

## Il linfonodo sentinella nei tumori del colon

M. COCETTA, P. COVARELLI\*, R. CIROCCHI, C. BOSELLI\*, A. SANTORO\*\*, A. CACURRI, V. GRASSI, I. BARILLARO, B. KOLTRAKA, A. SPIZZIRRI, E. PRESSI, S. TRASTULLI, N. GULLÀ\*, G. NOYA\*, F. SCIANNAMEO

RIASSUNTO: Il linfonodo sentinella nei tumori del colon.

M. COCETTA, P. COVARELLI, R. CIROCCHI, C. BOSELLI, A. SANTORO, A. CACURRI, V. GRASSI, I. BARILLARO, B. KOLTRAKA, A. SPIZZIRRI, E. PRESSI, S. TRASTULLI, N. GULLÀ, G. NOYA, F. SCIANNAMEO

**Introduzione.** I tumori maligni possono dare metastasi seguendo il sistema linfatico in modo sequenziale. In ogni catena linfatica al primo linfonodo che drena la regione dove si è sviluppato il tumore viene dato il nome di "linfonodo sentinella" (LS).

**Obiettivo dello studio.** L'obiettivo principale del presente studio è la determinazione del valore predittivo della metodica del linfonodo sentinella nella stadiazione del cancro colico non metastatico.

**Pazienti e metodi.** Abbiamo effettuato uno studio prospettico arruolando pazienti con adenocarcinoma del colon che soddisfacessero i seguenti criteri: - età minima di 18 anni; - stadiazione con colonoscopia, Rx torace, ecografia o TC addome completo per selezionare pazienti con adenocarcinoma del colon T2-T3 senza metastasi linfonodali ed epatiche; - rischio anestesilogico ASA I-3; - consenso informato.

A seguito della resezione colica con linfadenectomia è stata eseguita un'iniezione sottomucosa di colorante vitale (patent blue) che ha permesso di identificare il linfonodo sentinella.

I linfonodi sono stati sottoposti ad esame istologico con ematossilina-eosina e successivamente con tecnica immunohistochimica.

**Risultati.** Dal gennaio a dicembre 2008, 26 pazienti sono stati arruolati in questo studio prospettico. Di questi sono stati considerati eleggibili per il nostro studio solamente 14 pazienti. L'esame con ematossilina - eosina dei linfonodi ha evidenziato: a) in 4 casi su 14 (28,57%) erano presenti metastasi sui linfonodi contenuti nel mesocolon, b) in 10 casi su 14 (71,42%) erano assenti metastasi sui linfonodi contenuti nel mesocolon.

Nei casi in cui non erano presenti metastasi, all'esame con ematossilina-eosina, nei linfonodi del mesocolon è stato eseguito l'esame istologico dei linfonodi sentinella con tecnica immunohistochimica; in 2 casi è stata evidenziata la presenza di micrometastasi. In un caso sono state identificate linee aberranti di drenaggio mesenterico (skip metastasis); il linfonodo sentinella (negativo all'esame con ematossilina eosina) è stato studiato con tecnica immunohistochimica che non ha evidenziato la presenza di micrometastasi.

**Conclusioni.** È possibile affermare che l'esame del linfonodo sentinella è fattibile con la metodica ex vivo. Nel 20% dei casi da noi studiati a livello dei LS sono presenti micrometastasi non evidenziate al classico esame con ematossilina-eosina. Lo studio dei linfonodi sentinella con sezioni multilivellate e tecniche immunohistochimiche consente un miglioramento della stadiazione patologica.

SUMMARY: The sentinel lymph node mapping in colon cancer.

M. COCETTA, P. COVARELLI, R. CIROCCHI, C. BOSELLI, A. SANTORO, A. CACURRI, V. GRASSI, I. BARILLARO, B. KOLTRAKA, A. SPIZZIRRI, E. PRESSI, S. TRASTULLI, N. GULLÀ, G. NOYA, F. SCIANNAMEO

**Background.** Malignant tumors of the colon can metastases along the lymphatic system in a sequential way, which means that there will be a first node to be involved and then from this disease will pass to another node and so gradually. The sentinel lymph node is the first lymph node or group of nodes reached by metastasizing cancer cells from a tumor.

**Objectives.** The present work aims to determine the predictive value of the sentinel lymph node procedure in the staging of non-metastatic colon cancer.

**Patients and methods.** In this prospective study joined up only 26 patients with adenocarcinoma of the colon T2-T3, without systemic metastases, and with these criteria for inclusion: a) minimum age: 18 years old; b) staging by total colonoscopy, chest X-ray and CT scan; c) patients classified as ASA I-3; d) informed consent.

Within 20 minutes from the colic resection, the bowel was cut completely along the antimesenteric margin and is performed submucosal injection of vital dye within 5 mm from the lesion at the level of the four cardinal points; then the lymph nodes are placed in formalin and sent to the pathologist. The lymph nodes were subjected to histological examination with haematoxylin-eosin and with the immunohistochemistry technique.

**Results.** From January to December 2008 only 26 patients joined up in this prospective study. From the study were excluded the 4 patients with T4 and M1 tumour. Also 7 patients with stenotic lesions were excluded. Patients considered eligible for our study were only 14. The histopathological examination of haematoxylin-eosin revealed: a) in 4 cases were detected mesocolic lymph node metastases; b) in 10 cases were not detected mesocolic lymph node metastases. In cases there were no metastases, the mesocolic sentinel lymph nodes lymph nodes were examined with immunohistochemical technique; in 2 cases were revealed the presence of micrometastases. In one case was identified aberrant lymphatic drainage patterns (skip metastasis); the sentinel lymph node (negative examination with haematoxylin-eosin) was studied with immunohistochemical technique that has not revealed the presence of micrometastases.

**Conclusions.** The examination of the sentinel node is feasible with the ex vivo method. Using the immunohistochemical technique we detect micrometastasis in 20% of the cases, not revealed with the classical haematoxylin-eosin examination. The study of sentinel lymph node with multilevel microsections and immunohistochemical techniques allow a better histopathological staging.

Università degli Studi di Perugia, sede di Terni  
Clinica Chirurgia Generale e D'Urgenza

\* Università degli Studi di Perugia, Chirurgia Generale ed Oncologica

\*\* "Sapienza" Università di Roma, Dipartimento di Scienze Chirurgiche

KEY WORDS: Linfonodo sentinella - Cancro del colon - Micrometastasi.  
Sentinel lymph node - Colon cancer - Micrometastasis.

## Introduzione

I tumori maligni possono dare metastasi seguendo il sistema linfatico in modo sequenziale; ciò implica che vi sarà un primo linfonodo ad essere coinvolto e che poi da questo la malattia interesserà un altro linfonodo e così progressivamente. Con il termine linfonodo sentinella si indica il primo linfonodo che drena l'area del tumore.

In chirurgia oncologica la linfadenectomia è ritenuta un momento fondamentale dell'intervento. La radicalità dell'intervento è infatti garantita dall'asportazione in blocco del tumore, del tessuto che lo contiene e delle strutture circostanti, comprese le vie linfatiche (1, 2). Il successivo studio dei linfonodi asportati consente di accertare se ed in che numero essi sono coinvolti e di stadare la malattia (3, 4).

L'incidenza di metastasi linfonodali è circa del 45% in pazienti con carcinoma colo-rettale resecato e la sensibilità delle metodiche di stadiazione preoperatoria è ancora bassa (5). Infatti il 30-40% dei pazienti N0 sviluppa nei cinque anni successivi al trattamento una malattia neoplastica recidiva locale e/o metastatica (6); tale fenomeno indica, con elevata probabilità, una sottostadiazione degli N0 utilizzando le tradizionali metodiche istochimiche di studio linfonodale (7). Da ciò emerge la necessità di una più accurata stadiazione linfonodale al fine di ridurre il rischio di sottostadiazione.

Recenti metodiche immunoistochimiche hanno permesso di evidenziare delle micrometastasi linfonodali non altrimenti riscontrabili all'esame istologico standard con l'ematossilina-eosina. Tale tecnica è divenuta il gold standard per il cancro della mammella e per il melanoma cutaneo riducendo i falsi negativi e permettendo una protocollo terapeutico adeguato all'effettivo stadio neoplastico del paziente; ci si augura che tali possibilità possano essere applicate anche al cancro del colon.

L'obiettivo principale di questo studio è stato la valutazione della sensibilità della metodica del linfonodo sentinella per la stadiazione del cancro colico non metastatico.

Obiettivi secondari sono stati:

1. standardizzazione della tecnica e valutazione di fattibilità della ricerca del linfonodo sentinella nelle neoplasie del colon
2. determinazione delle skip metastasis nel tumore colico
3. quantificazione delle micrometastasi linfonodali (upstaging) mediante lo studio del linfonodo sentinella con tecnica multilevel sectioning ed immunoistochimica

## Pazienti e metodi

Abbiamo effettuato uno studio prospettico arruolando pazienti con adenocarcinoma del colon che soddisfacessero i seguenti criteri:

- età minima di 18 anni;
- stadiazione con colonoscopia, Rx torace, ecografia o TC addome completo per selezionare pazienti con adenocarcinoma del colon T2-T3 senza metastasi linfonodali ed epatiche;
- rischio anestesiológico ASA 1-3;
- consenso informato.

Dopo la laparotomia è stata effettuata un'ispezione completa della cavità peritoneale e della superficie epatica al fine di individuare la lesione colica. Si è proceduto all'intervento resettivo colico con linfadenectomia e successivamente il viscere resecato è stato sezionato completamente lungo il margine antimesenterico.

Entro 20 minuti dalla resezione è stata eseguita un'iniezione sottomucosa di 2-3 cc di colorante vitale (*patent blue*) entro 5 mm circa dalla lesione a livello dei quattro punti cardinali. Dopo 5 minuti dall'iniezione sono stati identificati ed asportati i linfonodi marcati con il colorante vitale.

## Risultati

Dal 1° gennaio 2008 al 31 dicembre 2008 solo 26 pazienti sono stati arruolati in questo studio prospettico, 14 uomini e 12 donne di età tra 45 e 91 anni (età media 76 anni).

La localizzazione tumorale era in 11 casi al colon destro, in 2 casi al colon trasverso, in 5 casi al colon discendente ed in 8 casi al sigma (Fig. 1). Il TNM intraoperatorio era: 7 casi di T2, 15 casi di T3 e 4 casi di T4 (Fig. 2); inoltre in uno di questi pazienti era presente una metastasi epatica del diametro inferiore a 5 mm (Fig. 3).

Dallo studio sono stati successivamente esclusi: 4 pazienti con T4, 1 paziente M1 e 7 pazienti che presentavano lesioni stenose. I pazienti considerati eleggibili erano così solamente 14 (Fig. 4).

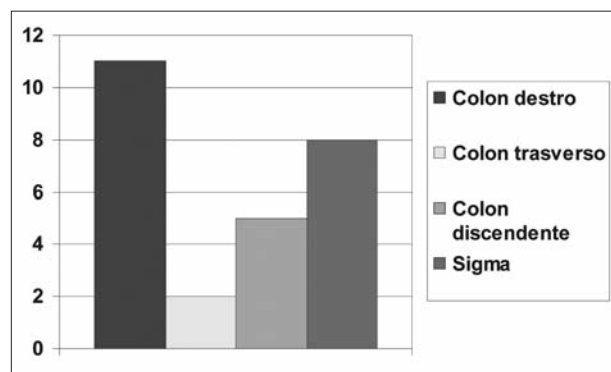


Fig. 1 - Localizzazione della neoplasia.

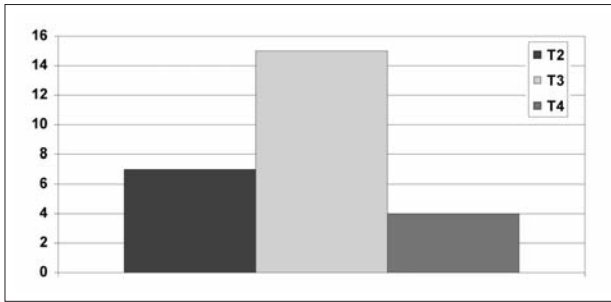


Fig. 2 - T intraoperatorio.

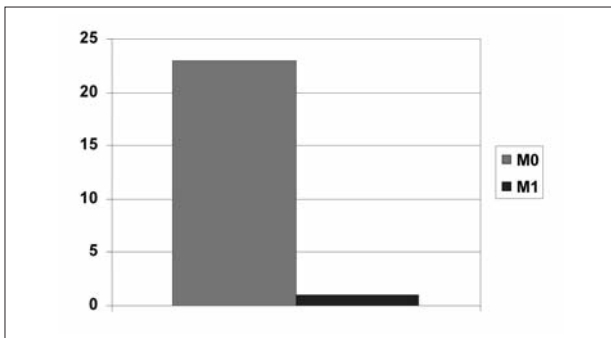


Fig. 3 - M intraoperatorio.

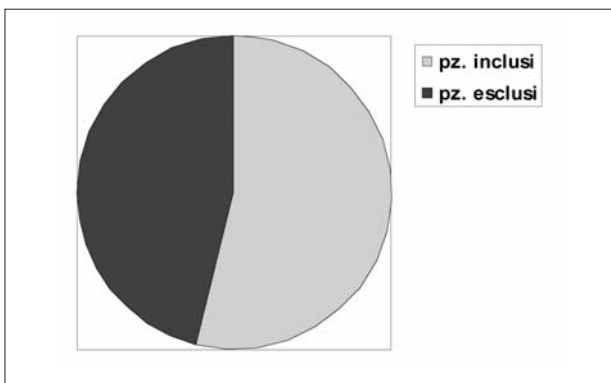


Fig. 4 - Pazienti considerati elegibili per lo studio.

I linfonodi sono stati sottoposti ad esame istologico con ematossilina-eosina che ha evidenziato metastasi linfonodali in 4 casi su 14 (Fig. 5), mentre in 10 casi su 14 erano assenti metastasi linfonodali.

Nei casi in cui, all'esame istologico con ematossilina-eosina, non erano presenti metastasi linfonodali è stato anche eseguito l'esame istologico dei soli linfonodi sentinella con tecnica immunoistochimica. All'esame con tecnica immunoistochimica in 2 casi su 10 erano presenti micrometastasi ed in 8 casi su 10 erano assenti le micrometastasi (Fig. 6).

In un caso sono state identificate linee aberranti di drenaggio mesenterico (*skip metastasis*); il linfonodo sentinella, negativo all'esame istologico con ematossilina-

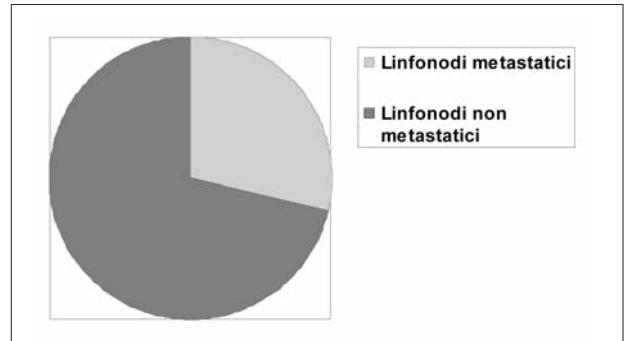


Fig. 5 - Linfonodi con metastasi evidenziate all'esame istologico con ematossilina-eosina.

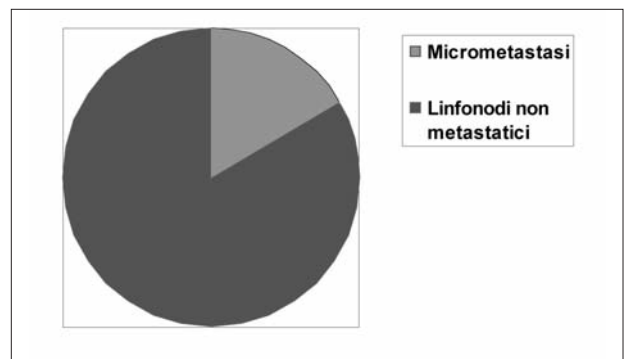


Fig. 6 - Linfonodi con micrometastasi evidenziate allo studio con immunoistochimica.

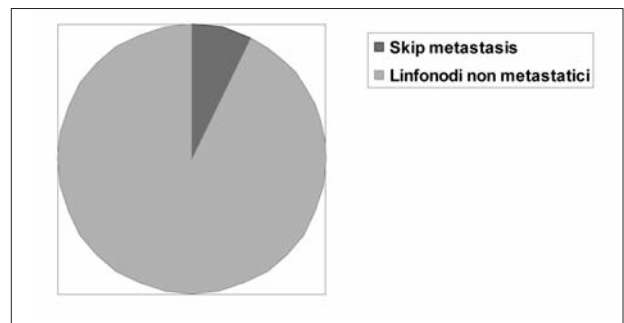


Fig. 7 - Skip metastasis.

eosina, è stato studiato con tecnica immunoistochimica e non è stata evidenziata la presenza di micro metastasi (Fig. 7).

## Discussione

Lo studio del linfonodo sentinella rappresenta un momento fondamentale nella stadiazione del tumore; l'interessamento linfonodale rappresenta il parametro fondamentale per la valutazione prognostica e quindi per l'impostazione del programma terapeutico. Nei tumori

della mammella e nel melanoma cutaneo tale tecnica è divenuta una procedura standard (8), garantendo un'elevata accuratezza nella stadiazione di questi tumori. Nel tumore del colon, invece, la sensibilità delle tradizionali metodiche di studio linfonodale è ancora bassa.

In letteratura i dati sullo studio del linfonodo sentinella sono molto variabili (9, 10) e tale variabilità viene riscontrata anche per quanto riguarda la percentuale di falsi negativi, ossia per le cosiddette skip metastasis (11).

Allo stato attuale, in base alle analisi della letteratura, è possibile affermare che l'esame del linfonodo sentinella è fattibile sia con la metodica del colorante vitale, che con il tracciante radioattivo. Lo studio immunohistochimico del linfonodo sentinella consente di ridurre il numero di falsi negativi e di aumentare l'accuratezza prognostica.

## Conclusioni

Dai risultati del nostro studio è possibile affermare che l'esame del linfonodo sentinella è fattibile con la metodica *ex vivo*.

Nel 20% dei casi da noi studiati a livello del linfonodo sentinella sono presenti micrometastasi non evidenziate al classico esame istologico con ematossilina-eosina.

Lo studio dei linfonodi sentinella con sezioni multiseriate e tecniche immunoistochimiche rappresenta un esame più specifico rispetto allo studio istologico con ematossilina-eosina, permettendo di ridurre il numero dei falsi negativi e consentendo un miglioramento della stadiazione patologica, cui consegue anche una diversa scelta nei successivi trattamenti medici adiuvanti.

## Bibliografia

1. Chang GJ, Rodrigues, Bigas MA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99:414-5.
2. Goldstein NS. Lymph node recoveries from 2427 pT3 colorectal resections specimens spanning 45 years: recommendations for a minimum number of recovered lymph nodes based on a predictive probabilities. *Am J Surg Pathol* 2002;26:179-189.
3. Sobin LH, Wittekind C. UICC TNM classification of malignant tumors. 6<sup>th</sup> ed. New York: Wiley; 2002.
4. Greene FL, Page DL, Fleming ID et al. AJCC cancer staging manual. 6<sup>th</sup> ed. New York: Springer; 2002.
5. Daneker Jr. GW, Ellis LM. Colon cancer nodal metastases: biologic significance and therapeutic considerations. *Surg Oncol Clin of N Am* 1996;5:173-89.
6. Hermanek P, Sobin LH. Colorectal carcinoma. In: Hermanek P, Gospodarowicz MK, Henson DE, Hutter DE, Hutter RV, Sobin LH, editors. Prognostic factors in cancer. Berlin: Springer; 1995. p. 64-79.
7. Broll R, Schauer V, Schimmelpenninck H et al. Prognostic relevance of occult tumor cells in lymph nodes of colorectal carcinomas: an immunohistochemical study. *Diseases of the Colon and Rectum* 1997;40:1465-71.
8. Veronesi U, Paganelli G, Viale G., et al: A Randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med*. 2003 ;349(6):546-53
9. Joosten JA, Strobbe LJA, Wauters CAP et al. *Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma*. *Br J Surg* 1999;86:482-6.
10. Doekhie FS, Peeters KCMJ, Kuppen PJK et al. The feasibility and reliability of sentinel node mapping in colorectal cancer. *J Cancer Surg* 2005;31:854-62.
11. Grinnel RS. Lymphatic block with atypical and retrograde lymphatic metastasis and spread in carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg* 1966;163:272-80.