

На правах рукописи

ИБРАГИМОВ
Заур Намиг оглы

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО
МЕТОДА В ДЕТЕКЦИИ СИГНАЛЬНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ
УЗЛОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ**

14.01.12 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт – Петербург - 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Петрова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор института – д.м.н., профессор А.М. Беляев)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Берлев Игорь Викторович**

Официальные оппоненты:

Красильников Сергей Эдуардович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры онкологии хирургического факультета.

Кедрова Анна Генриховна, доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», заведующая онкологическим отделением, лауреат премии Правительства Российской Федерации

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__»_____2019г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.052.01 при ФГБУ «НМИЦ онкологии им.

Н.Н. Петрова» Минздрава России (197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России и на сайте <https://www.niioncologii.ru>
Автореферат разослан «__»_____2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Филатова Лариса Валентиновна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Рак эндометрия (РЭ) занимает лидирующее положение в структуре онкогинекологических заболеваний как в мире, так и в Российской Федерации: в 2017 г. в России было зарегистрировано 24 422 новых случаев РЭ (Новикова Е.Г. и соавт., 2018; Каприн А.Д. и соавт., 2018)

Диагностика поражения регионарных лимфатических узлов имеет краеугольное значение для определения прогноза и выбора лечебной тактики у больных РЭ (Бохман Я.В., 1989). Из-за невысокой точности лучевых методов (УЗИ, рентгеновской компьютерной, магнитно-резонансной томографии) морфологическая верификация остается основным способом установления изменений в регионарных лимфатических коллекторах. Выполнение профилактической лимфаденэктомии себя не оправдало, поскольку показало улучшение выживаемости лишь в группах пациентов, у которых при морфологическом исследовании обнаружены метастазы в лимфатических узлах (Берлев И.В. и соавт., 2017). Более чем у 80% пациентов при профилактической лимфаденэктомии метастатическое поражение лимфатических узлов при гистологическом исследовании не подтверждается, следовательно, этим пациентам объем хирургического лечения расширяется неоправданно. Таким образом, сохраняется необходимость в более точном методе стадирования (Красильников С.Э. и соавт., 2007).

В настоящее время биопсия сигнальных лимфатических узлов (СЛУ) относится к числу базовых методов диагностики поражения регионарных лимфатических коллекторов и рекомендуется NCCN, ESMO в качестве стандартного метода при определении степени распространенности процесса у больных РЭ. Вместе с тем, обращает на себя внимание разнообразие подходов к методическим вопросам биопсии СЛУ. В частности, до настоящего времени не существует четких рекомендаций в отношении оптимального критерия.

Многообразие подходов сохраняется при решении вопроса о целесообразности использования радионуклидной визуализации СЛУ. С одной стороны, имеются современные работы, описывающие высокую

чувствительность метода для билатерального окрашивания СЛУ. С другой стороны, отказ от радионуклидной визуализации существенно упрощает процедуру и делает ее доступной для учреждений, не имеющих радиоизотопных лабораторий. Детекция СЛУ с использованием препарата индоцианина зеленого (ICG) не уступает радионуклидной технологии по частоте нахождения СЛУ (94–100%), однако адекватность первой почти не оценена по показателю частоты ложноотрицательных заключений.

Цель исследования

Оценить эффективность флуоресцентного метода с применением индоцианина зеленого в детекции сигнальных лимфатических узлов у больных раком эндометрия.

Задачи исследования

1. Провести сравнительную оценку частоты картирования сигнальных лимфатических узлов при использовании флуоресцентной и радионуклидной метки у больных раком эндометрия.
2. Изучить топографию сигнальных лимфатических узлов, выявленных с использованием индоцианина зеленого и радиофармпрепарата при выполнении хирургического лечения у больных раком эндометрия.
3. Определить частоту метастазирования в сигнальных лимфатических узлах при картировании флуоресцентным методом с использованием индоцианина зеленого у больных раком эндометрия.
4. Оценить чувствительность, специфичность и безопасность флуоресцентного метода с использованием индоцианина зеленого в детекции сигнальных лимфатических узлов у больных раком эндометрия.

Положения, выносимые на защиту

1. Применение флуоресцентного метода с использованием препарата индоцианина зеленого позволяет улучшить результаты хирургического стадирования у больных раком эндометрия I стадией заболевания.
2. Наиболее частой локализацией СЛУ при использовании флуоресцентного метода является область бифуркации общей подвздошной артерии.
3. Детекция СЛУ с использованием красителя индоцианин зеленый

является высокоэффективной и безопасной методикой в лечении больных раком эндометрия I стадии заболевания при выполнении видеоэндоскопического хирургического вмешательства.

Новизна исследования

1. Впервые в отечественной практике обоснована эффективность применения препарата индоцианина зеленого для выявления сигнальных лимфатических узлов при хирургическом лечении больных раком эндометрия с I стадией заболевания.

2. Продемонстрирована высокая эффективность и безопасность методики интраоперационной детекции сигнальных лимфатических узлов препаратом индоцианин зеленый у больных раком эндометрия при выполнении видеоэндоскопического хирургического вмешательства.

3. Установлено, что флуоресцентный метод с использованием индоцианина зеленого в детекции сигнальных лимфатических узлов позволяет улучшить результаты хирургического стадирования и индивидуализировать комплексное лечение больных раком эндометрия I стадией.

Практическое значение

Выявление, биопсия и морфологическое исследование сигнальных лимфатических узлов при раке эндометрия с помощью препарата индоцианин зеленый способствуют точной оценке состояния регионарных лимфатических коллекторов, корректному определению стадии заболевания, а также индивидуализации объема хирургического лечения, что может быть использовано в практическом здравоохранении при планировании лечения и позволит повысить показатели общей выживаемости больных раком эндометрия.

Апробация работы и публикации

Основные положения диссертации представлены на VIII Всероссийском съезде онкологов (Санкт-Петербург, 11-13 сентября 2015 г.); 8-ой Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов в ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, 21 марта 2015 г.); 3-ем Петербургском международном онкологическом форуме (Санкт-Петербург, 23 июня 2017 г.); I Национальном научно-образовательном конгрессе «Онкологические проблемы от менархе до

постменопаузы» (Москва 15 февраля 2017г); II Национальном научно-образовательном конгрессе «Онкологические проблемы от менархе до постменопаузы» (Москва 16 февраля 2018г).

По теме диссертации опубликовано 5 работ, из которых 3 статьи опубликованы в научных журналах, входящих в перечень ВАК.

Объем и структура диссертации

Диссертационное исследование изложено на 110 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы, состоящий из 164 источников, из них 11 отечественных и 153 зарубежных изданий. В исследовании содержится 27 таблиц, иллюстрирована 23 рисунками.

Материалы и методы исследования

1. Дизайн исследования.

Работа была разделена на три части (Рисунок 1). В исследование вошли 100 больных с морфологически верифицированным РЭ с клинически установленными стадиями T1A-2NXM0, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России с сентября 2015 года по сентябрь 2017 года (Таблица 1).



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Все пациентки после детального ознакомления с целями, задачами и дизайном исследования подписали текст информированного согласия.

Таблица 1 – Клиническая характеристика больных РЭ, вошедших в исследование

Характеристика	Больные РЭ (n=100)
Средний возраст	60,8 (33-82)
Клиническая стадия (FIGO)	
IA	45 (45%)
IB	51 (51%)
II	3 (3%)
IIIА	1 (1%)
Статус регионарных лимфоузлов	
N0	95 (95%)
N1	5 (5%)
Гистологический тип	
Эндометриоидная аденокарцинома	87 (87%)
Серозный рак	6 (6%)
Светлоклеточный рак	2 (2%)
Муцинозный рак	1 (1%)
Смешанная аденокарцинома	3 (3%)
Недифференцированный рак	1 (1%)
Степень дифференцировки опухоли	
G1	44 (44%)
G2	42 (42%)
G3	14 (14%)
Индекс массы тела	35.3 (25.9-46.6)
Инвазия в миометрий (по данным МРТ)	55 (55%)
<1/2 миометрия	45 (45%)
>1/2 миометрия	
Группы риска:	
Высокий	24 (24%)
Промежуточный	39 (39%)
Низкий	37 (37%)

Вся выборка пациенток была разделена на 3 группы относительно риска метастазирования первичной опухоли в регионарные лимфатические узлы.

В группу высокого риска вошли пациенты с агрессивным гистологическим типом опухоли (серозная, светлоклеточная), низкой дифференцировкой опухоли, большими размерами и глубокой инвазией в миометрий.

К промежуточному риску отнесли пациенток, у которых наблюдался эндометриоидный тип опухоли с умеренной дифференцировкой, а также расположение опухоли в верхней трети полости матки, и глубокая инвазия в миометрий. Пациентки, входящие в группу низкого риска, имели высокую или умеренную дифференцировку опухоли без признаков инвазии в миометрий (Таблица 1).

Для сравнительной оценки эффективности лучевых методов обследования в диагностике метастазов в лимфатических узлах у пациентов с РЭ в настоящем исследовании выделили 4 основные категории МРТ-критериев патологических изменений лимфатических узлов (Таблица 2).

Таблица 2 - МРТ оценка метастатического поражения тазовых лимфоузлов у больных РЭ

Увеличение / структурное изменение лимфатического узла:	Число больных (n=100)	%
- менее 10 мм без структурного изменения (расценены как не измененные)	64	64%
- более 10 мм см без структурного изменения (расценены как не измененные)	29	29%
- более 10 мм со структурного изменения (расценены как подозрительные)	2	2%
- явно увеличенные (15-20-25 мм) и явно со структурным изменением (метастатическое поражение однозначно)	5	5%

2. Хирургическое лечение больных РЭ с детекцией сигнального лимфоузла.

Всем 100 больным, вошедшим в исследование, выполнялось хирургическое лечение в объеме экстирпация матки с придатками и полной подвздошно-тазовой лимфодиссекцией. Все хирургические вмешательства выполнялись эндовидеохирургическим доступом под эндотрахеальным наркозом.

Пациенты на операционном столе фиксировались в положении Тренделенбурга. Больным устанавливалось 4 троакара: первый троакар (10 мм) вводился параумбиликально для оптической системы, последующие (5 мм) – в подвздошных областях и над лобком.

У 7 пациенток объем хирургического лечения был расширен до оментэктомии в связи с гистологическим типом опухоли: у 6 больных была выявлена серозная карцинома, у одной пациентки - низкодифференцированная карцинома с глубокой инвазией в миометрий.

3. Протокол визуализации лимфатических узлов препаратом индоцианин зеленый

Всем больным непосредственно перед введением маточного манипулятора, после коагуляции трубно-маточных углов, в строму шейки матки при помощи шприца в стерильных условиях в область трех и девяти часов условного циферблата вводился препарат «ICG» (25 мг препарата разведенного в 10 мл воды для инъекций), после чего устанавливался маточный манипулятор.

Следующим этапом тазовую часть брюшины разрезали в краниальном направлении, через поясничную мышцу, параллельно и латерально к придаткам и воронке тазовой связке, чтобы получить доступ к забрюшинному пространству тазовой области.

Далее камера переводилась в инфракрасный режим (режим ICG) для визуализации окрасившихся СЛУ.

Первые окрашенные ЛУ с обеих сторон во всех случаях помещались в EndoBag и извлекались из брюшной полости.

Следующим этапом у 22 пациенток проводили оценку извлеченных окрашенных узлов аппаратом GammaFinder. Оценивалось наличие радиоактивности препарата в ЛУ, далее производилось интраоперационное гистологическое исследование СЛУ. Вне зависимости от результатов гистологического заключения всем больным выполнялась тотальная тазовая лимфаденэктомия. Лимфатические узлы после завершения диссекции помещались в контейнер. Завершающим этапом выполнялась экстирпация матки с придатками. Препараты из брюшной полости удалялись через влагалище. Влагалище ушивалось узловыми

швами. Перед отправкой удаленных тазовых ЛУ на морфологическое исследование производилось маркирование анатомических групп.

4. Протокол визуализации лимфатических узлов радиофармпрепаратом

Пациенткам, включенным в исследование (n=22), выполнялось введение 740-860 МБк меченного Технецием 99m коллоидного радиофармпрепарата (РФП) с диаметром частиц 1 000 нм.

РФП изготовляли непосредственно перед использованием. Введение РФП производилось стерильным шприцом в шейку матки на 3 и 9 часов условного циферблата в объеме 0,5 мл. Через 3 часа после введения РФП радионуклидная визуализация лимфатических узлов выполнялась в виде серии статических изображений с системой ОФЭКТ/КТ. При анализе ОФЭКТ/КТ изображений отмечалось количество и локализация ЛУ, накапливающих радиоколлоиды.

После этого в течение 2-24 часов после введения РФП, вместе с лимфатической жидкостью происходит транспорт РФП в ЛУ, непосредственно связанные с опухолью, так называемые СЛУ. В этот временной диапазон пациентке выполнялось ОФЭКТ/КТ после наложения.

При анализе динамических скintiграфических изображений отмечалось количество и локализация ЛУ, накапливающих радиофармпрепарат. Определялись как СЛУ, которые соответствовали хотя бы одному из следующих критериев: единственный ЛУ, накапливающий радиофармпрепарат; первый визуализированный ЛУ, ЛУ связанный с опухолью «дорожкой» лимфатических сосудов.

Все другие ЛУ, визуализированные в той или иной анатомической области после появления в данной области СЛУ рассматривались как ЛУ 2 и 3 порядков.

Далее лимфатические узлы отправлялись на интраоперационное гистологическое исследование.

5. Протокол патоморфологического исследования сигнальных лимфатических узлов

Выполнялось интраоперационное гистологическое исследование СЛУ с использованием свежемороженых срезов. ЛУ рассекался через центральную часть («двустворчатый» метод). Проводилась фиксация всех препаратов 10% раствором формалина и далее выполнялось послеоперационное гистологическое исследование парафиновых блоков с окраской гематоксилином и эозином. Выполнялся протокол ультрастадирования. У 20 пациенток после фиксации в нейтральном формалине 10% биоптат разрезали на фрагменты толщиной более 5-6 мм, фиксировали на 2-3 часа для уплотнения, после чего рассекали на пластины толщиной не более 2-3 мм и помещали в свежий раствор фиксатора. После этапа обезвоживания осуществлялась заливка в парафин. Далее, выполняли серийные срезы с шагом 2 мм и последующем окрашиванием гематоксилином и эозином. При выполнении иммуногистохимического исследования после удаления парафина со срезов и 30 минутной инкубации в термостат при 56° С их повторно гидратировали в абсолютном спирте. Эндогенную пероксидазную активность блокировали в 3% растворе перекиси водорода в дистиллированной воде в течение 5 мин при комнатной температуре. После просушки наносили на каждый срез антитела цитокератина AE1/AE3 и инкубировали в течение 30-60 мин при 37° С.

6. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных выполнена на индивидуальном компьютере с применением электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета прикладных программ «Statistica for Windows» v. 7.0 и пакета SSPC 13.0. Корреляции между категориальными показателями устанавливали путем использования критерия χ^2 . Для оценки отношения шансов риска метастазирования РЭ в тазовые ЛУ использовали двусторонний критерий Фишера, а значения p после применения поправки Бенджамини – Хохберга. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ (95%-й уровень значимости).

Личный вклад автора.

Автор участвовал в процессе обследования и лечения и хирургических вмешательствах всех больных. Участие автора в сборе первичного материала и его обработке более 90%, обобщении, анализе и внедрении в практику результатов работы – 100%. Все научные результаты, представленные в работе, автором получены лично.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении анатомо-топографических особенностей сигнальных лимфатических узлов при детекции красителем индоцианин зеленый и радиофармпрепаратом у больных раком эндометрия (n=100) были выявлены 220 СЛУ.

У 99/100 (99%) пациенток, вошедших в исследование, произошло окрашивание СЛУ красителем ICG. У каждой пациентки определили от 1 до 3 СЛУ, среднее количество 2,2. Чаще всего окрашивание СЛУ происходило в интервале от 4 до 18 минут после введения препарата: медиана окрашивания справа составила 7 минут, слева 6 минут. Окрашивание СЛУ происходило достаточно интенсивно, равномерно, без затекания препарата в окружающие ткани, с четкими границами лимфатических протоков. Билатерально окрасились ICG ЛУ у 90/100 (90%) пациенток.

У 9/100 (9%) окрашивание отмечено только с одной стороны (таблица 3). В одном случае при окрашивании ICG СЛУ не был выявлен.

Среднее время хирургического лечения, дополненного детекцией СЛУ, составило 134 минуты, из которого биопсия СЛУ (с выполнением срочного гистологического исследования) заняла в среднем 19 минут (в диапазоне от 10 до 45 минут). Средний размер СЛУ составил 1,2 см.

Таблица 3 – Симметричность окрашивания СЛУ у больных РЭ при детекции красителем ICG (n=100)

Препарат	Билатерально	Монолатерально	Нет окрашивания
ICG	90 (90%)	9 (9%)	1 (1%)

Наиболее частым расположением СЛУ у пациенток стала область бифуркации наружной и внутренней подвздошной артерии: 101/220 (46%) (рисунок 1, таблица 4).

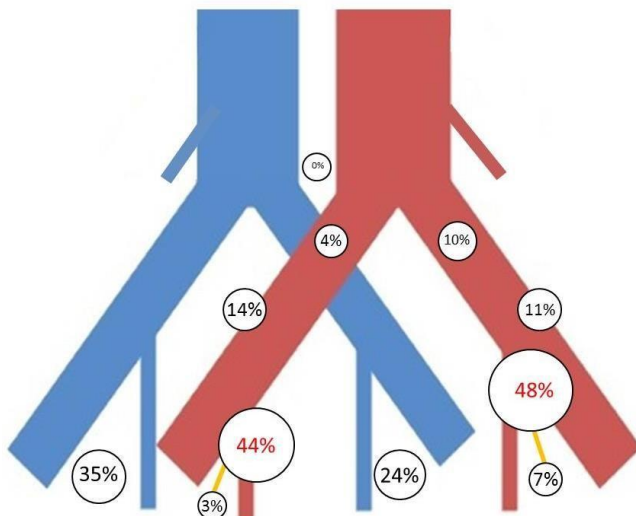


Рисунок 1 – Топография СЛУ у больных РЭ при детекции ICG.

Таблица 4 – Локализация СЛУ при детекции красителем ICG у 99 больных РЭ

Локализация СЛУ	Справа	Слева	Суммарно
Бифуркация подвздошных	51 (44%)	50 (48%)	101 (46%)
Внутренние подвздошные	41 (35%)	25 (24%)	66 (30%)
Наружные подвздошные	16 (14%)	12 (11%)	28 (13%)
Общие подвздошные	5 (4%)	10 (10%)	15 (7%)
Запирательные	3 (3%)	7 (7%)	10 (4%)
Парааортальные	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ВСЕГО	116(53%)	104(47%)	220(100%)

У 22 больных РЭ из 100 проводили сочетанное окрашивание ICG и РФП. При осуществлении маркировки СЛУ РФП на первом этапе выполняется введение коллоидного радиофармпрепарата непосредственно в шейку матки.

По данным дооперационного ОФЭКТ/КТ СЛУ были выявлены у 20/22 (91%) пациенток, причем билатеральное окрашивание наблюдалось у 17/22 (77%) больных; не произошло детекции у 2/22 (9%) пациенток.

При выполнении детекции аппаратом GammaFinder у 20/22 (91%) пациенток выявлены СЛУ, при этом билатерально – 17/19 (91%) (таблица 5).

И, так же, как и в случае с определением СЛУ с использованием ОФЭКТ-КТ в 2/22 (9%) случаях интраоперационного маркирования не произошло.

Таблица 5 – Симметричность маркирования СЛУ у больных РЭ при детекции РФП с использованием ОФЭКТ-КТ и GammaFinder (n=22)

Метод исследования	Билатерально	Монолатерально	Нет окрашивания
ОФЭКТ-КТ	17/22 (77%)	3/22 (14%)	2/22 (9%)
GammaFinder	17/22 (77%)	3/22 (14%)	2/22 (9%)

Таким образом, выявленные СЛУ по данным дооперационного ОФЭКТ-КТ совпадают с результатами интраоперационного исследования СЛУ аппаратом GammaFinder (таблица 6).

Таблица 6 – Локализация СЛУ при детекции РФП у 22 больных РЭ

Локализация СЛУ	Справа	Слева	Суммарно
Бифуркация подвздошных	9 (36%)	6 (23%)	15 (29%)
Внутренние подвздошные	11 (44%)	12 (46%)	23 (45%)
Наружные подвздошные	3 (12%)	5 (19%)	8 (16%)

Продолжение таблицы 6

Локализация СЛУ	Справа	Слева	Суммарно
Общие подвздошные	1 (4%)	1 (4%)	2 (4%)
Запирательные	1 (4%)	2 (8%)	3 (6%)
Парааортальные	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ВСЕГО	25 (49%)	26 (51%)	51 (100%)

Топография СЛУ при детекции ICG и РФП значительно не отличалась: РФП накапливался с большей частотой в группе внутренних подвздошных ЛУ 23/51 (45%), тогда как при окрашенных препаратом ICG СЛУ чаще определялся в бифуркационных ЛУ – 101/220 (46%) (рисунок 3, таблица 7). В 2/22 (9%) случаях радиоактивность препарата в ЛУ не была установлена.

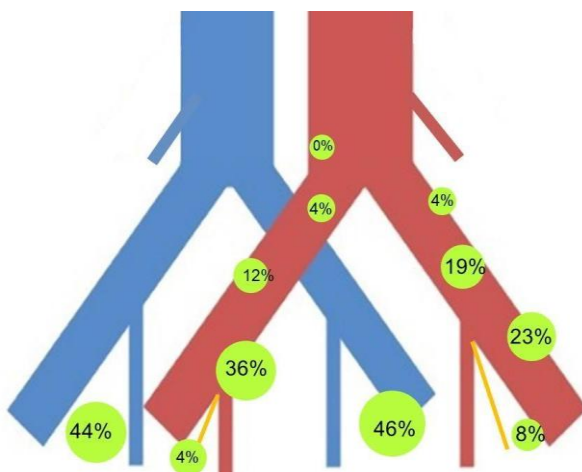


Рисунок 3 – Топография СЛУ при детекции РФП.

Таблица 7 – Различия в топографии СЛУ при окрашивании ICG и РФП больших РЭ

Локализация	Метод		P (χ^2)
	ICG	РФП (Gamma Finder II)	
Бифуркация подвздошных	101 (46%)	15 (29%)	0,165
Внутренние подвздошные	66 (30%)	23 (45%)	
Наружные подвздошные	28 (13%)	8 (16%)	
Общие подвздошные	15 (7%)	2 (4%)	
Запирательные	10 (4%)	3 (6%)	
Парааортальные	0 (0%)	0 (0%)	
ВСЕГО	220	51	

В 2/22 (9%) случаях радиоактивность препарата в ЛУ не была установлена, при этом у этих больных детекция СЛУ была эффективна при окрашивании ICG (таблица 8).

В описанных наблюдениях (таблица 8), детекции СЛУ радиоколлоидом может объясняться крупным размером коллоидных частиц и их несоответствием между небольшим диаметром лимфатических капилляров. Различия в эффективности визуализации СЛУ после введения ICG (95%) и более крупных коллоидных частиц (89%) оказались статистически недостоверным ($p=0,063$). Сравнительный анализ указывает на существенные отличия характера флуоресцентного метода с использованием ICG от использования коллоидных РФП – картина путей лимфооттока от опухоли при использовании ICG оказалась значительно разнообразнее.

Таблица 8 – Сравнительная оценка частоты картирования СЛУ у больных РЭ зависимости от метода детекции

Локализация	Методы				P (χ^2)
	ICG		РФП		
	число пациенток	количество СЛУ	число пациенток	количество СЛУ	
С одной стороны	9 (9%)	12 (5%)	3 (14%)	8 (16%)	0,063
С двух сторон	90 (90%)	208 (95%)	17 (77%)	43 (84%)	
Не выявлено	1 (1%)	0 (0%)	2 (9%)	0 (0%)	
Всего	100	220	22	51	

Суммарно, флуоресцентным методом было выявлено 220 СЛУ у 100 больных, тогда как РФП было выявлено 51 СЛУ у 22 пациенток. При распределении СЛУ по правой и левой стороне лимфооттока также статистически значимых различий не получено: при использовании ICG соотношение право и лево составило 52% против 48%, при использовании РФП 49% против 51% ($p=0,675$, таблица 9). Наименьшее число узлов окрасилось препаратом ICG в области запирающей артерии 10/220 (4%), тогда как с использованием РФП наименьшее количество – в области общей подвздошной артерии 2/51 (4%) с использованием РФП.

Таблица 9 – Количество ЛУ в зависимости от стороны и красителя

Локализация	Метод		P (χ^2)
	ICG	РФП	
Справа	115 (52%)	25 (49%)	0,675
Слева	105 (48%)	26 (51%)	
Всего	220	51	

Таким образом, проведенный в данном исследовании анализ представляет ценную информацию об анатомической локализации СЛУ у больных РЭ, а также дает представление о лимфодренировании органов малого таза. Кроме этого, при сравнительном анализе эффективности окрашивания СЛУ флуоресцентным методом и методом с РФП продемонстрировали существенные отличия – картина путей лимфоттока от опухоли оказалась значительно богаче и разнообразнее при использовании ICG, более чем у половины больных.

Оценка эффективности метода детекции сигнальных лимфатических узлов при помощи индоцианина зеленого

По результатам интраоперационного и послеоперационного гистологических исследований в 11/99 (11%) случаях были выявлены метастазы в СЛУ у пациенток РЭ (таблица 10). При этом, все случаи обнаружения метастатического поражения СЛУ при срочном интраоперационном исследовании были подтверждены окончательным послеоперационным.

Таблица 10– Сравнительная характеристика результатов срочной и окончательной морфологической оценки СЛУ при детекции ICG

Поражение СЛУ	Срочное гистологическое исследование		Окончательное гистологическое исследование	
	число пациентов	число СЛУ	число пациентов	число СЛУ
Подтвержденное Метастатическое поражение СЛУ	11 (11%)	14 (7%)	11 (11%)	25 (11%)
Отсутствие метастатического поражения СЛУ	88 (89%)	175 (93%)	88 (89%)	195 (89)
ВСЕГО	99	189	99	220

По результатам послеоперационного патоморфологического исследования в группе высокого риска метастазирования вторичные изменения были выявлены у 6% (6/100) пациенток и помимо метастазов в СЛУ у четырех из них были выявлены метастазы так же и в неСЛУ. В группе промежуточного и низкого рисков метастазирования с пораженными СЛУ 5% (5/100) больных, метастазов в неСЛУ обнаружено не было.

Важно отметить, что при послеоперационной гистологической оценке СЛУ, расцененного как непораженный по результатам интраоперационной оценки, не было выявлено дополнительно ни одного случая метастатического поражения СЛУ. При отсутствии метастазов в СЛУ, в остальных удаленных тазовых ЛУ (неСЛУ) метастазов так же не было выявлено. Таким образом, ни одного случая ложноположительного или ложноотрицательного результата, при сравнении результатов срочной и окончательного морфологической оценки, СЛУ при детекции ICG в нашем исследовании не установлено.

Многие литературные источники указывали на то, что в отдельных случаях присутствие опухолевых клеток в лимфатических сосудах, которые несут лимфу от опухоли, может привести к полной блокировке этих сосудов, и неудаче в маркировке СЛУ (ложные отрицательные результаты) или привести к маркировке других ЛУ, кроме сигнальных (ложные положительные результаты).

Мы изучили, каким образом изменялась топография СЛУ при детекции ICG у больных РЭ при поражении СЛУ метастазом опухоли. В настоящем исследовании достоверной разницы в топографии СЛУ в группе пациенток с метастатическим поражением и группе больных без метастазов не обнаружено. Общие подвздошные СЛУ определены в группе с метастазами у 2/25 (8%) против 13/195 (7%) в группе без метастазов, внутренние подвздошные СЛУ определены в группе с метастазами у 11/25 (44%) против 55/195 (28%) в группе без метастазов, наружные подвздошные СЛУ обнаружены в группе с метастазами у 2/25 (8%) против 26/195 (13%) в группе без метастазов, бифуркационные СЛУ определены в группе с метастазами у 10/25 (40%) против 91/195 (47%) в группе без метастазов, запирающие СЛУ обнаружены в группе с метастазами у 0/25 (0%) против 10/195 (5%) в группе без метастазов, $p=0,843$.

При анализе диагностической значимости метода МРТ при определении метастатически измененных лимфатических узлов и степени распространения первичной опухоли были получены следующие результаты: – точность метода для выявления размера и локализации опухоли и глубины инвазии составляет 100%. Вместе с тем, при выявлении метастатического поражения групп подвздошно-тазовых ЛУ у больных РЭ метод МРТ имеет ряд ограничений – чувствительность метода не превышала 46%. Стоит отметить достаточно высокую специфичность метода МРТ: в нашем исследовании она составила 98%, а также различия по анатомо-топографическим областям при сравнении с результатами гистологического исследования не были статистически значимыми ($p=0,613$) (таблица 11).

Таблица 11 – Чувствительность и специфичность метода МРТ органов малого таза в оценке изменения регионарных ЛУ у больных РЭ

Параметр/число пациентов	МРТ
Всего больных	100
Кол-во истинно положительных случаев (ИП)	5
Кол-во истинно отрицательных случаев (ИО)	87
Кол-во ложноположительных случаев (ЛП)	2
Кол-во ложноотрицательных случаев (ЛО)	6
Всего позитивных случаев	7
Всего негативных случаев	93
Чувствительность метода, %	45,4%
Специфичность метода, %	97,8%
Точность метода, %	92,0%

Эталонным стандартом оценки метода стало патоморфологическое исследование. Доля истинно положительных примеров представляла собой относительный показатель чувствительности, для истинно отрицательных случаев – показатель специфичности.

Метастазы в ЛУ, выявленные при патоморфологическом исследовании, в области бифуркации общей подвздошной артерии определены в 13/28 (46%) лимфоузлах, в области внутренней подвздошной артерии в 10/28 (36%), в области наружной подвздошной артерии в 1/28 (4%), в области общих подвздошных сосудов в 4/28 (15%).

При сопоставлении с анатомо-топографическими изменениями ЛУ, диагностированные методом МРТ различия не достигли статистически значимых: в области бифуркации общей подвздошной артерии определены в 8/25 (32%), в области внутренней подвздошной

артерии в 13/25 (52%) лимфоузлах, в области наружной подвздошной артерии в 0/25 (0%), в области общих подвздошных сосудов 4/28 (15%) ($p=0,613$)

Таким образом, МРТ органов малого таза с внутривенным контрастированием у больных РЭ позволяет выделить группы риска метастазирования в регионарные ЛУ.

При интраоперационном использовании препарата ICG у пациенток не было выявлено аллергических реакций, и не зафиксировано отклонений по показателям жизненных функций. Использование ICG не усложняло этап экстирпации матки, и не нарушало ориентацию в анатомии пространств.

Важной задачей настоящего исследования стало изучение частоты метастазирования в регионарные ЛУ в выделенных клинических группах риска метастазирования у больных РЭ. Определение риска метастазирования для каждой больной врач-онколог осуществляет на этапе обследования, и оценка эта необходима для планирования адекватного хирургического этапа комбинированного лечения РЭ. Поэтому изучение корреляций между группой риска и статусом СЛУ стало важным этапом диссертационной работы. Мы проанализировали 11 (11%) из 99 больных РЭ у которых были обнаружены метастазы в СЛУ (таблица 15).

Наличие метастазов в СЛУ у больных РЭ достоверно коррелирует с клиническими группами риска: в группе высокого риска метастаз обнаружен у каждой четвертой пациентки в 6/24 (25%) случаях, в группе промежуточного риска у каждой десятой в 4/39 (10%), в группе низкого риска в 1/37 (3%) ($p=0,02$). Кроме того, у больных РЭ с метастазами в неСЛУ также определяются корреляции с клинической группой риска: в группе высокого риска. Помимо метастазов в СЛУ были выявлены метастазы в неСЛУ у 4/6 (66%) пациенток. В группе промежуточного риска и группе низкого риска у пациенток с пораженными СЛУ метастазов в неСЛУ выявлено не было (таблица 12).

Таблица 12 – Окончательная гистологическая оценка больных РЭ в клинических группах

№	Гистологический тип опухоли	Дифференцировка опухоли	Инвазия в миометрий	Метастаз в СЛУ/ общее число СЛУ	Билатерально/ унилатерально	Метастаз в неСЛУ/ общее число неСЛУ	Общее число удаленных ЛУ
1	эндометриоидная	G1	> 1/2	2Mts/2	билатерально	0/8	10
2	светлоклеточная	G3	> 1/2	1Mts/1	унилатерально	5Mts/20	21
3	серозная	G3	< 1/2	2Mts/2	билатерально	0/12	14
4	серозная	G2	< 1/2	1Mts/2	билатерально	3Mts/13	15
5	эндометриоидная	G3	< 1/2	2Mts/2	билатерально	1Mts/25	27
6	эндометриоидная	G3	< 1/2	2Mts/2	билатерально	2Mts/23	25
7	эндометриоидная	G3	< 1/2	1Mts/2	билатерально	0/11	13
8	эндометриоидная	G2	< 1/2	1Mts/2	билатерально	0/10	12
9	эндометриоидная	G2	< 1/2	1Mts/3	билатерально	0/37	40
10	эндометриоидная	G2	< 1/2	2Mts/4	билатерально	0/14	17
10	эндометриоидная	G2	< 1/2	2Mts/4	билатерально	0/15	19
	Высокий риск метастазирования						
	Промежуточный риск метастазирования						
	Низкий риск метастазирования			p=0,0021			

Таблица 13 – Сравнительная характеристика групп риска в зависимости от метастатического поражения

Группы риска	Число пациенток	Число пациенток с метастазами в СЛУ	P (χ^2)	Число пациенток с метастазами в неСЛУ	P (χ^2)
Низкий	37	1/37 (3%)	0,02	0/37 (0%)	0,0013
Промежуточный	39	4/39 (10%)		0/39 (0%)	
Высокий	24	6/24 (25%)		4/24 (17%)	
Всего	100	11		4	

Это указывает на необходимость обязательного выполнения полного объема лимфодиссекции в группе высокого риска у больных РЭ.

С учетом наличия четкой корреляции частоты метастазирования в ЛУ у больных РЭ с клиническими группами низкого и промежуточного риска нецелесообразность выполнения полного объема лимфодиссекции при отсутствии метастаза в СЛУ у больных РЭ становится очевидной. У больных РЭ из этих двух групп достаточно выполнить детекцию СЛУ с интраоперационным гистологическим исследованием (таблица 13).

Но, крайне важно помнить о существовании феномена «скачка», то есть метастатическое поражение более отдалённых ЛУ при отсутствии метастазов в проксимальных ЛУ.

Данный феномен был многократно описан в литературе. «Прыгающие» метастазы делает биопсию СЛУ малоэффективной. Причём даже один «прыгающий» метастаз может кардинальным образом изменить стадию заболевания и прогноз. Поэтому, в нашей работе, при удалении какого-либо СЛУ и даже при негативном патоморфологическом ответе выполняли полный объем подвздошно-тазовой лимфодиссекции.

Мы проанализировали частоту случаев метастатического поражения неСЛУ при наличии или отсутствии метастаза в СЛУ (рисунок 4).

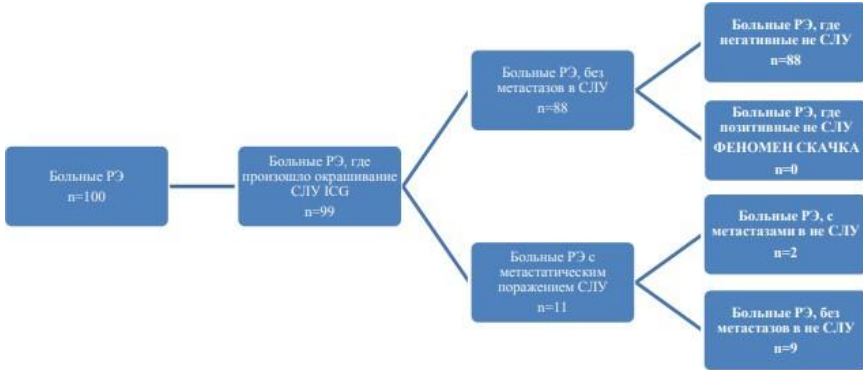


Рисунок 4 – Результаты патоморфологического исследования ЛУ у больных РЭ (n=100).

В исследовании установили, что при метастазах в СЛУ 11/99 (11%) не было выявлено ни одного случая метастазирования в неСЛУ. Таким образом, в нашем случае феномена «скачка» мы не обнаружили.

В нашем исследовании, биопсия СЛУ с использованием красителя ICG является высокоэффективной методикой: чувствительность метода составила – 100%, специфичность – 93%, точность метода – 93%, частота успешного картирования – 99%, частота ложноотрицательных результатов – 0% (таблица 14).

Таблица 14 – Чувствительность и специфичность метода ICG органов малого таза в оценке изменения регионарных ЛУ у больных РЭ

Параметр/число пациентов	ICG
Всего больных	100
Кол-во истинно положительных случаев (ИП)	11
Кол-во истинно отрицательных случаев (ИО)	88
Кол-во ложноположительных случаев (ЛП)	0
Кол-во ложноотрицательных случаев (ЛО)	0
Всего позитивных случаев	11
Всего негативных случаев	88
Чувствительность метода, %	100%
Специфичность метода, %	93%
Точность метода, %	93%

ВЫВОДЫ

1. Применение флуоресцентного метода с использованием индоцианина зеленого позволило выявить сигнальные лимфатические узлы у 99% (99/100) больных раком эндометрия.

2. При изучении результатов детекции СЛУ препаратом ICG у 95% больных было выявлено билатеральное окрашивание лимфатических узлов, у 5% больных произошло молатеральное окрашивание. При изучении топографии наиболее частая локализация СЛУ определялась в области бифуркации общей подвздошной артерии – 46%, у 28% больных СЛУ выявлялись в области внутренних подвздошных сосудов, у 13% СЛУ были выявлены в области наружных подвздошных сосудов и в 5% случаях определялись в запирательном пространстве. В параортальной зоне СЛУ выявлено не было.

3. Сравнение результатов обнаружения СЛУ с использованием индоцианина зеленого и РФП продемонстрировало сопоставимо высокую информативность, которая составила 99% и 91% соответственно ($p=0,82$).

4. По результатам послеоперационного патоморфологического исследования в группе высокого риска метастазирования вторичные изменения были выявлены у 6% (6/100) пациенток и помимо метастазов в СЛУ у четырех из них были выявлены метастазы так же и в неСЛУ. В группе промежуточного и низкого рисков метастазирования с пораженными СЛУ 5% (5/100) больных, метастазов в неСЛУ обнаружено не было.

5. По результатам послеоперационного патоморфологического исследования было выявлено, что при отсутствии метастазов в СЛУ в 89% (88/99) случаях, так же не были выявлены метастазы и в остальных исследованных неСЛУ.

6. Эффективность детекции сигнального лимфатического узла составила: чувствительность – 100%, специфичность – 93%, точность метода – 93%, частота успешного картирования – 99%, частота ложноотрицательных результатов – 0%.

7. При выявлении метастатического поражения групп подвздошно-тазовых ЛУ у больных РЭ методом МРТ – чувствительность не превышала 46%. Специфичность метода составила 98%, а также различия по анатомо-топографическим областям при сравнении с результатами гистологического исследования были статистически не значимыми ($p=0,613$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Применение флуоресцентного метода с применением индоцианина зеленого может быть использовано в группе больных раком эндометрия I стадии. Данная методика позволяет эффективно выполнять стадирование заболевания у больных РЭ.

Наиболее эффективным способом введения препарата является стромальная инъекция в шейку матки. Препарат вводится непосредственно в начале хирургического вмешательства. Оптимальным для диагностики СЛУ является интервал 5 ± 3 мин от начала инъекции красителя.

Методика ICG-визуализации безопасна. Не приводит к значительному увеличению продолжительности операции.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Берлев, И. В. Индоцианин зеленый (ICG) в детекции сигнальных лимфатических узлов при раке эндометрия и шейки матки / И. В. Берлев, Е. А. Ульрих, З. Н. Ибрагимов, К. Д. Гусейнов, Т. В. Городнова, Е. Н. Королькова, Ю. Н. Трифанов, Е.А. Некрасова, А.Б. Сапаров, А. В. Хаджимба, Н.А. Микая, А.Ф. Урманчеева // Вопросы онкологии. – 2015. – Т. 61, № 3. – С. 471-476.

2. Ибрагимов, З. Н. Выявление сигнальных лимфатических узлов у больных раком эндометрия и шейки матки препаратом индоцианин зеленый. Пилотное исследование / З.Н. Ибрагимов // Всероссийский конкурс молодых учёных: сб. научн. тр., Санкт-Петербург, Россия, 25 марта 2015. – СПб.: ФГБУ «НИИ им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, 2015. – С. 26-33.

3. Берлев, И. В. Возможности детекции сигнальных лимфатических узлов при раке эндометрия радиоизотопным и флуоресцентным (ICG) методами / И. В. Берлев, Е. А. Ульрих, З. Н. Ибрагимов, К. Д. Гусейнов, Т. В. Городнова, С. Н. Новиков, П. И. Крживицкий, Т. Т. Роговская, Г. Б. Мкртчян, Ю. Н. Трифанов, Е. А. Некрасова, Е. Г. Бежанова, Р. Д. Ахмеров, Н. А. Микая, А. Ф. Урманчеева, С. В. Канаев. / Вопросы онкологии. – 2017. – Т. 63, № 2. – С. 304-308.

4. Берлев, И. В. Эндовидеохирургия (минимальная инвазивная хирургия) в лечении злокачественных опухолей женских половых органов: 5-летний опыт клиники ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» минздрава россии / И. В. Берлев, Е. А. Ульрих, Е.А. Некрасова, А.А Сидорук, Е. Н Козлова, К. Д. Гусейнов, Н. Э. Бондарев, А. Б. Сапаров, З. Н. Ибрагимов, Ю. Н. Трифанов, Т. Т. Роговская, А.С. Хаджимба, Н. А. Микая, А. Ф. Урманчеева, А.М.Беляев // Вопросы онкологии. – 2016. – Т. 62, № 2. – С. 196-207.

5. Берлев, И. В. Эндовидеохирургия в лечении рака эндометрия: ближайшие и отдаленные результаты / И. В. Берлев, А. Ф. Урманчеева, Е. А. Некрасова, Е. А. Ульрих, Н. А. Микая, А.А Сидорук, З. Н. Ибрагимов, Ю. Н. Трифанов, Т. Т. Роговская // Сборник научных работ III Петербургского Международного онкологического форума "Белые ночи 2017" ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России. 2017. С. 149-150.

Выражаю благодарность и признательность руководителю диссертационной работы – доктору медицинских наук, профессору, заслуженному врачу России И.В. Берлеву за внимание и содействие при выполнении работы.

Выражаю благодарность сотрудникам ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова», в особенности сотрудникам онкогинекологического отделения за неоценимую помощь и поддержку при выполнении работы.