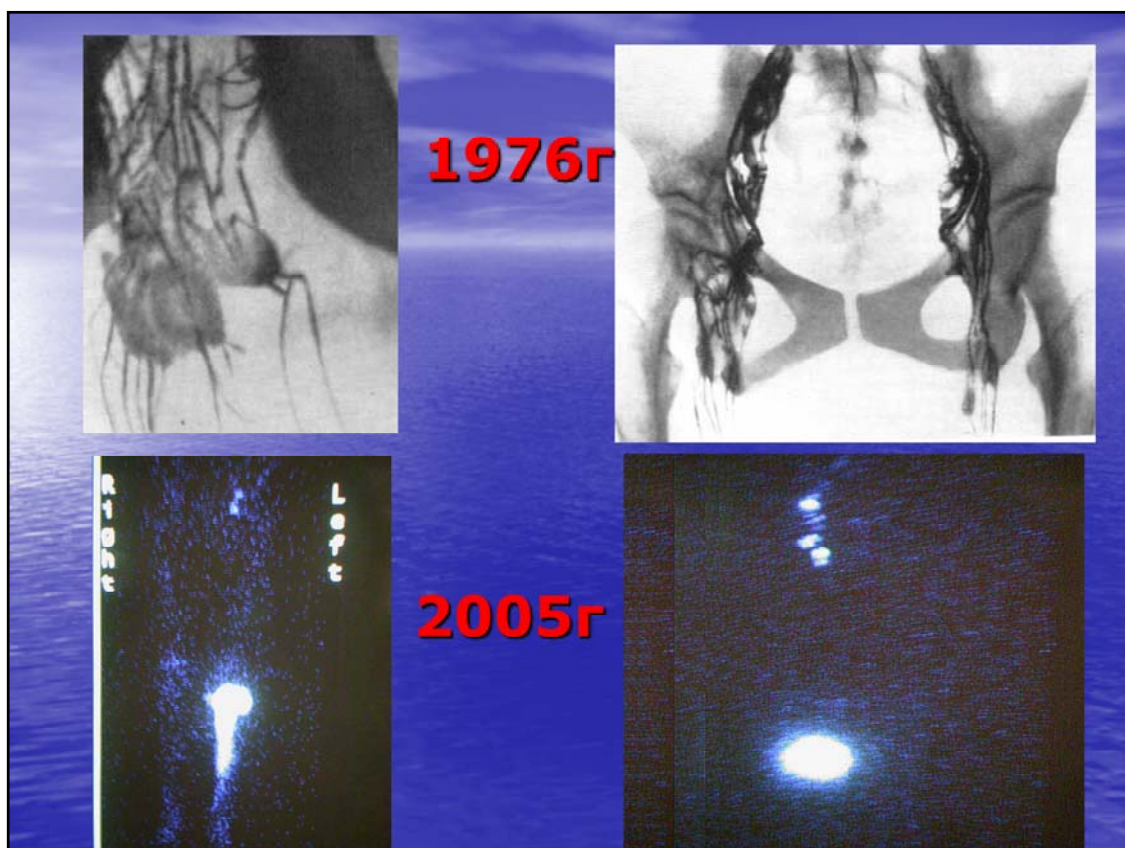
## Методика исследования

Сканограмма больной раком молочной железы, выполненная через 24 часа после введения радиофармпрепарата

1-очаги накопления вокруг опухоли молочной железы.

2-очаги накопления в подмышечных «сторожевых» лимфатических узлах





Слайд иллюстрирует особенности технологии поиска СЛУ. На верхнем - изображение при рентгеновской лимфографии. Слева пути оттока лимфы и хорошо прокрашенные лимфатические узлы. Такие методики применялись в 70 годах прошлого столетия для определения возможных метастазов. Согласно концепции 1976 года прокрашиваются свободные от метастазов лимфоузлы, картина «обрубленного» пути оттока при отсутствии контрастирования – однозначно трактуется как поражение узла метастазами. В тот период для диагностики объемных поражений внутренних органов ещё не применялись УЗИ и КТ. Поскольку сегодня речь идет о выявлении не макрометастазов, а микрометастазов, в практически неизменённой структуре лимфатического узла с сохраненным лимфооттоком, мы ищем не заблокированные, а активные СЛУ.

## Методика исследования

Портативный гамма-  
сканер





## Методика исследования

**Исследование зон  
регионарного  
подмышечного  
лимфооттока  
портативным гамма-  
сканером до операции**



До начала операции больной РМЖ через кожу портативным щупом намечаются зоны проекции пораженных лимфатических узлов.

## Методика исследования

### Интраоперационный поиск «сторожевых» лимфатических узлов

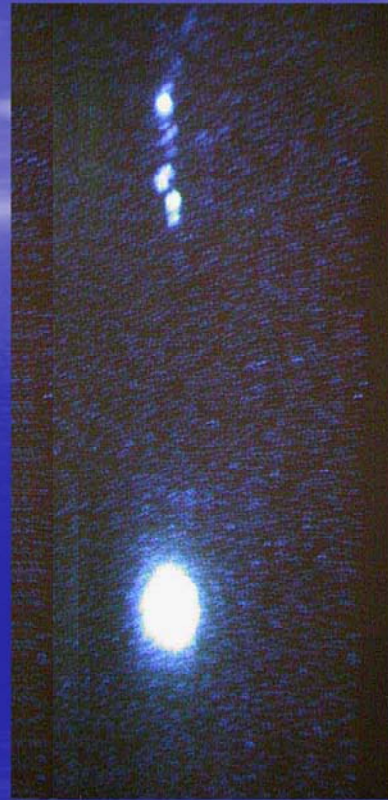


При помощи портативного щупа во время операции по интенсивности накопления РФП в операционной ране ведется прицельный поиск СЛУ. Далее лимфоузел относится на некоторое расстояние от операционной раны, и прицельно исследуется щупом для фиксации исходящего количества радиоактивных импульсов. Истинным признается трехкратное превышение общего фона радиоактивных импульсов

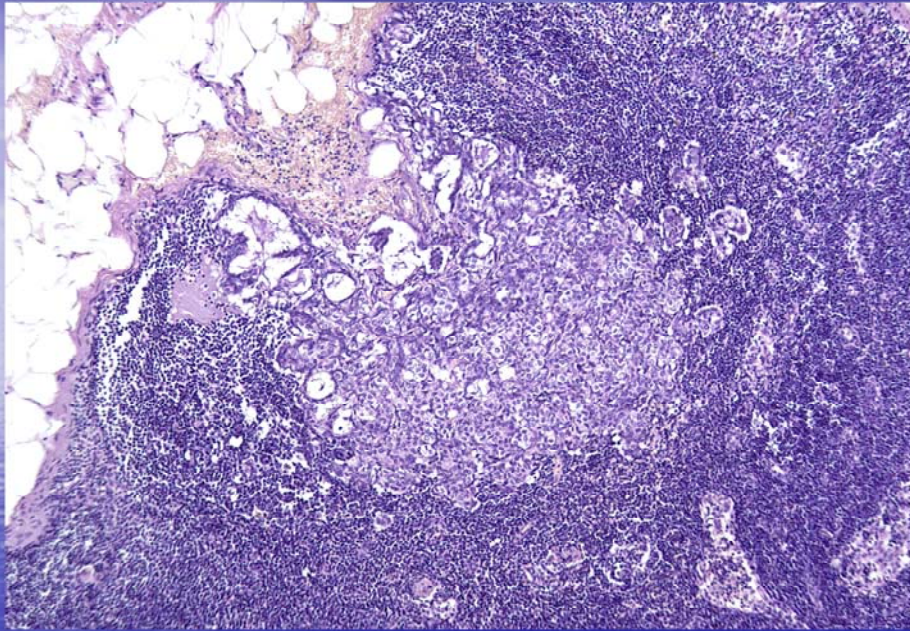
Поиск СЛУ - высокотехнологичная и мультидисциплинарная проблема на стыке хирургии, морфологии и радиологии. Основная задача исследования СЛУ - поиск достоверных и высокочувствительных методов обнаружения начальных ультрастадий лимфогенного метастатического процесса.

**Поиск и исследования  
сторожевых лимфатических  
узлов –  
высокотехнологическая  
мультидисциплинарная  
проблема!**

Основной задачей в исследовании сторожевых лимфатических узлов является поиск достоверных и высокочувствительных методов обнаружения начальных ультрастадий развития лимфогенного метастатического процесса







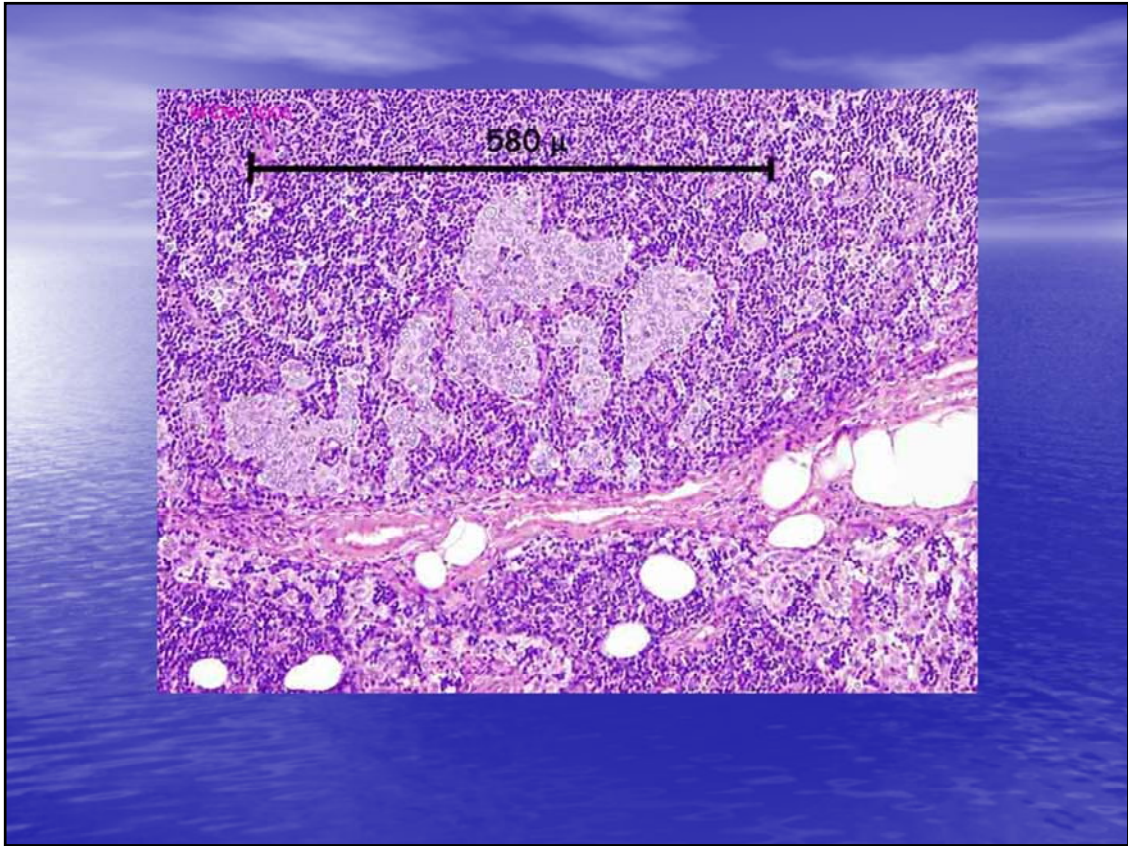
**Макрометастаз рака молочной железы в подмышечный лимфатический узел (окраска гематоксин-эозином, увеличение x 20).**

Гистологическая картина метастаза РМЖ в подмышечном лимфатическом узле. Структура лимфоузла замещена тканью опухоли с формированием полей атипических клеток. Данная ситуация непригодна для исследования СЛУ, так как это можно выявить обычным гистологическим исследованием, а иногда и клинически с использованием УЗИ или КТ и с выполнением тонкоигольной биопсии.



Изображен случай формирования микрометастаза, пригодный для использования методики поиска СЛУ. Полностью неизменная структура лимфатического узла и в одном из краевых синусов имеется скопление клеток РМЖ.





Тот же лимфатический узел при большем увеличении. Размер этого метастаза 580 микрон.

## Способы выявления микрометастазов

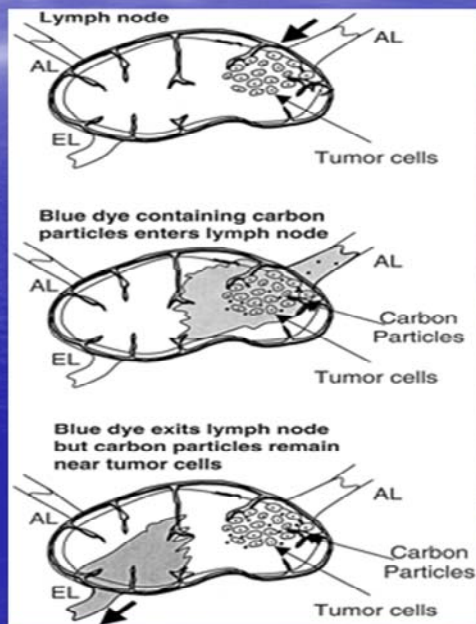
- Использование методики серийных ступенчатых срезов
- Использование метода иммуногистохимии
- Использование моноклональных антител
- Использование карбона в сочетании с красителем и радиофармпрепаратом для визуализации вероятных зон локализации микрометастазов в сторожевом узле

Какие на сегодня существуют способы выявления микрометастазов? Во-первых, методика серийных ступенчатых срезов, в противовес рутинным исследованиям, выявляющая отдельные скопления опухолевых клеток при неизменной структуре лимфатического узла. Иммуногистохимическое исследование позволяет объективизировать находки. Выявлять микрометастазы также можно, используя моноклональные антитела. Введение частиц карбонов, совместно с лимфотропным РФП или красителем, при последующей морфологической визуализацией позволяет находить зоны вероятных микрометастазов в СЛУ.



# Использование карбона

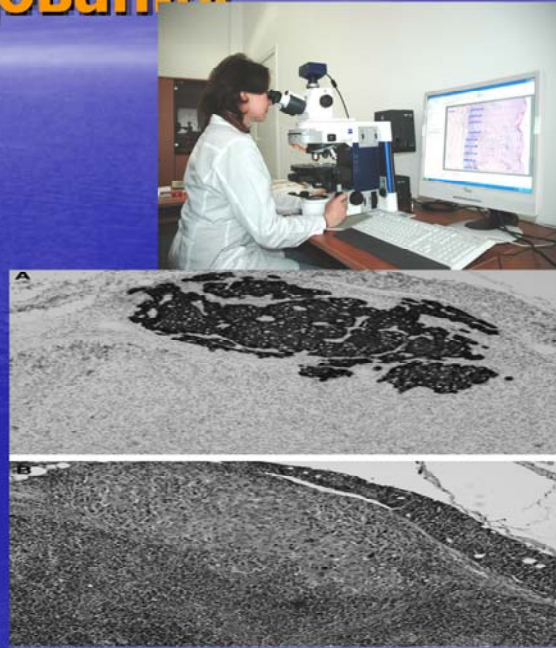
Микрометастазы в  
субкапсулярных  
зонах  
лимфатического  
узла  
обнаруживаются в  
86% случаев



Представлена методика использования карбона. Как показали исследования, микрометастазы в 86% случаев локализуются в субкапсулярных зонах лимфатических узлов. Для того чтобы во время гистологического исследования идентифицировать данные зоны, вместе с лимфотропными коллоидами вводятся частицы карбона, хорошо визуализирующиеся при стандартном гематоксилин-эозин окрашивании и являющиеся маркерами возможной локализации микрометастаз. Частицы карбона, также как и микрометастаз, оседают в субкапсулярных зонах.

## Морфологические исследования

- Выявление цитокератинов (САМ 5.2)
- Полимеразная цепная реакция (polymerase chain reaction)



При иммуногистохимическом исследовании, в частности при раке щитовидной железы, выделяются цитокератины, а также осуществляется полимеразная цепная реакция (ПЦР), что позволяет объективизировать морфологические исследования – сделать работу морфолога более точной и объективной.

## Морфологические исследования

- **Использование S-100 и HMB-45 дополнительно выявляет микрометастазы в среднем у 12% пациентов**

Возможны ложноположительные реакции: меланин содержащие макрофаги, дендритные клетки, гистиоциты, нервные волокна, клетки ганглиев

Иммуногистохимическое исследование с комплексами S-100 и HMB-45 при меланоме кожи позволяет дополнительно к стандартному гистологическому исследованию выявлять микрометастазы ещё у 12% пациентов. Недостатком являются возможные ложноположительные реакции с меланинсодержащими макрофагами, дендритными клетками, гистиоцитами, нервными волокнами, клетками ганглиев, присутствующими в структуре лимфатических узлов.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

Антитела к  
MART-1  
Melan-A  
Tyrosinase

Отсутствие  
ложноположительных  
Реакций с меланин  
содержащими  
макрофагами и  
гистиоцитами

Следующим шагом для нивелирования ложноположительных реакций - использование моноклональных АТ. В частности, при меланоме применяются антитела к MART-1, мелан-А и антитела к тирозиназе, что ещё более объективизирует и уточняет результаты морфологического исследования.



Точное соблюдение методики  
исследования и применение всего  
комплекса современных  
морфологических методов  
обеспечивают **90%** чувствительность  
метода.

## **- а зачем это нужно?**

**Применение совокупности всех технических и морфологических методов исследований позволяет выявить микрометастазы у 35-40% больных**

Совокупное изучение проблемы доказало, что микрометастазы в среднем выявляются у 35-40% больных, не имеющих на момент проведения данного исследования никаких клинических данных за наличие метастазов в лимфатических узлах. То есть, 35-40% больных имели скрытое микрометастазирование.

**- а зачем это нужно?**

**из них в 2\3 случаев  
пораженными оказываются  
только сторожевые узлы  
среди всех узлов региона –  
перспектива селективных  
лимфаденэктомий**

## - а зачем это нужно?

**Объем поражения метастазами сторожевого лимфатического узла является важным прогностическим признаком по отношению к возможности возникновения потенциальных рецидивов**

- Макрометастаз  $\geq 2$  мм
- Микрометастаз 0,2 – 2,0 мм
- Отдельные группы клеток  $\leq 0,2$  мм

При меланоме кожи и РМЖ объем поражения СЛУ микрометастазами является таким же важным прогностическим признаком возможного рецидива как и размер опухоли, определённая по системе TNM стадия процесса, толщина опухоли по Бреслоу, стадия инвазии по Кларку. Различают 3 вида микрометастазов: макро – единичные скопления опухолевых клеток размером более 2мм, микро – размером от 0,2 до 2мм; и отдельные группы клеток внутри лимфоузла размерами менее 0,2мм. Доказанным является факт, что наличие макрометастаза размером более 2мм, значительно увеличивает частоту возможных рецидивов. Микрометастаз – повод модификации тактики лечения с возможным использованием расширенных хирургических вмешательств, либо химиотерапии или лучевой терапии. Наличие отдельных групп опухолевых клеток в лимфоузле не приводит к последующему прогрессированию.



## **Объективный взгляд**

- **Отсутствие разрешений на использование лимфотропных красителей**
- **Отсутствие регистрации для препаратов «Наноцис» «Лимфоцис»**
- **Отсутствие отечественного аналога**
- **Материальные аспекты применения комплекса морфологической диагностики микрометастазов**

Несмотря на все вышесказанное, в РФ существуют объективные причины для ограничения использования и исследования вышеописанной методики. Первое, нет разрешение на использования импортного лимфотропного синего красителя, а отечественного аналога не существует. Не зарегистрированы коллоиды наноцис и лимфоцис, и также не имеется отечественных аналогов этих препарат. Третье, экономический аспект комплексной морфологической диагностики микрометастазов, стоимость которого у одного пациента в США при точном выполнении с применение всех видов иммуногистохимических исследований оценивается в 4 600 долл. Однако надо отметить, что финансовая составляющая лечения больных начальными стадиями опухолевого процесса существенно меньше, чем при запущенной стадии или генерализованной форме.



**БЛАГОДАРЮ ЗА  
ВНИМАНИЕ!**