

**Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta**

Doktorský studijní program v biomedicině

Studijní obor: Experimentální chirurgie



**UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta**

MUDr. Roman Kocián

**Význam biopsie sentinelové uzliny v léčbě pacientek s časným stádiem karcinomu
děložního hrdla**

The role of sentinel lymph node biopsy in the management of patients with early-stage cervical
cancer

Disertační závěrečná práce

Vedoucí závěrečné práce a školitel:
Prof. MUDr. David Cibula, CSc., FCMA

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 4.2.2021

Roman Kocián

Identifikační záznam:

KOCIÁN, Roman. *Význam biopsie sentinelové uzliny v léčbě pacientek s časným stádiem karcinomu děložního hrdla. [The role of sentinel lymph node biopsy in the management of patients with early-stage cervical cancer]*. Praha, 2021. 61 s., 5 příl. Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Gynekologicko-porodnická klinika. Vedoucí závěrečné práce: prof. MUDr. David Cibula, CSc., FCMA

Abstrakt:

Biopsie sentinelové uzliny je u pacientek s časnými stádii karcinomu děložního hrdla pevnou součástí doporučených postupů pro chirurgický staging onemocnění. V centrech s dostatečnou zkušeností je dosahováno vysoké úspěšnosti oboustranné detekce. Aktuálně je považována biopsie jen sentinelové uzliny bez simultánně provedené systematické pánevní lymfadenektomie za nedostatečný výkon pro stadia onemocnění IB-IIA. Jednou z výhod detekce sentinelových uzlin je možnost jejich extenzivního patologického vyšetření pomocí protokolu pro ultrastaging. To umožňuje detekci metastáz malého rozměru (mikrometastáz).

V současnosti chybí evidence o onkologické bezpečnosti biopsie sentinelové uzliny, která by nahradila systematickou lymfadenektomii. Kontroverzní je i prognostický význam mikrometastáz pro nedostatek dat o jejich možném výskytu v nesentinelových uzlinách při negativitě sentinelové uzliny.

Předkládaná disertační práce komplexně zpracovává koncept sentinelové uzliny u karcinomu děložního hrdla a věnuje se několika tématům.

Na největším dosud publikovaném retrospektivním souboru pacientek z našeho centra jsme prokázali negativní vliv mikrometastáz na prognózu pacientek. Prokázali jsme zkrácené pětileté přežití bez nemoci, které dosáhlo jen 67 % u pacientek s detekovanou mikrometastázou ve srovnání s 90 % v celé kohortě.

Dále jsme se věnovali úspěšnosti detekce a sensitivitě intraoperačního vyšetření sentinelové uzliny. Výsledky jsme získali z analýzy probíhající mezinárodní prospektivní chirurgické studie Sentix (NCT02494063), ve které předkladatel disertační práce působí od počátku jako investigátor studie, školitel disertační práce je autorem protokolu. Oboustranná úspěšnost detekce dosáhla 91 %, což je dosud nejvyšší úspěšnost oboustranné detekce prezentovaná v multicentrické studii. Úspěšnost detekce nebyla negativně ovlivněna velikostí nádoru ani BMI pacientky.

Intraoperační vyšetření sentinelové uzliny mělo nízkou sensitivitou pro detekci metastáz. U 90 % pacientek s mikrometastázou a 28 % s makrometastázou byla informace o metastatickém postižení sentinelové uzliny získána až z definitivního histologického vyšetření.

Věnovali jsme se také úspěšnosti detekce sentinelové uzliny u větších nádorů. Pro jednotlivé kategorie nádorů (2-3,9 cm, ≥ 4 cm) jsme na retrospektivním souboru z našeho centra, největším, který se tomuto tématu dosud věnoval, potvrdili srovnatelně vysokou úspěšnost oboustranné detekce sentinelové uzliny ve srovnání s nádory < 2 cm.

Klíčová slova:

Biopsie sentinelové uzliny, karcinom děložního hrdla, lymfatické mapování, uzlinový staging, úspěšnost detekce, intraoperační vyšetření, senzitivita, falešná negativita, makrometastáza, mikrometastáza, izolované nádorové buňky, ultrastaging, prognóza

Abstract:

The sentinel lymph node biopsy is part of recommended surgical staging guidelines in patients with early stages of cervical cancer. High success rates of bilateral detection of SLN are achieved in sites with adequate experience with this procedure. The sentinel lymph node biopsy without systematic pelvic lymph node dissection is currently considered inadequate procedure for stages IB to IIA of the disease. One of the benefits of sentinel lymph node detection is extensive histopathological examination using the ultrastaging protocol enabling detection of small metastases (i.e. micrometastases).

At the moment, there is lack of evidence about oncological safety of sentinel lymph node biopsy which might replace systematic lymph node dissection in the future.

Prognostic significance of micrometastases is also controversial due to the lack of data about their potential presence in non-sentinel lymph nodes in cases with negative sentinel lymph nodes.

This dissertation deals with the concept of sentinel lymph node biopsy in the cervical cancer and focuses on several topics.

We have shown that the presence of micrometastasis is associated with significant negative impact on patients' prognosis on the largest retrospective cohort of patients ever published. Only 67% of patients with micrometastasis have experienced 5-year disease free survival compared to 90% disease free survival in the whole cohort.

We have also focused on the sentinel lymph node detection rate and sensitivity of intraoperative frozen section assessment. The results were obtained from the planned analysis of ongoing international prospective surgical trial Sentix (NCT02494063), where Dr. RK acts as the main investigator since the beginning of the trial and the dissertation supervisor is the principal investigator and the author of the protocol.

Bilateral detection was achieved in 91% of patients which is the highest bilateral sentinel lymph node detection rate ever presented in a multicentric study. It was unaffected by tumour size or patient's body mass index.

Sentinel lymph node intraoperative pathological evaluation yielded a low sensitivity for final lymph node positivity (FIGO N1 status). Frozen section failed to detect 90% of all cases with micrometastases and 28% of all cases with macrometastases. For about half of the patients, information about lymph node involvement was obtained from the final pathology report.

Finally, we have assessed SLN detection rate in larger tumors over 2cm and 4 cm. This data has been obtained from the largest to date published retrospective cohort of patients focused on this topic. The bilateral detection rate did not differ in subgroups of patients according to tumor size (<2cm, 2-3,9cm, ≥4cm).

Keywords:

Sentinel lymph node biopsy, cervical cancer, lymphatic mapping, nodal staging, detection rate, frozen section, sensitivity, false negativity, macrometastasis, micrometastasis, isolated tumor cells, ultrastaging, prognosis

Osnova disertační práce

Příjmení a jméno doktoranda: MUDr. Roman Kocián

Příjmení, jméno, tituly a pracoviště školitele: prof. MUDr. David Cibula, CSc., FCMA

Gynekologicko-porodnická klinika Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty
Univerzity Karlovy v Praze

Téma (název) disertační práce: Význam biopsie sentinelové uzliny v léčbě pacientek s časným stádiem karcinomu děložního hrdla (The role of sentinel lymph node biopsy in the management of patients with early-stage cervical cancer)

Osnova:

1 Přehled současných znalostí o konceptu sentinelové uzliny

2 Vlastní projekty

2.1 Prognostický význam mikrometastáz

2.1.1 Cíl

2.1.2 Hypotéza

2.1.3 Metodika

2.1.4 Použité experimentální metody včetně statistických

2.1.5 Výsledky

2.1.6 Diskuze

2.1.7 Závěr 1

2.2 Lymfatické mapování a úspěšnost detekce sentinelové uzliny

2.2.1 Cíl

2.2.2 Hypotéza

2.2.3 Metodika

2.2.4 Použité experimentální metody včetně statistických

2.2.5 Výsledky

2.2.6 Diskuze

2.2.7 Závěr 2

2.3 Sensitivita a falešná negativita intraoperačního vyšetření sentinelové uzliny

2.3.1 Cíl

2.3.2 Hypotéza

2.3.3 Metodika

2.3.4 Použité experimentální metody včetně statistických

2.3.5 Výsledky

2.3.6 Diskuze

2.3.7 Závěr 3

2.4 Úspěšnost detekce sentinelové uzliny u větších nádorů

- 2.4.1 Cíl
 - 2.4.2 Hypotéza
 - 2.4.3 Metodika
 - 2.4.4 Použité experimentální metody včetně statistických
 - 2.4.5 Výsledky
 - 2.4.6 Diskuze
 - 2.4.7 Závěr 4
- 3 Souhrn – význam vlastních výsledků pro klinickou praxi

Poděkování
Přehled literatury
Seznam zkratk
Přílohy

Příjmení, jméno a podpis doktoranda:

MUDr. Kocián Roman

Příjmení, jméno, tituly a podpis školitele:

prof. MUDr. David Cibula, CSc., FCMA

1. Koncept sentinelové uzliny (literární úvod a přehled problematiky)

1.1 Úvod

Většina gynekologických zhoubných nádorů, včetně karcinomu děložního hrdla metastazuje lymfogenně. Zhodnocení stavu lymfatických uzlin má zásadní důležitost pro staging onemocnění a pro plánování onkologické léčby. Finální stav pánevních (regionálních) lymfatických uzlin ovlivňuje prognózu onemocnění, jejich pozitivita je považována tradičně za významný nezávislý negativní prognostický faktor. Pacientky s metastatickým postižením lymfatických uzlin mají vyšší riziko recidivy onemocnění i úmrtí na onemocnění [1-7].

1.2 Historie

Klíčovou prací věnující se technice intraoperační detekce a biopsii sentinelové uzliny na souboru 223 pacientů s maligním melanomem, publikovali v roce 1992 Dr. Donald L. Morton a Dr. Alistair J. Cochran z John Wayne Cancer Institute z Kalifornie, USA [8]. Úspěšně provedli lymfatické mapování a detekovali sentinelovou uzlinu v 82 % případů. Zaznamenali významný vliv zkušeností operátora na úspěšnost detekce. Pomocí této nové metody se jim podařilo selektovat rizikovou skupinu pacientů s přítomností časných metastáz v regionální uzlině, která byla následně indikována k provedení elektivní systematické lymfadenektomie.

Pojem sentinelové uzliny je mnohem starší. Ramon M. Cabañas se věnoval výzkumu metastatického postižení lymfatických uzlin u karcinomu penisu v 60. letech 20. století. Za sentinelovou uzlinu označil lymfatickou uzlinu 4,5 cm laterálně od symfýzy, která byla velmi často postižena jako první. Tento koncept vycházel z pozorování stacionární lokalizace karcinomu na glans penisu [9].

Prvním vědcem a lékařem, který použil termín sentinelové uzliny, byl v roce 1923 britský chirurg Leonard R. Braithwaite. Studoval distribuci modrého barviva, které aplikoval na omentum lidí a pokusných koček a následně první modrou lymfatickou uzlinu v blízkosti aplikace značky v podobě barviva nazval „gland sentinel“ [10, 11]. V roce 1960 američan Ernest A. Gould popsál, vycházejíc z anatomie lymfatického systému, jako sentinelovou uzlinu první lymfatickou uzlinu typicky lokalizovanou v soutoku anteriorní a posteriorní obličejové vény u karcinomu gl. parotis. O několik let později v roce 1966 americký urolog E. Sayegh popsál sentinelovou uzlinu, která získává lymfatickou drenáž z varlete [12].

1.3 Současná doporučení

Biopsie sentinelové uzliny je u karcinomu děložního hrdla doporučenou metodou pro časná stádia onemocnění a je pevnou součástí současných jak evropských (ESGO-ESTRO-ESP guidelines) [13], tak i amerických (NCCN guidelines) doporučených postupů [14].

Chirurgicko-patologický staging regionálních pánevních lymfatických uzlin je standardem pro zhodnocení prognózy a stanovení další terapie u časných stádií karcinomu děložního hrdla (stádia T1a, T1b, T2a1), není součástí výkonu pro nejnižší stadium onemocnění, tzn. T1a1 bez lymfovaskulární invaze [13].

První studie věnující se biopsii sentinelové uzliny u karcinomu děložního hrdla byly publikovány před více než 20 lety [15, 16]. Do současnosti se pouze ojedinělé práce věnovaly významu jen samotné biopsie sentinelové uzliny bez následného provedení systematické lymfadenektomie [17]. Jako samostatný výkon je v současnosti biopsie SLN akceptovaná pouze u pacientek ve stádiu T1a1 s přítomnou lymfovaskulární invazí a ve stádiu T1a2 [13]. Biopsie sentinelové uzliny je doporučenou metodou pro stádia T1b až T2a, ale vždy

v kombinaci se systematickou pánevní lymfadenektomií v případě její negativity nebo nebyla intraoperačně SLN vyšetřena. Biopsie jen SLN je pro tato stádia onemocnění možná jen v rámci probíhajících chirurgických studií.

Všechny exstirpované SLN jsou odeslány na intraoperační histologické vyšetření. Je-li patologem detekováno jejich metastatické postižení makrometastázou nebo mikrometastázou, je většinou od další radikální operace, radikální hysterektomie a systematické lymfadenektomie, upuštěno. Nádor hrdla je s děložou v pánvi ponechán a pacientka je referována k definitivní primární chemoradioterapii. Je dokončen paraaortální staging, lymfadenektomie do výše inferiorní mesenterické arterie a eventuálně jsou dle věku transponována funkční nádorem nepostižená ovária mimo budoucí ozářené pole. Tato intraoperační triáž pacientek má zabránit nežádoucí kombinaci obou léčebných modalit, radikální chirurgie a chemoradioterapie, která bývá spojena s největší závažnou, zejména pozdní morbiditou.

Na intraoperační vyšetření by měly být odeslány kromě sentinelových i evidentně suspektní uzliny, v případě nečekaného nálezu zvětšených pánevních uzlin, které nebyly zřejmé na předoperačním ultrazvukovém vyšetření nebo na magnetické rezonanci. V tomto případě jsou exstirpovány zvětšené postižené uzliny v kombinaci s paraaortálním uzlinovým stagingem. Pacientka je následně opět referována k definitivní kurativní chemoradioterapii [13].

Biopsie SLN má několik cílů. Umožňuje detekovat ty nejdůležitější strážné uzliny s největším rizikem postižení. Intraoperační histologické vyšetření SLN pomocí metody zmrazených řezů umožňuje upravení typu provedeného výkonu během operace. Malý počet SLN umožňuje jejich extenzivní finální patologické zpracování pomocí protokolu pro tzv. ultrastaging, které zvyšuje záchyt metastáz malých rozměrů: mikrometastáz (0,2 – 2,0 mm) a shluků izolovaných nádorových buněk (<0,2 mm).

1.4 Technika značení a detekce sentinelové uzliny

Ke značení SLN je možné použít několika technik. Pro vyšší úspěšnost značení je preferována kombinace detekčních látek, tzv. „tracers“. Je vhodné použít kombinace barviva methylenové/isosulfanové modři („BD – blue dye“) s techneciem-99m značeným radiokoloidem („RC – radiocoloid ^{99m}Tc“). Samostatně je užívána fluorescenční technika s indocyaninovou zelení („ICG – indocyanine green“), která má udávanou vyšší úspěšnost v oboustranné detekci SLN [18].

Metoda detekce SLN byla u karcinomu děložního hrdla extenzivně studována a je dobře standardizována. Je publikována její velmi nízká falešná negativita pro finální stav pánevních lymfatických uzlin. Zhodnocení stavu lymfatických uzlin s oboustrannou detekcí a intraoperačním patologickým vyšetřením sentinelových uzlin by mělo být prvním krokem chirurgického výkonu. Za sentinelové uzliny jsou považovány všechny modré anebo radioaktivní anebo fluorescentní uzliny, které jsou následně šetrně exstirpovány, ve snaze nezmoždit jejich pouzdro.

Pro značení SLN radiokoloidem existují dva odlišné protokoly pro aplikaci. Vychází z velikostí použitých partikulí a rozdílně upravují čas aplikace detekční látky před samotným operačním výkonem. V dlouhém dvoudenním protokolu je radiokoloid (Senti-Scint[®], velikost partikulí 100-600 nm) aplikován do děložního hrdla den před operací s možností provedení scintigrafie. V krátkém protokolu je aplikace zhruba 20 minut před začátkem operačního výkonu a samotné detekce u pacientky, která je již v celkové anestezii (Nanocoli[®], velikost partikulí 3-16 nm s průměrem 8 nm). Patentní modř, stejně tak i indocyaninová zeleň jsou aplikovány při vaginální přípravě na začátku operačního výkonu.

K mapování SLN pomocí radiokoloidu je zapotřebí mít k dispozici zázemí oddělení nukleární medicíny, které po objednání pro pacientku připraví a na oddělení nebo operační sál doručí techneciem-99m značený radiokoloid. Jeho celková aktivita je 80-110 MBq, rozdělená do čtyř dávek, každá jedna je určena k aplikaci do jednoho ze čtyř kvadrantů děložního hrdla. Za objemem tekutiny je v každé injekci malá bublina vzduchu, která je důležitá pro vyplnění mrtvého prostoru a dodržení aplikované dávky radiokoloidu. Je možné provést předoperační scintigrafii, která má udávanou nižší sensitivitu pro detekci sentinelových uzlin [19]. K intraoperační detekci slouží příruční scintilační gama kamera, která registruje radioaktivitu, tj. množství impulzů za sekundu. Radioaktivní („hot“) SLN má vyšší aktivitu ve srovnání s pozadím, okolní tkání.

Úspěšná oboustranná detekce SLN je závislá na dobře zvládnuté technice aplikace detekční látky do děložního hrdla. Ta musí být povrchová, dostatečně pomalá, aplikace je provedena volně bez odporu, do zdravé tkáně, stromatu děložního hrdla v těsném okolí nádoru. (Obr. 1)



Obr. 1: Aplikace detekční látky do děložního hrdla

Celková dávka je v případě radiokoloidu 4x20 MBq, aplikovaný objem 0,2-0,5 ml na injekci, pro patentní modř pak jedna 2 ml ampule v 5ml injekci nezředěná nebo zředěná v 2ml fyziologického roztoku a pro indocyaninovou zeleň pak jedna 5 ml ampule zředěná v 20 ml fyziologického roztoku v dávce 2x2 ml pro intracervikální aplikaci. U objemných nádorů, kde není patrný zbývající zdravým lem děložního hrdla je možné použít modifikovanou techniku aplikace se speciální dlouhou spinální jehlu a detekční látku aplikovat za nekrotický exofytický nádor do zdravé tkáně stromatu [20]. Je důležité jehlu ponechat v hrdle několik vteřin jako prevenci úniku detekční látky z místa vpichu. Opatrnosti je zapotřebí v případě užití patentní modři, které může být spojeno s alergickou reakcí. Proto je vhodné předem informovat

anesteziologa. Hodnoty saturace měřené pulzní oxymetrií mohou v důsledku zředění barviva v plazmě a interferací s fotometrickou technikou měření falešně poklesnout [21].

Po aplikaci detekční značky je během operace rozpolceno peritoneum na obou stranách a získán tak dobrý přístup do retroperitonea v průběhu velkých pánevních cév. Je nezbytně nutné pečlivě prohlédnout všech 7 anatomicky dobře definované oblasti s možným výskytem SLN, tj. pánevní úrovně I a II [22].

Jedná se o následující přesně vymezené oblasti:

- a) **externí ilická oblast** (vpravo a vlevo), kterou vymezuje paravesikální fossa mediálně a m. psoas laterálně, ramus superior ossis pubis ventrálně a bifurkace společné ilické arterie dorzálně
- b) **interilická oblast**, neboli **obturatorní fossa** (vpravo a vlevo), kterou kraniálně ohraničuje stěna externí ilické vény, její kaudální plocha, dorzálně pak bifurkace společné ilické arterie, paravesikální prostor mediálně, os pubis společně s musculus levator ani ventrálně, musculus psoas laterálně a obturatorní cévy kaudálně
- c) **společná ilická oblast** (vpravo a vlevo), kterou vymezuje bifurkace aorty kraniálně, společné ilické cévy mediálně, laterálně m. psoas, ventrálně bifurkace společných ilických cév a os sacrum kaudálně
- d) **presakrální oblast** je ohraničená společnými ilickými cévami kraniálně a laterálně, os sacrum kaudálně a ventrálně sahá po úroveň bifurkace pravých společných ilických cév

Pánevní **úroveň I** se nachází pod bifurkací společných ilických arterií a zahrnuje v sobě oblast externích ilických cév a interilickou oblast. Pánevní **úroveň II** se nachází kraniálně od úrovně I a zahrnuje společnou ilickou oblast a presakrální oblast.

Během operace a lymfatického mapování pak v ideálním případě sledujeme označené aferentní lymfatické cévy a kolektory, které nás od nádoru dovedou k označeným sentinelovým uzlinám. Jejich nejpravděpodobnější výskyt lze očekávat v oblasti zevních ilických cév, v interilické bifurkaci při vstupu do obturatorní fosy a v obturatorní fosse samotné [19]. Pokud sentinelové uzliny nenajdeme v těchto pravděpodobných oblastech výskytu, je důležité pečlivě prohlédnout celou pánev včetně parametrií, oblasti společných ilických cév, vnitřních ilických cév a presakrální oblast. Byly popsány i tzv. atypické lokalizace výskytu zhruba u 2-5% všech sentinelových uzlin [23, 24]. Je ale vysoce nepravděpodobné, z recentních publikovaných dat až nemožné, že by aferentní lymfatické cesty přeskočily všechny pánevní uzliny a vedly přímo izolovaně do paraaortální oblasti. Tato atypická lokalizace sentinelových uzlin paraaortálně byla popsána ve dvou francouzských studiích s prevalencí 5% ve starší práci a pouze 1,5 % z výsledků analýzy obou studií [23, 25]. Z analýzy lymfatického mapování ve studii Sentix se potvrdil výskyt sentinelových uzlin jen v pánvi. Izolovaný výskyt sentinelových uzlin paraaortálně nebyl zachycen [26].

SLN koncept předpokládá odstranění obvykle malého množství jedné až dvou uzlin z každé strany pánve. S narůstající délkou detekce se detekční látkou označí i další kraniálně lokalizované tzv. sekundární uzliny. Tyto ale nejsou z definice uzlinami sentinelovými, tedy prvními strážnými uzlinami. Současně je zapotřebí po odstranění sentinelových uzlin v případě aplikovaného radiokoloidu pečlivě pátrat po možné reziduální radioaktivitě v pánvi ve snaze eliminovat riziko přehlédnutí dalších ponechaných radioaktivních sentinelových uzlin.

1.5 Intraoperační a definitivní histologické vyšetření sentinelové uzliny

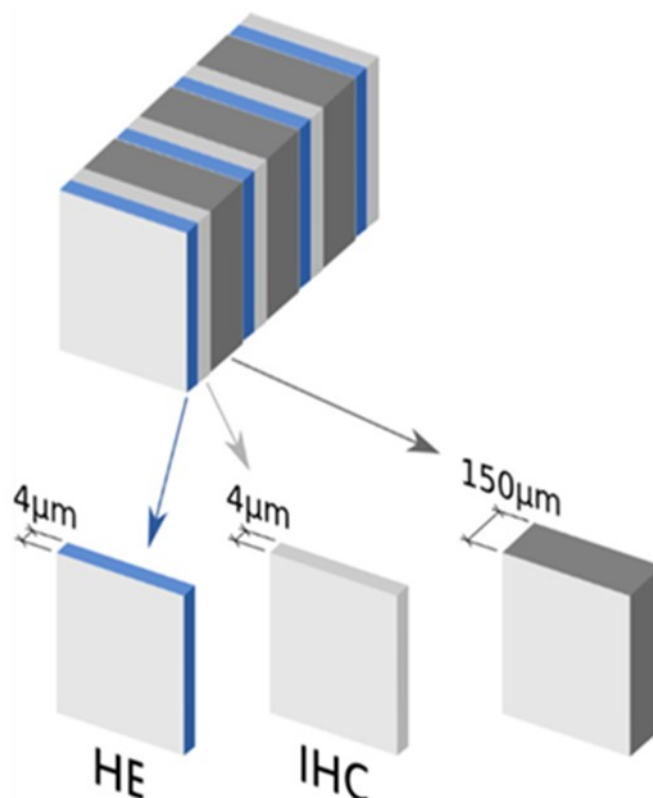
Všechny exstirpované SLN jsou odeslány na intraoperační vyšetření pomocí metody zmrazených řezů a následně jsou poté definitivně extenzivně zpracovány pomocí protokolu pro ultrastaging.

Cílem intraoperačního vyšetření SLN je třídit pacientky mezi primární operační léčbou (negativita SLN) a primární chemoradioterapií (pozitivita LSN) a modifikovat tak rozsah operačního výkonu. Výsledek intraoperačního vyšetření musí být operatérovi k dispozici řádově v desítkách minut. Velké množství vyšetřených řezů by neúměrně prodlužovalo operaci a vedlo by ke ztrátě a vykrojení materiálu uzliny, který by byl ztracen pro definitivní zpracování. Během intraoperačního vyšetření je sentinelová uzlina šetrně oddělena od okolní tukové tkáně a vyšetřena v 2 mm řezech, pro menší uzliny to znamená jejich prosté rozpůlení. Z každého bločku jsou pak vyšetřeny jeden nebo dva řezy. Je zcela postačující, aby zřetelně metastaticky postižená uzlina byla vyšetřena pouze v jednom řezu. V takovém případě je dobré ponechat okolní tukovou tkáň kolem uzliny k posouzení prorůstání a šíření metastázy přes její pouzdro [27].

Novou metodou intraoperačního vyšetření sentinelové uzliny na přítomnost makrometastáz, mikrometastáz a izolovaných nádorových buněk patří tzv. OSNA („one-step nucleic acid amplification“). Jedná se o rychlou esej, která umožňuje kvantitativně detekovat přítomnost cytokeratin 19 mRNA v lyzátu SLN. Limitací metody je však možná ztráta materiálu uzliny při zpracování jejího lyzátu pomocí OSNA, také falešná pozitivita v případě přítomných benigních epiteliálních Müllerianských inkluzí (např. endosalpingióza, endometrióza) a dále nedostatek evidence o přesnosti metody [28].

Poté, co byly SLN vyšetřeny intraoperačně, následuje definitivní zpracování pomocí protokolu pro ultrastaging. (Obr. 2) Cílem podrobného finálního histologického vyšetření je nepřehlédnout žádné metastatické postižení SLN a detekovat i malé metastázy (mikrometastázy). Neprovedení ultrastagingu by mělo závažné důsledky pro prognózu pacientky v podobě přítomného a přehlédnutého metastatického uzlinového postižení a vysokého rizika recidivy a úmrtí.

Ultrastaging SLN klade časové, personální i finanční nároky. Neexistuje pro něj mezinárodně platný jednotný doporučený protokol. Informace o počtu vyšetřených úrovní z každého histologického bločku (každého 2 mm řezu SLN), o velikosti intervalu mezi jednotlivými úrovněmi (μm), jsou parametry, které by měly být uvedeny v definitivní histologické zprávě, stejně tak i v publikaci věnující se biopsii SLN.



Obr. 2: Protokol pro ultrastaging při vyšetření SLN

Definitivnímu zpracování SLN pomocí protokolu ultrastagingu se věnuje recentně publikovaný souhrnný článek (Dundr P., 2020). Autoři popisují značné rozdíly v intenzitě a kvalitě zpracování mezi jednotlivými institucemi s různých zemí. Méně intenzivní protokoly významně snižují sensitivitu ultrastagingu a mohou mít za důsledek přehlédnutí mikrometastáz i malých makrometastáz. Ze 127 analyzovaných studií chybí u 24% z nich jakákoliv informace o způsobu patologického vyšetření, u 7 % případů nebyly uzliny vyšetřeny ultrastagingem, tloušťka řezů byla značně variabilní (1-5mm), stejně tak počet vyšetřených úrovní (0 úrovní až kompletní zpracování, kdy není ponechána žádná nevyšetřená tkáň uzliny). Značně se liší i intervaly mezi jednotlivými úrovněmi (40-1000 μm) a počet řezů v úrovni (1-5) [29].

Navržený protokol pro definitivní vyšetření SLN, který zachytí všechny makrometastázy a většinu mikrometastáz, je následující. SLN je fixována ve formaldehydu a nakrájena po 2 mm. Z parafinových bloků jsou provedeny vždy 4 řezy v 200 um intervalech (1 barvený H&E, 1 vyšetřený imunohistochemicky protilátkami proti pancytokeratinu AE1 a AE3 a 2 nebarvené řezy) a to celkem v tolika úrovních, dokud nezůstane žádná nezpracovaná tkáň uzliny [27].

1.6 TNM klasifikace

Nádorové postižení, pozitivita SLN je rozdělena do několika skupin a to podle velikosti metastáz.

TMN klasifikace definuje následující kategorie pN:

pN1(sn) pro přítomnost makrometastázy o velikosti >2 mm,

pN1 (mic) (sn) pro mikrometastázu o velikosti 0,2 mm – 2,0 mm,

pN0(i+) (sn) pro přítomnost tzv. (shluků) izolovaných nádorových buněk o velikosti <0,2 mm.

Pozitivita lymfatických uzlin je u karcinomu děložního hrdla nejdůležitějším nezávislým negativním prognostickým faktorem [30]. Díky extenzivnímu histologickému vyšetření SLN pomocí ultrastagingu je navíc zhruba u 10-15 % patientek diagnostikována mikrometastáza anebo shluky izolovaných nádorových buněk, které by při běžném vyšetření lymfatických uzlin zůstaly přehlédnuty.

2 Cíle práce

Součástí disertační práce je několik projektů, věnujících se konceptu sentinelové uzliny u časných stádií karcinomu děložního hrdla. Jsou popsány v následujících kapitolách.

2.1 Prognostický význam mikrometastáz

2.2 Lymfatické mapování a úspěšnost detekce sentinelové uzliny

2.3 Sensitivita a falešná negativita intraoperačního vyšetření sentinelové uzliny

2.4 Úspěšnost detekce sentinelové uzliny u větších nádorů

2.1 Prognostický význam mikrometastáz

2.1.1 Cíl

Cílem projektu bylo na souboru 226 pacientek léčených v terciárním onkogynekologickém centru Gynekologicko-porodnické kliniky VFN a 1.LF UK v Praze retrospektivně analyzovat prognostický význam mikrometastáz a izolovaných nádorových buněk v SLN a jejich vliv na parametry celkového přežití a přežití bez progresu onemocnění. Biopsie SLN bylo využíváno v managementu pacientek v našem centru kontinuálně od roku 2005 a intenzivní protokol pro histopatologické vyšetření sentinelové uzliny systematicky od roku 2009.

2.1.2 Hypotéza

Prognostický význam mikrometastáz (MIC) v SLN je důležitý pro klinický management pacientek s karcinomem děložního hrdla. Současná literatura je v této oblasti kontroverzní. K detekci většiny MIC je nutné definitivně histologicky vyšetřit SLN pomocí ultrastagingu. V případě prokazatelného negativního vlivu na prognózu onemocnění je k pacientkám s MIC nutno přistupovat identicky jako k pacientkám s makrometastázou (MAC). Naopak, pokud by MIC neměla vliv na přežití, SLN by mohly být patologicky vyšetřovány standardně bez nutnosti využití drahého a náročného protokolu pro ultrastaging.

2.1.3 Metodika

Do studie byly zařazeny všechny konsekutivní pacientky s karcinomem děložního hrdla ve stádiu T1a-T2b, s běžnými histologickými typy (dlaždicobuněčný, adenoskvamózní, adenokarcinom) a s negativními lymfatickými uzlinami dle předoperačních stagingových zobrazovacích vyšetření, které podstoupily chirurgickou léčbu s kurativním záměrem v intervalu od ledna 2007 do prosince 2016. Vstupním kritériem byla alespoň jednostranná detekce sentinelové uzliny během operace. Vyřazeny byly pacientky s metastatickým postižením SLN z intraoperačního vyšetření, u kterých bylo od další radikální operace pro pozitivu uzliny upuštěno a u kterých nebyla SLN detekována alespoň jednostranně. Byly vyloučeny pacientky s vzácnými histologickými typy nádorů s agresivním biologickým chováním (např. neuroendokrinní nádory) a dále ty, které byly iniciálně léčeny neoadjuvantní chemoterapií ve snaze zmenšit nádor pro plánovaný fertilitu záchovný postup.

Pro popis uzlinového postižení byla použita TNM klasifikace, kde makrometastáza (MAC) představuje postižení >2 mm, mikrometastáza (MIC) postižení o velikosti 0,2-2,0 mm a izolované nádorové buňky (ITC) pak jednotlivé nádorové buňky nebo jejich shluky <0,2 mm (<200 buněk) [31].

Pro detekci SLN byla použita kombinovaná metoda patentní modři s radikoloidem. Techneciem 99 značený albumin (SentiScint®) byl v dvoudenním tzv. dlouhém protokolu aplikován ze čtyř vpichů do děložního hrdla minimálně 12 hodin před operací v rozdělené dávce 4x20 MBq. Patentní modř byla aplikována ze čtyř vpichů do děložního hrdla při vaginální přípravě u pacientky již v celkové anestezii těsně před začátkem operačního výkonu v celkové dávce 2 ml, nebo zředěná přidáním 2 ml fyziologického roztoku. Způsob a doba aplikace detekčních látek byla identická jak pro mini-invazivní (laparoskopický), tak pro otevřený operační přístup (z laparotomie). U menších nádorů aplikace proběhla povrchově do stromatu děložního hrdla, přísně peritumorózně nebo v těsné blízkosti konizačního defektu. Aplikace detekční značky byla pomalá, bez většího odporu tkáně a jehla byla po aplikaci ponechána v děložním hrdle po dobu několika vteřin ke kontrole a prevenci nežádoucího úniku detekční

látky z místa vpichu. U velkých (bulky a pseudobulky) nádorů, u kterých nebylo dobře patrné reziduální okolní stroma hrdla, byla detekční látka aplikována modifikovaně za tumor do zdravého stromatu pomocí dlouhé spinální jehly [20].

Po aplikaci detekční látky následoval samotný operační výkon, během kterého byly nejprve pečlivě prohlédnuty všechny anatomicky definované oblasti v retroperitoneu pánve ve snaze detekovat modře zbarvené anebo radioaktivní SLN pomocí ruční gamma kamery.

Exstirpovány byly všechny modré anebo radioaktivní SLN a odeslány na intraoperační histologické vyšetření. V případě nečekaného nálezu více pokročilého onemocnění, při intraoperační pozitivitě SLN, klinicky jasné invaze do parametrií a nečekaného peritoneálního rozsevu nebo při nálezu bulky postižených lymfatických uzlin bylo od další radikální operace upuštěno. Taková pacientka byla referována k primární konkomitantní kombinované chemoradioterapii.

V případě negativity SLN z intraoperačního vyšetření metodou zmrazených řezů byla dokončena systematická pánevní lymfadenektomie, tzn. odstraněna veškerá tukově lymfatická tkáň oboustranně ze sedmi standardně anatomicky definovaných oblastí pánve (úrovně I a úrovně II) s možným výskytem uzlinového postižení (z párových oblastí zevních a společných ilických cév, z obou oburatorních fos a z oblasti presakrální) [22]. Výjimkou byly pacientky ve stádiu T1a s přítomnou lymfovaskulární invazí, u kterých je dle současných doporučení biopsie SLN dostačujícím výkonem [13, 14]. Lymfatické uzliny v postranních parametriích byly odstraněny během radikální parametrektomie a zůstali součástí preparátu dělohy.

Typ provedené radikální parametektomie (B, C1, C2) definuje klasifikace podle Querleho-Morrowa [32, 33]. Radikalita resekce parametrií byla zvolena před operačním výkonem se znalostí klinického stádia ze zobrazovacích vyšetření a s ohledem na přítomnost lokálních rizikových faktorů (velikost tumoru, přítomnost LVSI, hloubka stromální invaze, dosah nádoru k pericervikální fascii, tzv. „tumor-free distance“) [13, 34].

Adjuvatní chemoradioterapie byla indikována u pacientek v případě positivity lymfatických uzlin, infiltrace parametrií nebo při dosahu nádoru do chirurgického resekčního okraje (poševní manžeta). Následovala ambulantní dispenzarizace v pravidelných intervalech (každé 3 měsíce první dva roky po operaci a každých 6 měsíců v 3.-5. roce sledování). Bylo dosaženo mediánu sledování v délce 5 let. Data o přežívání pacientek byla porovnána a chybějící event. doplněna z Národního onkologického registru (NOR, ÚZIS ČR).

Provedená univariální analýza zahrnovala dvanáct sledovaných histopatologických (P) nebo ultrazvukových (UZ) parametrů: stádium nádoru (P), histologický typ nádoru (P), grading (P), přítomnost LVSI (P), invaze do parametrií (P), pozitivita lymfatických uzliny (MAC, MIC, ITC) (P), počet pozitivních LN (P), největší rozměr nádoru (UZ), největší rozměr nádoru (P), TFD – tumor free distance (UZ), hloubka stromální invaze (P), objem nádoru vypočítaný z jeho rozměrů vzorcem pro elipsoid (P).

TFD byla definována jako minimální vzdálenost mezi nádorem a pericervikální fascií, hranice lemující děložní hrdlo, která je hyperechogenní na ultrazvuku a hypointenzivní na MRI. Jedná se o nejmenší tloušťku nádorem nepostiženého stromatu hrdla děložního měřenou v tranverzální rovině (mm) [34].

Každá exstirpovaná SLN větší než 3 mm, byla intraoperačně rozpůlena rovnoběžně s její dlouhou osou a každá polovina vyšetřena metodou zmrazených řezů. Výsledek z intraoperačního vyšetření, tzn. informaci o počtu nalezených a vyšetřených uzlin a o event. přítomnosti metastatického postižení patolog sdělil chirurgovi na operační sál. Uzliny menší než 3 mm byly s ohledem na nežádoucí ztrátu materiálu vykrojením ponechány pro definitivní histologické zpracování.

SLN byly fixovány v 10% formaldehydu, nakrájeny v 2 mm intervalech a zality do parafinových bločků. Byly zpracovány dle protokolu pro SLN ultrastaging, který spočíval ve vyšetření každého 2 mm bločku ve dvou po sobě následujících ultratenkých řezech (4 μ m)

v pravidelných 150 µm intervalech, a to celkem ve 4 úrovních. První řez byl barven pomocí hematoxylinu a eosinu (HE) a druhý imunohistochemicky s použitím protilátek proti cytokeratinům, anti-cytokeratinu AE1 a AE3 (Dako, Glostrup, Dánsko).

2.1.4 Použité statistické metody

Analýza retrospektivní kohorty z jednoho centra byly provedena s použitím standardních metod deskriptivní statistiky. Použity byly absolutní a relativní četnosti jednotlivých veličin, medián byl doplněn percentilovým rozpětím od 5.-95. percentilu pro spojité proměnné. Ke zhodnocení vlivu jednotlivých sledovaných faktorů na parametry přežití byly použity univariační a multivariační testy (Cox proportional hazards models) a vyjádřeny pomocí poměrů rizik (HR) a intervalů spolehlivosti (CI) s konfidenční hladinou 95 %. Cut-off hodnoty (diskriminační hladiny) průběžných proměnných byly stanoveny analýzou ROC křivek, kritériem byla nejvyšší hodnota součtu sensitivity a specificity. Kaplan-Meierova metoda pak k vizualizaci parametrů přežití. Log rank test k testování statistické významnosti rozdílů v křivkách přežití mezi různými skupinami pacientek. Statistická analýza byla provedena pomocí SPSS 25.0.0.1 (IBM Corporation 2018).

2.1.5. Výsledky

Základní charakteristika souboru pacientek je uvedena v tabulce 1. Stádia onemocnění jsou uvedena dle FIGO klasifikace 2009.

Tab. 1: Základní charakteristika souboru (N=226)

		celá kohorta ¹
věk (roky)		42,2 (26,2; 67,9)
BMI		24,3 (18,4; 36,2)
stádium pT	1a1	8 (3,5 %)
	1a2	7 (3,1 %)
	1b1	157 (69,4 %)
	1b2	42 (18,6 %)
	2a	3 (1,3 %)
	2b	9 (4,0 %)
histologický typ	adenokarcinom	49 (21,7 %)
	adenoskvamózní	6 (2,7 %)
	dlaždicobuněčný	171 (75,7 %)
grade	1	21 (9,3 %)
	2	95 (42,0 %)
	3	91 (40,3 %)
	neuveden	19 (8,4 %)
LVSI		98 (43,4 %)
fertilitu zachovná léčba	konizace	11 (4,9 %)
	ST	4 (1,8 %)
	RT	12 (5,3 %)
chirurgický přístup	laparotomie	196 (86,7 %)
	laparoskopie	30 (13,3 %)
typ parametrektomie	A	5 (2,2 %)
	B	13 (5,8 %)

	C	2 (0,9 %)
	C1	106 (46,9 %)
	C2	82 (36,3 %)
	neuveden	18 (8,0 %)
SLNB	bilaterálně	196 (86,7 %)
	unilaterálně	30 (13,3 %)
pánevní lymfadenektomie		212 (93,8 %)
počet získaných LN na pacientku		36,0 (4,0; 59,0)
typ uzlinové positivity	MAC	14 (6,2 %)
	MIC	16 (7,1 %)
	ITC	8 (3,5 %)
	negativní	188 (83,2 %)
největší rozměr nádoru (UZ) ²		25,5 (3,4; 52,0)
největší rozměr nádoru (P) ³		26,0 (6,0; 65,0)
hloubka stromální invaze (P) ³		15,0 (5,0; 25,0)
objem nádoru (P) ³		4 336,3 (113,1; 43 987,6)
adjuvantní léčba		37 (16,4 %)
	kombinovaná RT	13 (5,8 %)
	chemoradioterapie	24 (10,6 %)
délka dispenzarizace (měsíce)		64,5 (7,0; 123,0)
interval do recidivy (měsíce)		61,5 (6,4; 123,0)
recidivy		22 (9,7 %)
úmrtí		25 (9,7 %)
	DOD	18 (7,9 %)
	DOC	7 (3,1 %)

¹ absolutní a relativní frekvence proměnných v jednotlivých kategoriích, medián doplněn 5.–95.

percentilem, ²hodnoceno podle ultrazvuku; ³hodnoceno podle histologie

DOC=úmrtí z jiné příčiny („died of other cause“), DOD=úmrtí v souvislosti s onemocněním („died of disease“), ITC=izolované nádorové buňky, LN=lymfatické uzliny, LVSI=lymfovaskulární invaze, MAC=makrometastáza, MIC=mikrometastáza, P=histopatologie, RT=radioterapie, RT=radikální trachelektomie, SLNB=biopsie sentinelové lymfatické uzliny, ST=prostá trachelektomie, UZ=ultrazvuk

Pro finální analýzu byla zpracována kohorta 226 pacientek. Dlačicobuněčný karcinom byl diagnostikován v 76 % a adenokarcinom v 22 % případů. Nádor T1b1 do 2 cm byl v souboru zastoupen v 69 % případů. Radikální parametrektomií (hysterektomií nebo trachelektomií) typ C1 podstoupilo 47 % a typ C2 36 % pacientek. Fertilitu záchovnou operací prodělalo 12% zařazených pacientek. V 87% případů proběhla operace z otevřeného přístupu, z laparotomie.

Invaze do parametrií a stádium T2b bylo patologem potvrzeno v devíti případech (4 %), v šesti případech jsme o parametriální invazi věděli již z předoperačního expertního ultrazvukového vyšetření a u třech zbývajících T2b nádorů došlo ke zvýšení stádia až z finální histologie (posun cT1b → pT2b). Důvody pro indikaci k radikální operaci u pacientek s T2b nádory bylo silné vaginální krvácení ve dvou případech a zcela incipientní, minimální invaze do parametrií ve čtyřech případech.

Jen u dvou pacientek s negativní SLN, byla nalezena makrometastáza v uzlině nesentinelové. Falešná negativita pro SLN vyšetřené pomocí protokolu pro ultrastaging byla nízká (1 %) a je uvedena v tabulce 2.

Tab. 2: Definitivní stav lymfatických uzlin. Kombinované výsledky ultrastagingu SLN a vyšetření non-SLN uzlin (N=226)

SLN	non SLN	finální stav LN	N (%)
negativní	negativní	negativní	188(83,2 %)
negativní	pozitivní (MAC)	pozitivní	2 (0,9 %)
pozitivní MIC 1	pozitivní (MAC)	pozitivní	1(0,4 %)
pozitivní ITC 1 MIC 2 MAC 1 MAC 2	pozitivní ITC 1 MIC 2 MIC 1 MAC 2	pozitivní	6 (2,7 %)
pozitivní ITC 7 MIC 14 MAC 8	negativní	pozitivní	29 (12,8 %)

Metastatické postižení, pozitivita lymfatických uzlin, byla diagnostikována u 38 (17 %) pacientek. Podle velikosti se jednalo o 14 MAC, 16 MIC a 8 ITC. Adjuvantní léčbu podstoupilo 37 (16 %) pacientek, 27 z nich pro uzlinovou pozitivitu, dalších 8 pro invazi nádoru do parametrií a dvě pacientky pro pozitivitu chirurgického okraje (dosah nádoru do okraje poševní manžety).

Celkem jedenácti pacientkám (11/38) s přítomným metastatickým postižením lymfatických uzlin nebyla adjuvantní léčba z různých důvodů, podána. Adjuvantní chemoradioterapii nedostaly čtyři pacientky (4/14) s MAC, ve třech případech pro odmítnutí adjuvantní léčby (T1b1 stádia) a jedenkrát pro časnou progresi po fertilitě záchovné operaci. Další dvě pacientky (2/16) s MIC neabsolvovaly adjuvantní léčbu, v jednom případě pro odmítnutí radioterapie a druhá pacientka s MIC byla diagnostikována a léčena v době, kdy přítomnost MIC v lymfatické uzlině současně s absencí dalších prognostických rizikových faktorů nebyla indikací k pooperačnímu zajištění adjuvantní léčbou. Identicky nebyla adjuvantní léčba podána pěti pacientkám (5/8) s ITC, který byly léčeny v dřívějším období a ve všech případech pro absenci dalších prognosticky významných rizikových faktorů.

Během následující dispenzarizace po operačním výkonu jsme diagnostikovali celkem 22 recidiv. Medián sledování dosáhl 65 měsíců. Recidivy byly v osmi případech popsány izolovaně v pánvi, ve čtyřech jen vzdáleně a u 10 pacientek se jednalo o recidivu kombinovanou, pánevní a vzdálenou. Po fertilitě záchovné operaci, radikální trachelektomii, jsme diagnostikovali tři recidivy, dvě v ponechaném hrdle a jednu pánevní. Všechny byly následně kurativně ošetřeny. Ve třech případech recidivy po konizaci, dvou pánevních a jedné kombinované, byla bohužel prognóza pro pacientky infaustní. V tabulce 3 je přehledně uvedena charakteristika a přežití pro všechny případy pacientek s diagnostikovanou recidivou.

Tab. 3: Charakteristika pacientek s recidivou (N=22)

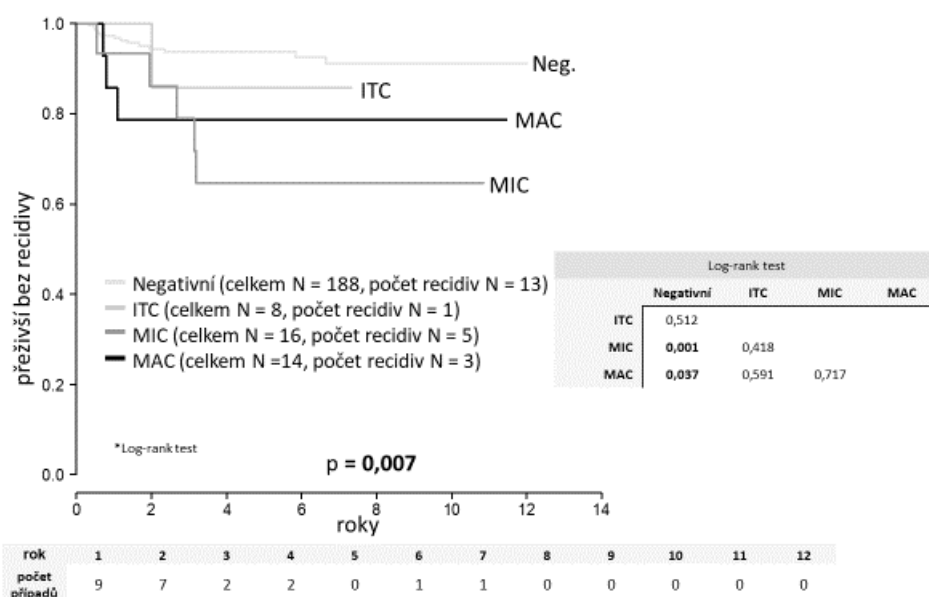
č.	věk	FST	typ nádoru	stádium pT	status LN	LVSI	největší rozměr nádoru (mm)	DSI	typ parametrickomie	adjuvantní léčba	DFI (m)	lokalizace recidivy	aktuální stav
1	33		SCC	1b1	0	ano	20	1/3	C1	0	71	komb	DOD
2	30	ART	A	1b1	0	0	23	1/3	C1	0	7	pánev	NED
3	53		A	1b1	ITC	0	34	2/3	C2	0	25	komb	DOD
4	65		SCC	1b1	0	ano	22	1/3	C1	0	28	pánev	DOD
5	37	ART	A	1b1	0	0	20	1/3	C1	0	8	pánev	NED
6	29	ART	A	1b1	0	0	10	1/3	C1	0	22	pánev	NED
7	62		SCC	1b1	0	ano	22	3/3	C1	KombRT	69	distant	DOD
8	46		AS	1b1	0	ano	36	2/3	C2	0	4	komb	DOD
9	25		SCC	1b2	MIC	ano	55	3/3	C2	CHRT	16	pánev	DOD
10	41		AS	1b2	MIC	ano	45	3/3	C2	CHRT	25	distant	DOD
11	35		SCC	1b1	MAC	ano	45	3/3	C2	CHRT	10	komb	DOD
12	20	Cone	SCC	1b1	0	ano	22	1/3	NA	0	7	pánev	DOD
13	65		SCC	1b2	MIC	ano	45	3/3	C2	KombRT	21	distant	DOD
14	30		SCC	1b1	0	0	26	2/3	C1	0	17	pánev	NED
15	32	Cone	A	1b1	0	0	13	1/3	NA	0	11	komb	DOD
16	43		SCC	1b1	0	ano	23	1/3	C2	0	14	komb	DOD
17	29	Cone	SCC	1b1	0	0	25	3/3	NA	0	6	pánev	DOD
18	42		SCC	1b1	0	ano	30	2/3	C2	0	7	komb	DOD
19	34		SCC	1b2	MIC	ano	68	3/3	C2	CHRT	3	komb	DOD
20	44		A	1b1	MAC	ano	25	2/3	C2	CHRT	6	distant	DOD
21	61		SCC	2b	MAC	ano	25	2/3	C2	KombRT	2	komb	DOD
22	50		SCC	2b	MIC	ano	32	3/3	C2	CHRT	26	komb	DOD

A=adenokarcinom, ART=abdominální radikální trachelektomie, DFI= interval bez příznaků nemoci, DOD=zemřela v souvislosti s onemocněním, DSI=hĺoubka stromální invaze, FST=fertilitu záchovná léčba, CHRT= konkomitantní chemoradioterapie, ITC=izolované nádorové buňky, Komb=kombinovaná recidiva (pánevní plus vzdálená), KombRT=kombinovaná radioterapie, LVSI=lymfovasikulární invaze, MAC=makrometastáza, MIC=mikrometastáza, NA=není aplikováno, NED=bez známek nemoci, SCC=dlaždicobuněčný karcinom

Jen u jedné pacientky s postižením z kategorie ITC ze všech jedenácti uzlinově pozitivních, které neabsolvovaly adjuvantní léčbu, se objevila v průběhu sledování recidiva. Pacientka s recidivou, v tabulce pod č.17, zemřela v důsledku progresu primárního onemocnění, byla primárně diagnostikována s 25 mm karcinomem s hlubokou stromální invazí nádoru (3/3, TFD=0 mm), uzlinově negativní, po fertilitě záchovné konizaci. Vyvinula pánevní recidivu a odmítla navrhovanou radikální operaci nebo definitivní radioterapii.

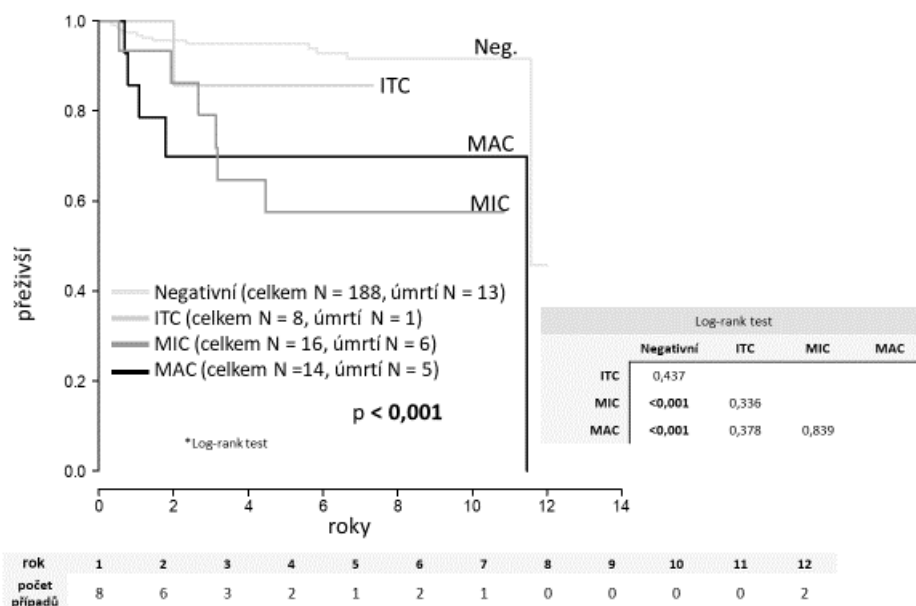
Přežití bez nemoci (DFS) v celé kohortě dosáhlo 90 %, 93 % v uzlinově negativní populaci, 89 % u pacientek s MAC, 69 % s MIC a 87 % s ITC. Přežití bez nemoci bylo signifikantně zkráceno u pacientek s detekovanou MAC (p=0,037) a MIC (p=0,001) ve srovnání s uzlinově negativními případy, jak dokládá graf 1.

Graf 1: Přežití bez nemoci (DFS) pro jednotlivé typy uzlinového postižení (MAC, MIC, ITC)



Celkové přežití bylo obdobně významně zkráceno ve skupině s MAC ($p < 0,001$) a MIC ($p < 0,001$) ve srovnání s uzlinově negativní kohortou. Zkrácené přežití demonstruje graf 2.

Graf 2: Celkové přežití (OS) pro jednotlivé typy uzlinového postižení (MAC, MIC, ITC)



Parametry celkového přežití ($p=0,839$) i přežití bez nemoci ($p=0,717$) byly srovnatelné u pacientek s výskytem MAC a MIC.

Z univariační analýzy vyplynuly statisticky významné parametry pro zvýšené riziko recidivy: adenoskvamózní karcinom ($HR=5,08$; $p=0,032$), přítomnost LVSI ($HR=2,95$; $p=0,018$), počet pozitivních lymfatických uzlin ($HR=1,5$; $p=0,015$), uzlinová pozitivita (kategorie MAC nebo MIC) ($HR=4,03$; $p=0,002$), MAC ($HR=3,61$; $p=0,046$), MIC ($HR=4,62$; $p=0,004$), binarizovaná hodnota TFD s cut-off $\leq 3,5$ mm ($HR=9,0$; $p=0,033$), binarizovaná hodnota velikosti nádoru s cut-off $>33,5$ mm ($HR=2,56$; $p=0,029$), adjuvantní terapie ($HR=3,46$; $p=0,005$). Souhrně jsou uvedené v tabulce 4.

Tab. 4: Parametry signifikantní pro riziko recidivy (univariační analýza)

parametr		celkový počet (počet recidív)	HR (95% CI)	p ¹
histologický typ nádoru	dlaždicobuněčný	171 (15)	ref.	
	adenokarcinom	49 (5)	1,19 (0,43; 3,29)	0,731
	adenoskvamózní	6 (2)	5,08 (1,15; 22,35)	0,032
LVSI	ne	128 (7)	ref.	
	ano	98 (15)	2,95 (1,20; 7,23)	0,018
pozitivní LN		226 (22)	1,50 (1,08; 2,09)	0,015
pozitivita LN, varianta A	ne	188 (13)	ref.	
	ano (ITC, MIC, MAC)	38 (9)	3,71 (1,59; 8,69)	0,003
pozitivita LN, varianta B	ITC, negativní	196 (14)	ref.	
	MAC, MIC	30 (8)	4,03 (1,69; 9,62)	0,002
pozitivita LN, varianta C	negativní	188 (13)	ref.	
	ITC	8 (1)	1,96 (0,26; 14,97)	0,518
	MAC	14 (3)	3,61 (1,03; 12,69)	0,046
	MIC	16 (5)	4,62 (1,65; 12,95)	0,004
minimální TFD		196 (18)	0,87 (0,74; 1,03)	0,116
TFD, binarizovaná ²	$> 3,45$ mm	65 (1)	ref.	
	$\leq 3,45$ mm	131 (17)	9,00 (1,20; 67,63)	0,033
velikost nádoru, binarizovaná ²	$\leq 33,5$ mm	151 (10)	ref.	
	$> 33,5$ mm	75 (12)	2,56 (1,10; 5,94)	0,029
adjuvantní léčba	ne	194 (14)	ref.	
	ano	32 (8)	3,46 (1,45; 8,25)	0,005
stádium pT	1a	15 (0)	-	-
	1b1	157 (15)	ref.	
	$\geq 1b2$	54 (7)	1,37 (0,56; 3,36)	0,491

- ¹ Poměry rizik jsou vypočteny pomocí Cox proportional hazards model

- ² cut-off získaná z ROC analýzy, kritériem byla nejvyšší hodnota součtu senzitivity a specificity

- LVSI=lymfovaskulární invaze; TFD=tumor free distance (minimální vzdálenost mezi nádorem a pericervikální fascií)

Žádný z výše uvedených parametrů nezůstal statisticky významný v provedené multivariační analýze. (Tab. 5)

Tab. 5: Multivariační model pro riziko recidivy

		OR (95% IS)	p	HR (95% IS)	p
area = 0,799; p < 0,001					
histologický typ nádoru	adenokarcinom	1,36 (0,33; 5,69)	0,670	1,24 (0,33; 4,61)	0,749
	(ref. dlaždicobuněčný)				
	adenoskvamózní (ref. dlaždicobuněčný)	7,29 (0,86; 62,07)	0,069	4,86 (1,00; 23,61)	0,050
LVI	ano (ref. ne)	2,13 (0,59; 7,74)	0,250	1,85 (0,56; 6,14)	0,318
počet pozitivních LN		0,82 (0,37; 1,82)	0,624	0,80 (0,39; 1,65)	0,546
typ LN pozitivity	MAC, MIC (ref. ITC, negativní)	3,62 (0,46; 28,51)	0,222	3,56 (0,54; 23,63)	0,188
TFD (mm), binarizována ²	≤ 3,45 (ref. > 3,45)	5,27 (0,63; 43,92)	0,125	5,25 (0,65; 42,34)	0,119
rozměr nádoru (mm), binarizován ²	> 32,5 (ref. ≤ 32,5)	0,64 (0,18; 2,25)	0,486	0,72 (0,24; 2,17)	0,554
adjuvantní terapie	ano (ref. ne)	2,45 (0,48; 12,39)	0,279	1,78 (0,37; 8,57)	0,472

Poměry rizik jsou vypočteny pomocí Cox proportional hazards model

² cut-off získaná z ROC analýzy, kritériem byla nejvyšší hodnota součtu senzitivity a specifity
LVI=lymfovaskulární invaze; TFD=tumor free distance (minimální vzdálenost mezi nádorem a pericervikální fascií)

2.1.6 Diskuze

Na této dosud největší publikované retrospektivní kohortě z jedné instituce se SLN ultrastagingem u pacientek s biopsií SLN jsme prokázali vztah přítomnosti mikrometastáz v SLN k prognóze onemocnění, riziku recidivy a zkráceného celkového přežití.

Většina publikovaných dat se věnuje pouze prevalenci MIC a významu SLN u karcinomu děložního hrdla [24, 35-38], někteří autoři hovoří o prognóze jen ve spojení MIC s jinými tradičními rizikovými faktory, jako velikostí nádoru a přítomností lymfovaskulární invaze [39-41]. Dosud publikované studie věnující se tomuto tématu včetně vlivu MIC na prognózu jsou uvedeny v tabulce 6.

Tab. 6: Přehled publikací o prognostickém významu mikrometastáz

Autor (rok)	N	Stádium	Typ nádoru	SLNB	Adj. T (%)	mF/U (m)	LN pozitivita				Četnost recidiv (RecR)					Vliv MIC na prognózu	
							%N1	%ITC	%MIC	%MAC	Všechny	N0	N1*	ITC	MIC		MAC
Juretzka (2004)	49	IA2-IB2	SCC,A, AS, UD	ne	22	39	8% (4/49)	n/a	8% (4/49)	n/a	10% (5/49)	6.7% (3/45)	4% (2/49)	n/a	50% (2/4)	n/a	↑RecR
Marchiole (2005)	52 (292)	IB1-IB	SCC,A	ne	15	122	n/a	11.5% (6/52)	23% (12/52)	n/a	8,9% (26/292)	n/a	n/a	n/a	21% (11/52)	n/a	↑RecR (RR = 2.44 (95% CI 1.58-3.78))
Fregnani (2006)	289	IB-IIA	SCC,A	ne	13	102	17% (48/289)	2% (5/289)	2% (6/289)	13% (37/289)	14.9% (43/289)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	↑RecR (RR N1mic = 3.2 (95% CI 1.1 - 9.6)), ↓5y DFS (88.7% N0, 50% N1mic)
Horn (2008)	894	IB-IB	SCC,A	ne	31	82	31.4% (281/894)	n/a	6,5% (59/894)	23% (207/894)	17.8% (135/894)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	↓5y DFS (91,4% for pN0, 69% pN1mic), ↓5y OS (86,6% pN0, 63,8% pN1mic)
Cibula (2012)	645	IA-IB	SCC,A,A S	ano	33	40	29.3% (189/645)	4.5% (29/645)	10.1% (65/645)	14.7% (95/645)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	↓OS (HR = 6.86 (95% CI 2.09-22.61)), →DFS
Colturato (2015)	83	IB1-IIA	SCC,A,A S	ne	0	60	n/a	7% (6/83) [#]	n/a	n/a	18% (15/83)	18% (15/83)	n/a	27% (4/15) [#]	n/a	n/a	↑RecR (OR = 11.73 (95% CI 1.57-87.8))
Stany (2015)	129	IA2-IB2	SCC,A,A S	ne	23	70	n/a	20%(26/129) [#]	n/a	n/a	8,5% (11/129)	n/a	n/a	18%(2/11) [#]	n/a	n/a	→3y DFS
Guani (2019)	139	IA-IB1	SCC,A,A S	ano	19	36	15% (21/139)	4.3% (6/139)	5.7% (8/139)	5.7% (8/139)	10% (13/139)	9% (11/118)	10% (2/21)	0% (0/6)	14% (1/7)	12.5% (1/8)	→3y DFS
Tato studie (2020)	226	IA-IB	SCC,A,A S	ano	14	65	17% (38/226)	3.5% (8/226)	7% (16/226)	6% (14/226)	10% (22/226)	7% (13/188)	24% (9/38)	12.5% (1/8)	31% (3/14)	21% (12.95%)	↓DFS (HR = 4.62 (95% CI 1.65-12.95)), ↓OS

→ bez vlivu, ↑ zvyšuje, ↓ - snižuje, A- adenokarcinom, Adj. T - adjuvantní léčba, AS - adenoskvamózní, CI - interval spolehlivosti, DFS - přežití bez nemoci, mF/U - medián dispenzarizace (follow-up), HR - poměr rizik, LN - lymfatická uzlina, N0 - uzlinově negativní, N1 -

uzlinově pozitivní, ITC – izolované nádorové buňky, m - měsíce, MAC - makrometastáza, MIC - mikrometastáza, N - počet, OR – poměr šancí, OS – celkové přežití, RecR – četnost recidiv, RR – relativní riziko, SCC – dlaždicobuněčný karcinom, SLNB – biopsie sentinelové uzliny, UD - nediferencovaný

*MAC/MIC/ITC

#MIC + ITC

Část z nich prokázala negativní význam MIC pomocí retroaktivního vyšetření během operace odebraných lymfatických uzlin a dodatečné detekce MIC event. pomocí retrospektivní kontroly výsledků histologie s dostupnými parametry o přežití (Marchiole, 2005; Fregnani, 2006; Horn, 2008; Colturato, 2016) [39, 42-44]. Jiná ze studií, založená na obdobném principu zpětného histologického vyšetření uzlin, nepotvrdila negativní vliv MIC na prognózu (Stany, 2015). Významná část pacientek s MIC zde však absolvovala adjuvantní radioterapii ve srovnání s uzlinově negativní skupinou, což mohlo výsledky takto ovlivnit [45].

Biopsie SLN byla součástí protokolu jen u dvou publikovaných studií (Cibula 2012; Guani 2019). V retrospektivní multicentrické kohortě 645 pacientek (Cibula, 2012) byla MAC i MIC spojena se zkráceným celkovým přežitím, HR(MAC)=6,85(95% CI:2,59-18,05) a HR(MIC)=6,86 (95% CI:2,09-22,61) [30].

Recentně byla s ohledem na možný výskyt a prognostický význam MIC a ITC analyzována proběhlá prospektivní francouzské studie SENTICOL1 (Guani,2019) [46]. Všechny lymfatické uzliny od celkem 139 do studie zařazených pacientek byly centrálně dodatečně histologicky vyšetřeny pomocí ultrastagingu právě na přítomnost MIC a ITC. Protokol použitého ultrastagingu není v publikaci v úplnosti popsán. Histologické vyšetření proběhlo 3 měsíce od operace, jeho výsledek neměl tak na další management pacientek žádný vliv. Autoři detekovali 25 (18 %) uzlinově pozitivních případů, z nich u osmi pouze MIC a u osmi pouze ITC. Jen 13 (9 %) pacientek během sledování s mediánem 38 měsíců vyvinulo recidivu a pouze dvě s postižením SLN (jeden případ MAC a jeden MIC). Pouze u jedné pacientky s MIC byla v průběhu tříletého sledování diagnostikována recidiva. Z této ad hoc analýzy studie Senticol 1 vyplynulo, že přítomnost MIC ani ITC v SLN u dále neléčených pacientek neměla vliv na jejich tříleté přežití bez známek nemoci (Guani,2019) [46]. Pro úplnost je nutno uvést, že protokol studie nebyl navržen s tímto cílem a že ani přítomnost MAC nezvyšovala riziko recidivy.

Důvody pro rozdílné výsledky jsou následující. Riziko recidivy u pacientek s časným karcinome děložního hrdla je po primární léčbě nízké, cca 10%. K prokázání vlivu MIC na prognózu je nutná obrovská kohorta pacientek. I v našem největším dosud publikovaném souboru 226 pacientek jsme diagnostikovali v průběhu pětiletého sledování jen 22 (10 %) recidiv. Absence jednotného protokolu pro definitivní vyšetření SLN stojí za rozdílným zachytem MIC [29]. Pouze dva autoři (Cibula 2012, Guani 2019) aplikovali protokol pro ultrastaging [30, 46]. Je rozdílná i metodika uvedených studií, zatímco někde prospektivně vyšetřily imunohistochemicky SLN a nesentinelové pánevní uzliny byly barveny hematoxylinem a eozinem, tak jinde retroaktivně vyšetřili všechny pánevní uzliny imunohistochemicky a to jen u primárně uzlinově negativních případů. Jedná se o různé veliké kohorty s rozdílným zastoupením stádií onemocnění. Různě veliké populace pacientek absolvovali po primární chirurgické léčbě adjuvantní radioterapii (0-33 %), jen u dvou je uvedeno, kolik pacientek s MIC absolvovalo adjuvantní radioterapii.

Počty případů s uzlinovým postižením se v souborech liší v závislosti na rozdílném výběru pacientek vhodných k primární chirurgické léčbě a pohybují se v rozmezí 7-20 % [2, 19, 30, 47-53]. V našem souboru jsme zaznamenali 6 % pacientek s makrometastázou. Jedná se o nízkou hodnotu s ohledem na celé spektrum časných stádií a 24% nádorů větších než 4 cm. Možným vysvětlením nízkého počtu SLN pozitivních případů je v našem centru aplikována intraoperační triáž pacientek. Pacientky s MAC a MIC, které jsou detekovány intraoperačně jsou referovány k definitivní chemoradioterapii, tyto případy nebyly do naší analýzy zařazeny.

Silnými stránkami naší studie je neměnný management pacientek v průběhu studie a velikost souboru. Naše práce prezentovala dosud největší publikovaný soubor, věnující se vlivu MIC na onkologickou prognózu. Kvalitu dat zaručuje použitý intenzivní protokol zpracování SLN pomocí ultrastagingu. Jen 16 % pacientek po operaci podstoupilo adjuvantní terapii. Poměr pacientek s MAC a MIC, které podstoupily adjuvantní léčbu, byl identický. Rozdílný pooperační management neměl na výsledek negativní vliv.

Hlavní limitací práce je malé množství diagnostikovaných recidiv a malé množství pacientek s MIC. Prognóza po primární chirurgické léčbě je u časných stádií karcinomu děložního hrdla výborná a prevalence MIC jen nízká. K získání prospektivní evidence o vlivu MIC na přežití by bylo nutné zařadit tisíce pacientek s časným stádiem karcinomu děložního hrdla. Obdobné závěry platí i pro ITC, jejichž prevalence bude vždy jen relativní. Protokol pro ultrastaging nebude nikdy natolik intenzivní, aby zachytil všechny případy s ITC [27, 30, 50, 54].

2.1.7 Závěr 1

Mikrometastáza v SLN je nezávislým negativním prognostickým faktorem. Pacientky s detekovanou MIC měly v naší práci horší zkrácené přežití bez nemoci a celkového přežití, a to nejen vůči uzlinově negativním pacientkám.

Přežití bez nemoci s mediánem sledování 65 měsíců dosáhlo 90 % v celé kohortě, 89 % u pacientek s MAC, 87 % u případů s ITC, ale jen 67 % u pacientek s detekovanou MIC.

Podrobné histologické vyšetření SLN pomocí protokolu pro ultrastaging zachytí navíc 10 % případů s MIC, které by byly jinak při vyšetření přehlédnuty se všemi negativními důsledky. Na pacientky s MIC musí být nahlíženo v klinickém managementu identicky jako na pacientky s MAC. Vyšetření SLN pomocí ultrastagingu by proto mělo být zavedeno do rutinní praxe.

2.2 Lymfatické mapování a úspěšnost detekce sentinelové uzliny

2.2.1 Cíl

Cílem projektu bylo získání dat o úspěšnosti detekce SLN, jejich anatomicko-topografické lokalizaci a současně identifikovat a ověřit faktory, které jejich detekci ovlivňují. K analýze byly využity výsledky z prospektivní multicentrické studie Sentix (NCT02494063, CEEGOG CX-01, ENGOT-Cx2).

Jedná se o observační akademickou studii, jejíž cílem je změna mezinárodní klinické praxe. Jedná se o první prospektivní studii, která ověřuje onkologickou bezpečnost samostatné biopsie sentinelové uzliny bez provedené systematické pánevní lymfadenektomie, současně se zabývá pooperační morbiditou spojenou s méně radikální operací, výskytu lymfedému a symptomatických lymfocyst u pacientek s časnými stádii karcinomu děložního hrdla léčených primárně chirurgicky s kurativním záměrem.

Hlavním investigátorem a autorem protokolu je prof. Cibula, předkladatel této práce se od počátku studie účastní jako investigátor a spoluřešitel grantů AZV ČR (16-31643A, NV19-03-00023).

Studie probíhá od roku 2016 v celkem v 47 centrech z 18 zemí Evropy, z Jižní Afriky a Jižní Ameriky. V říjnu 2020 byl ukončen náběr všech plánovaných 733 pacientek (600 pacientek léčených dle protokolu). Finální data o přežití pacientek a o výskytu recidiv po biopsii SLN (primární cíl studie) budou k dispozici na konci roku 2022. V této kapitole diskutujeme již publikované výsledky některých sekundárních cílů, úspěšnost detekce a sensitivitu intraoperačního vyšetření SLN.

2.2.2 Hypotéza

Technika biopsie SLN byla postupně implementována do léčby většiny gynekologických zhoubných nádorů, karcinomu vulvy, endometria i hrdla děložního. Je pevnou součástí aktuálně platných mezinárodních doporučených postupů v léčbě karcinomu děložního hrdla (ESGO-ESTRO-ESP a NCCN doporučené postupy) [13, 14]. Děložní hrdlo je centrálně uložený pánevní orgán. Oboustranná biopsie SLN je optimální k dosažení nejvyšší možné sensitivity pro finální stav lymfatických uzlin.

V literatuře se oboustranná úspěšnost detekce SLN pohybuje v rozmezí od 55 % do 100 % a to v závislosti na použité technice, velikosti kohorty, designu studie a období, kdy byly výsledky publikovány. Vyšší úspěšnost oboustranné detekce přesahující 90 % byla publikována ze zkušených center a při použití indocyaninové zeleně jako detekční látky.

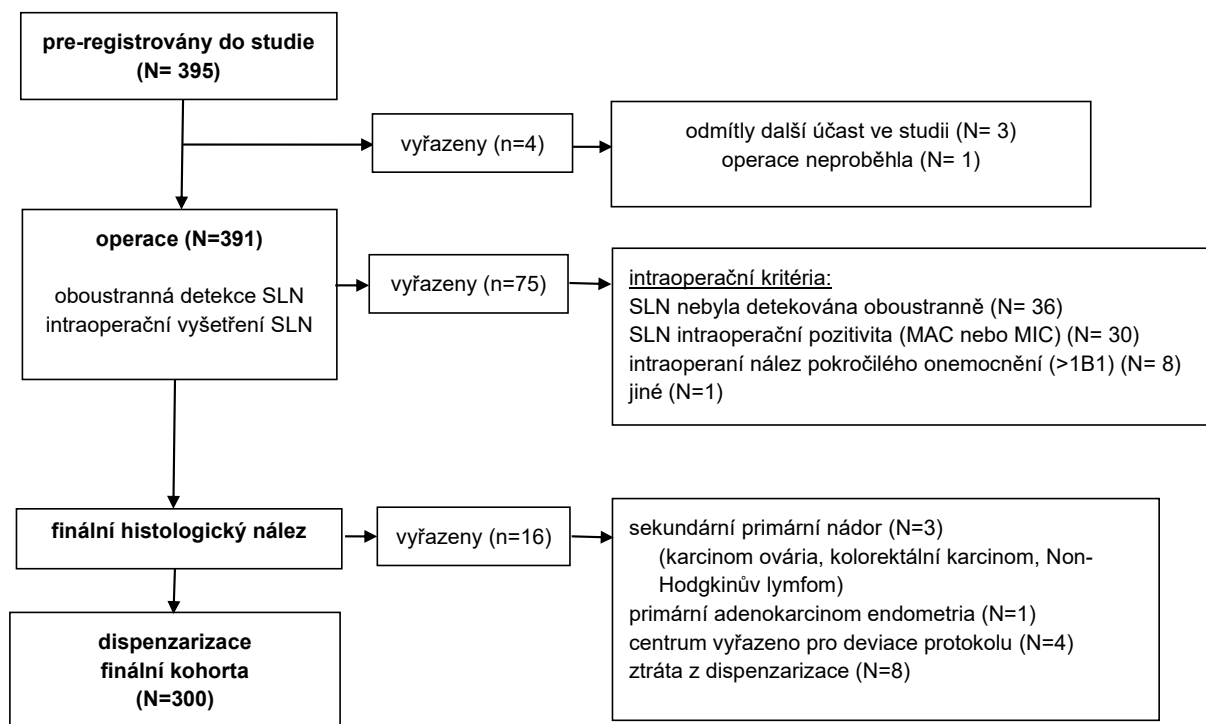
Faktory, které dle publikovaných dat ovlivňují detekci SLN jsou velikost nádoru, zvolený chirurgický přístup (miniinvazivní vs. otevřený), podání neoadjuvantní chemoterapie, přítomnost lymfovaskulární invaze, index tělesné hmotnosti a věk pacientky.

SLN jsou u karcinomu děložního hrdla nejčastěji lokalizovány v pánvi. V atypické lokalizaci jsou detekovány s frekvencí 0-20 %, v paraaortální oblasti maximálně do 5 % případů. Některé studie však definují pánevní oblast kolem společných ilických cév a presakrální oblast za lokalizaci atypickou.

2.2.3 Metodika

Lymfatické mapování SLN jsme analyzovali na finální kohortě 300 pacientek léčených dle protokolu studie Sentix. Vyřazeny byly všechny případy s neúspěšnou oboustrannou detekcí SLN, s intraoperační pozitivitou SLN (přítomnost MAC nebo MIC) nebo s nálezem více pokročilého onemocnění. Po získání definitivní histologie byly vyřazeny případy s duplicitním

nádorem a případy s odlišným primárním nádorem (adenokarcinom endometria). Finální kohorta byla dále očištěna o případy z centra vyřazeného pro závažné deviace protokolu. Do analýzy nebyly zahrnuty pacientky, se kterými jsme časně po operaci ztratili kontakt a které se nedostavily k další naplánované dispenzární péči. Výběr finální kohorty pacientky je graficky vysvětlen na obrázku 3.



Obr. 3: Výběr finální kohorty pacientek pro analýzu lymfatického mapování SLN

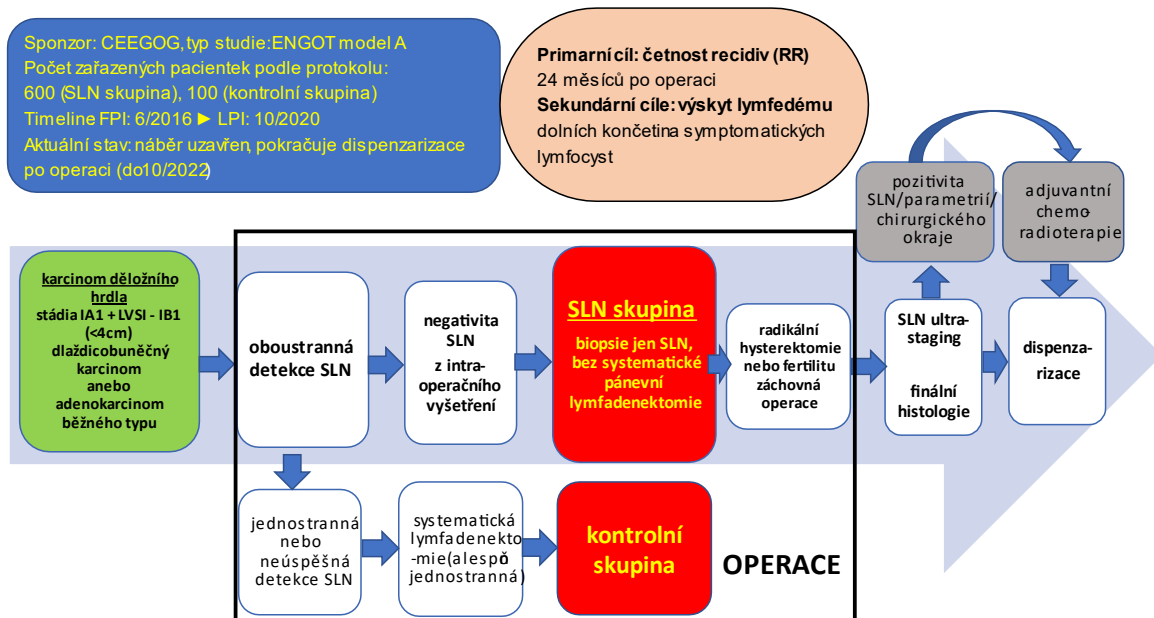
Podmínkou účasti centra ve studii Sentix byla předchozí zkušenost s technikou detekce SLN (minimálně 10 výkonů s biopsií SLN ročně a alespoň 15 případů s úspěšnou detekcí SLN, zázemí patologie s dostupným ultrastagingem SLN). Publikace věnující se protokolu studie Sentix je příloha [55].

Mezi hlavní přednosti designu studie Sentix patří centrální kontrola histologického zpracování SLN (centra mají povinnost odeslat exstirpované SLN do Prahy ke kontrole dodržení protokolu pro ultrastaging), možnost využití jak otevřeného, tak mini-invazivního (laparoskopického, robotického) chirurgického přístupu při dodržení pravidel onkologicky bezpečného operování a volnost výběru detekční látky.

K detekci SLN byla protokolem povolena patentní modř, radiokoloid, indocyaninová zeleň a preferenčně kombinace detekčních látek. Pacientky, u kterých nebyly intraoperačně SLN detekovány oboustranně, byly ze studie vyřazeny a dále léčeny mimo protokol dle lokálních zvyklostí centra. Pro popis lokalizace SLN je pánev rozdělena na sedm anatomických oblastí, které byly popsány v teoretickém úvodu. Distribuce SLN byla analyzována samostatně pro pánevní úroveň I a úroveň II.

Mezi předoperační vstupní kritéria studie Sentix patřila: diagnóza karcinomu děložního hrdla ve stádiích IA1+LVSI, IA2, IB1 (≤ 4 cm) podle FIGO 2009 klasifikace, běžné histologické typy (dlaždicobuněčný karcinom, HPV asociovaný adenokarcinom), absence zvětšených nebo suspektních lymfatických uzlin či vzdáleného rozsevu onemocnění z provedených předoperačních zobrazovacích vyšetření, kandidátky vhodné k primární

radikální operaci s nádorem ≤ 4 cm event. < 2 cm v případě plánovaného fertilitu záchovného výkonu. Mezi intraoperační vstupní kritéria patřila úspěšná oboustranná detekce sentinelové uzliny, negativita sentinelové uzliny z intraoperačního histologického vyšetření a absence známek pokročilého onemocnění $> \text{IB1}$ (FIGO 2009).



Obr. 4: Schéma studie SENTIX

2.2.4 Statistická analýza dat

K analýze dat byly použity metody deskriptivní statistiky, absolutní a relativní četnosti jednotlivých veličin, medián doplněný percentilovým rozpětím od 5.-95. percentilu pro spojitě proměnné. Ke zhodnocení významnosti rozdílů mezi jednotlivými veličinami byl použit Fisherův exaktní test. K určení faktorů, které mohly ovlivnit hladinu úspěšnosti detekce SLN byla použita logistická regrese. K výpočtům multivariačního modelu pak metody postupné regrese. Celková prediktivní síla modelu byla získána pomocí ROC analýzy (AUC s 95% CI). Zvolená hladina statistické významnosti oboustranného testu $\alpha=0,5$. Statistická analýza byla provedena pomocí SPSS 25.0.0.1 (IBM Corporation 2018). Studie je registrována na ClinicalTrials.gov (NCT024940063).

2.2.5 Výsledky

Základní charakteristika pacientek, u kterých byla provedena biopsie SLN (N=391) je uvedena v tabulce 7. Většina měla nádor ve stádiu FIGO IB1 (N=342; 88 %), velikosti ≤ 2 cm (N=256; 65,5 %) a dlaždicobuněčný karcinom (N=277; 71 %). U větší části (N=270; 69 %) byla SLN odstraněna mini-invazivním přístupem, tzn. laparoskopicky nebo roboticky.

Ve studii bylo dosaženo 91 % úspěšnosti oboustranné detekce SLN (N=355) a to s použitím následujících detekčních látek: kombinace patentní modři a radiokoloidu (N=141; 36,1 %), patentní modři (N=58; 15 %) a indocyaninové zeleně (N=59; 15 %). U jedné pacientky byly odebrány 3 (medián) SLN. (Tab. 8)

Tab. 7: Základní charakteristika pacientek (N=391)

parametry		Hodnoty
počet pacientek registrovaných v jednom centru (kategorie)	≤ 10	150 (38,4 %)
	11-20	89 (22,8 %)
	>20	152 (38,9 %)
věk		43 (29; 69)
věkové kategorie	≤ 40	153 (39,1 %)
	41-60	180 (46,0 %)
	>60	58 (14,8 %)
BMI (kg/m ²)		24,6 (18,7; 36,1)
BMI kategorie (kg/m ²)	≤ 25	218 (55,8 %)
	26-30	91 (23,3 %)
	>30	82 (21,0 %)
ECOG Performance Status	0	373 (95,4 %)
	1	18 (4,6 %)
diagnostický výkon		
biopsie		178 (45,5 %)
Konizace		219 (56,0 %)
FIGO stádium (předoperační)	IA1+LVSI	19 (4,9 %)
	1A2	30 (7,7 %)
	1B1	342 (87,5 %)
grading	G1	88 (22,5 %)
	G2	216 (55,2 %)
	G3	83 (21,2 %)
	neuveveno	4 (1,0 %)
histologický typ nádoru	dlaždicobuněčný karcinom	277 (70,8 %)
	adenokarcinom	105 (26,9 %)
	adenoskvamózní karcinom	9 (2,3 %)
rozměr nádoru (předoperační zobrazovací vyšetření)	≤ 2 cm	256 (65,5 %)
	> 2 cm	134 (34,3 %)
	neuveveno	1 (0,3 %)
chirurgický přístup	laparotomie	121 (30,9 %)
	laparoskopie	169 (43,2 %)
	robotický	26 (6,6 %)
	vaginálně laparoskopický	74 (18,9 %)
LVSI (N = 377)	ano	120 (31,8 %)
	ne	251 (66,6 %)
	neuveveno	6 (1,6 %)

Hodnoty představují počet pacientek (%) nebo medián (5.-95. percentil).

Tab. 8: Detekce sentinelové uzliny (N=391)

parametry		hodnoty
detekce SLN	žádná nebo jednostranná	36 (9,2 %)
	oboustranná	355 (90,8 %)
metoda detekce	neuvedena	2 (0,5 %)
	BD	58 (14,8 %)
	RC	14 (3,6 %)
	ICG	59 (15,1 %)
	BD+RC	141 (36,1 %)
	BD+ICG	51 (13,0 %)
	RC+ICG	36 (9,2 %)
	BD+RC+ICG	30 (7,7 %)
počet SLN na pacientku (N = 377)	0	10 (2,7 %)
	1	6 (1,6 %)
	2	121 (32,1 %)
	3	85 (22,5 %)
	4	52 (13,8 %)
	>4	103 (27,6 %)
počet SLN na pacientku (medián) (N = 377)		3 (2; 12)
počet pacientek s pozitivitou SLN (N = 377)	celkem	61 (16,4 %)
	SLN oboustranně	58 (15,4 %)
	SLN jednostranně	3 (0,8 %)
počet pozitivní SLN (N = 377)	0	316 (83,8 %)
	1	46 (12,2 %)
	2	11 (2,9 %)
	3	4 (1,1 %)

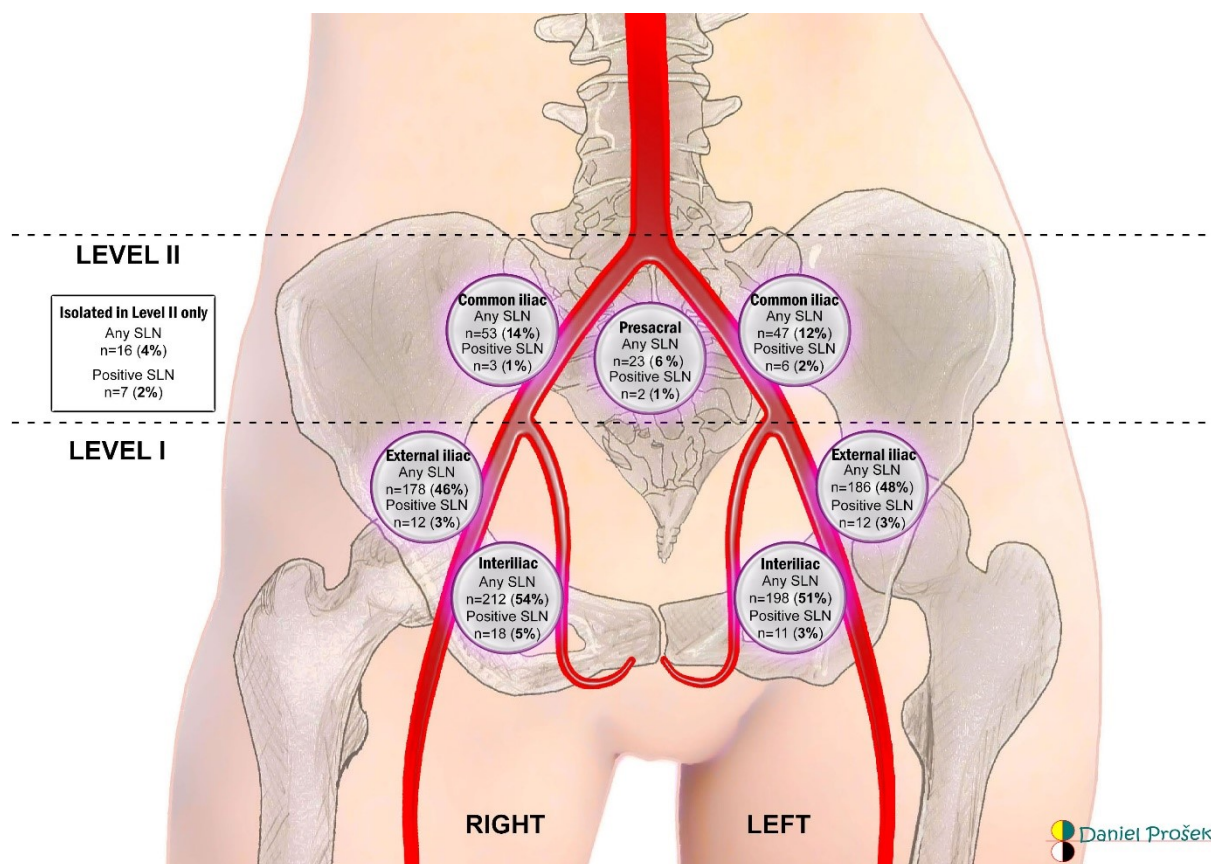
Detekční látky: BD – patentní modř, RC – radiokoloid, ICG – indocyaninová zeleň.
Hodnoty jsou uvedeny jako počet pacientek (%) nebo medián (5.-95. percentil).

Většina SLN (N=351; 90 %) byla detekována v pánevní úrovni I (oblast externích ilických cév a interilická oblast).

Pravděpodobnost izolované detekce SLN v pánevní úrovni II (nad interilickou bifurkací) byla velmi nízká (N=16; 4 %) a pravděpodobnost izolované detekce pozitivních SLN v pánevní úrovni II ještě nižší (N=7; 2 %). Nebyly zjištěny stranové rozdíly (pravá x levá) v distribuci SLN a pozitivních SLN v pánvi. Anatomická distribuce SLN je uvedena v tabulce 9 a na obrázku 5.

Tab. 9: Distribuce SLN v pánevních úrovních I a II (N=391)

lokalizace SLN	N (%)
SLN úroveň I	351 (89,8 %)
SLN úroveň II	85 (21,7 %)
SLN pouze úroveň I	282 (72,1 %)
SLN pouze úroveň II	16 (4,1 %)
pozitivní SLN úroveň I	54 (13,8 %)
pozitivní SLN úroveň II	10 (2,6 %)
pozitivní SLN pouze úroveň I	51 (13,0 %)
pozitivní SLN pouze úroveň II	7 (1,8 %)



Obr. 5: Anatomická distribuce SLN

Z univariační analýzy byly identifikovány celkem čtyři faktory ovlivňující úspěšnost oboustrannou detekce SLN. Jednalo se o užití indocyaninové zeleně, věk pacientky, zvolený chirurgický přístup a celkový počet centrem registrovaných pacientek. (Tab. 10) Z multivariační analýzy zůstaly signifikantní dva faktory, tzn. věk pacientky a celkový počet centrem registrovaných pacientek. (Tab. 11)

Úspěšnost oboustranné detekce SLN nebyla ovlivněna velikostí nádoru, BMI pacientky ani stádiem onemocnění. Úspěšnost detekce byla prokazatelně nižší u pacientek starších 60 let a v centrech s nižším počtem (≤ 10) pacientek zařazených do studie.

Tab. 10: Faktory ovlivňující oboustrannou detekci SLN (N=391)

parametr		detekce SLN		OR (95% CI)	p
		bilaterální	unilaterální/bez detekce		
technika – BD	ne	101 (91,0 %)	10 (9,0 %)	reference	
	ano	254 (90,7 %)	26 (9,3 %)	1,034 (0,481; 2,222)	0,932
technika – RC	ne	152 (89,4 %)	18 (10,6 %)	1,336 (0,672; 2,653)	0,409
	ano	203 (91,9 %)	18 (8,1 %)	reference	
technika – ICG	ne	189 (87,9 %)	26 (12,1 %)	2,284 (1,070; 4,876)	0,033
	ano	166 (94,3 %)	10 (5,7 %)	reference	
počet centrem registrovaných pacientek	≤ 10	129 (86,0 %)	21 (14,0 %)	6,023 (2,015; 18,005)	0,001
	11-20	78 (87,6 %)	11 (12,4 %)	1,266 (1,609; 16,926)	0,006

věk	>20	148 (97,4 %)	4 (2,6 %)	reference	
	≤ 40	147 (96,1 %)	6 (3,9 %)	reference	
	41-60	167 (92,8 %)	13 (7,2 %)	1,907 (0,707; 5,145)	0,202
	>60	41 (70,7 %)	17 (29,3 %)	10,159 (3,763; 27,421)	<0,001
BMI	≤ 25	202 (92,7 %)	16 (7,3 %)	reference	
	26-30	79 (86,8 %)	12 (13,2 %)	1,918 (0,868; 4,236)	0,107
	>30	74 (90,2 %)	8 (9,8 %)	1,365 (0,561; 3,322)	0,493
ECOG Performance Status	0	340 (91,2 %)	33 (8,8 %)	reference	
	1	15 (83,3 %)	3 (16,7 %)	2,061 (0,567; 7,486)	0,272
laparotomie	ne	245 (93,2 %)	18 (6,8 %)	reference	
	ano	110 (85,9 %)	18 (14,1 %)	2,227 (1,116; 4,445)	0,023
velikost nádoru	≤ 2 cm	235 (91,8 %)	21 (8,2 %)	reference	
	> 2 cm	119 (88,8 %)	15 (11,2 %)	1,411 (0,702; 2,836)	0,334
histologický typ	SCC	250 (90,3 %)	27 (9,7 %)	reference	
	AC	98 (93,3 %)	7 (6,7 %)	0,661 (0,279; 1,568)	0,348
	AS	7 (77,8 %)	2 (22,2 %)	2,646 (0,523; 13,379)	0,239
LVSI	ano	114 (95,0 %)	6 (5,0 %)	reference	
	ne	230 (91,6 %)	21 (8,4 %)	1,735 (0,681; 4,417)	0,248

AC – adenokarcinom, AS – adenoskvamózní karcinom, BD – patentní modř, ICG – indocyaninová zeleň, LVSI – lymfovaskulární invaze, RC – radiokoloid, SCC – dlaždicobuněčný karcinom

Tab. 11: Faktory ovlivňujících oboustrannou detekci SLN (multivariační analýza)

		OR (95% CI)	p
Model 1; celkem N = 391 (SLN bilat. detekce = 36) – ROC (Area = 0,783; p < 0,001)			
detekce RC	ne (ref. ano)	2,682 (1,202; 5,985)	0,016
detekce ICG	ne (ref. ano)	2,646 (1,133; 6,183)	0,025
věk	41–60 (ref. ≤ 40)	1,913 (0,699; 5,229)	<0,001
	>60 (ref. ≤ 40)	11,369 (4,039; 31,998)	<0,001
Model 2A; celkem N = 391 (SLN bilat. detekce = 36) – ROC (Area = 0,787; p < 0,001)			
detekce ICG	ne (ref. ano)	2,165 (0,871; 5,381)	0,096
počet pacientek v centru	≤ 10 (ref. >20)	6,332 (1,943; 20,638)	0,002
	11–20 (ref. >20)	4,478 (1,321; 15,180)	0,016
věk	41–60 (ref. ≤ 40)	1,511 (0,548; 4,170)	0,425
	>60 (ref. ≤ 40)	8,379 (2,952; 23,784)	<0,001
laparotomie	ne (ref. ano)	1,174 (0,490; 2,814)	0,719
Model 2B; celkem N = 391 (SLN bilat. detekce = 36) – ROC (Area = 0,785; p < 0,001)			
detekce ICG	ne (ref. ano)	2,012 (0,888; 4,555)	0,094
počet pacientek v centru	≤ 10 (ref. >20)	5,958 (1,920; 18,483)	0,002
	11–20 (ref. >20)	4,437 (1,311; 15,018)	0,017
věk	41–60 (ref. ≤ 40)	1,483 (0,540; 4,069)	0,445
	>60 (ref. ≤ 40)	8,063 (2,905; 22,375)	<0,001

Nádory ≥ 2cm a přítomnost LVSI byly asociovány s vyšším rizikem detekce pozitivních SLN. (Tab. 12)

Tab. 12: Faktory ovlivňující detekci pozitivní SLN (MAC+MIC) (N=391)

parametr		pozitivní SLN		p ¹
		ne	ano	
velikost nádoru (N = 390)	≤ 2 cm	236 (92,2 %)	20 (7,8 %)	<0,001
	> 2 cm	104 (77,6 %)	30 (22,4 %)	
LVSI (N=371)	ano	90 (75,0 %)	30 (25,0 %)	<0,001
	ne	234 (93,2 %)	17 (6,8 %)	

¹ statistická významnost vyhodnocena pomocí Fisherova exaktního testu

2.2.6 Diskuze

Dosáhli jsme 91 % úspěšnosti oboustranné detekce SLN (DR). Jedná se o nejvyšší dosaženou úspěšnost prezentovanou v multicentrické studii. Možným vysvětlením je cílená selekce center se zkušeností s technikou biopsie SLN. Pro selhání lymfatického mapování bylo ze souboru během operace vyřazeno 9% pacientek, u nichž nebyla SLN nalezena, nebo byla detekována jen jednostranně.

Úspěšnost oboustranné detekce SLN je v literatuře udávána v rozmezí 60-90 % [50], v závislosti na stáří a typu studie, použité technice detekce a velikosti souboru. Lepších výsledků dosahují centra s větší zkušeností s technikou lymfatického mapování. Starší práce udávají nižší úspěšnost detekce, a to zejména u větších nádorů [56].

Někteří autoři (Balaya 2020, Zarganis 2009) popsali řadu faktorů, které negativně ovlivňují úspěšnost detekce. Uvádějí vyšší BMI pacientky, vyšší věk a malou zkušenost centra s technikou výkonu, dále přítomnost lymfovaskulární invaze a podání neoadjuvantní chemoterapie [57, 58]. S adekvátním zvládnutím operační techniky biopsie se v recentních studiích nepotvrdily rozdíly v úspěšnosti detekce u větších nádorů [20].

Na jiné, retrospektivní kohortě 350 pacientek z našeho centra jsme prokázali vysokou bilaterální úspěšnost detekce SLN, srovnatelnou pro různě veliké nádory (oboustranná DR 79 %, 83 % a 76 % pro nádory <2 cm, 2-3,9 cm a >4 cm (p =0,460)) [20].

Ve francouzské prospektivní studii Senticol se 145 nádory do 4 cm bylo dosaženo 76,5 % bilaterální úspěšnosti detekce SLN. Autoři výsledek zdůvodnili výběrem menších nádorů, dobrou zkušeností s technikou biopsie, využitím předoperační lymfoscintigrafie a rutinně užívané kombinované metody značení [48]. Zlepšení techniky biopsie SLN bylo patrné z výsledků analýzy souboru 405 pacientek zařazených do dvou prospektivních francouzských studií Senticol I a Senticol II. Zatímco u starší studie Senticol I (2005-2007) byla zjištěna nižší (75%) úspěšnost oboustranné detekce SLN, tak u novější studie Senticol II (2009-2012) byla potvrzena vyšší (83,5 %) úspěšnost oboustranné detekce SLN (p=0,04) [57].

Ve studii Sentix byly povoleny všechny tři detekční látky a jejich možné kombinace (patentní modř, radiokoloid, indocyaninová zeleň). Z univariační analýzy bylo použití fluorescence spojeno s vyšší frekvencí detekce. Analyzujeme-li naši celkovou, velmi vysokou úspěšnost detekce SLN, byly rozdíly mezi detekčními látkami ve srovnání s jinými autory málo patrné [18, 59-61]. Nepotvrdili jsme lepší výsledek pro ICG, která je favorizována některými autory [59-61].

Znalost pravděpodobné lokalizace SLN je důležitá. Biopsie je spojená s rizikem komplikací jako jsou poranění velkých cév a rozvoj pooperační fibrózy při rozsáhlé disekci tukově lymfatické tkáni retroperitonea. Možné atypické umístění SLN je vzácné, v našem souboru se mimo pánev nevyskytovaly žádné SLN. Je nepravděpodobné, že by lymfatická drenáž přeskočila pánev a směřovala izolovaně do paraaortální oblasti. Atypická lokalizace SLN bývá udávána v rozmezí 2-5 % [23, 24]. To odpovídá i francouzským výsledkům, kde ve

starší publikaci bylo v paraaortální oblasti detekováno 5 %, z následné analýzy pak jen 1,5 % všech SLN [23, 25].

2.2.7 Závěr 2

V prospektivní mezinárodní multicentrické studii jsme prezentovali dosud nejvyšší úspěšnost oboustranné detekce SLN (91 %). Při detekci SLN byly použity všechny tři dostupné detekční látky a jejich možné kombinace (patentní modř, radiokoloid, indocyaninová zeleň). Výsledky jsme získali z plánované analýzy sekundárních cílů v probíhající observační studii Sentix.

Úspěšnost oboustranné detekce SLN nebyla negativně ovlivněna stádiem onemocnění, velikostí nádoru ani BMI pacientky. Nižší úspěšnost detekce SLN byla zjištěna u starších pacientek (>60) a v centrech s menším počtem pacientek zařazených do studie.

Většina SLN (90 %) byla lokalizována v pánevní úrovni I, distálně od interilické bifurkace. Detekce SLN mimo pánev nebyla zaznamenána. Izolovaně v pánevní úrovni II byly SLN detekovány vzácně, pouze ve 4 % případů, a izolované pozitivní SLN v úrovni II jen ve 2 % případů.

2.3 Sensitivita a falešná negativita intraoperačního vyšetření sentinelové uzliny

2.3.1 Cíl

Cílem práce bylo zjistit přesnost intraoperačního vyšetření SLN pro přítomnost MAC, MIC a ITC a falešnou negativitu intraoperačního vyšetření pro finální stav SLN, získaný z definitivního vyšetření pomocí patologického protokolu pro ultrastaging.

Výsledky byly získány z plánované analýzy sekundárních cílů v probíhající prospektivní multicentrické studii SENTIX (NCT02494063, CEEGOG CX-01, ENGOT-Cx2).

Mezinárodní observační studie má za cíl potvrdit onkologickou bezpečnost biopsie sentinelové uzliny bez systematické pánevní lymfadenektomie u pacientek s časným stádiem karcinomu děložního hrdla. Protokol studie Sentix byl popsán v předchozí kapitole.

2.3.2 Hypotéza

Intraoperační vyšetření SLN metodou zmrazených řezů je doporučeno pro stádia onemocnění 1B1 – 2A1 dle současně platných evropských doporučených postupů (ESGO-ESTRO-ESP) [13] s vědomím nízké sensitivity pro detekci MIC a ITC (NCCN Guidelines) [14].

Intraoperační vyšetření SLN se používá k triáži pacientek, modifikaci operačního výkonu. V případě negativního výsledku je provedena radikální hysterektomie doplněná o systematickou pánevní lymfadenektomii. V případě intraoperačně detekovaného uzlinového postižení (MAC a MIC) je od radikálního výkonu v pánvi upuštěno, je dokončen paraaortální uzlinový staging a pacientka je následně referována k primární chemoradioterapii. Triáž pacientek mezi radikální chirurgickou a primární kurativní radiační léčbou je prováděna ve snaze vyhnout se pozdní morbiditě kombinace obou modalit onkologické léčby.

Uskálím intraoperačního vyšetření SLN je detekce mikrometastáz, která je závislá na provedeném ultrastagingu. I přes veškeré úsilí je cca 10 % pacientek indikováno k adjuvantní radioterapii po radikální operaci, velká část z nich na základě detekce MIC, které byly přehlédnuty z intraoperačního vyšetření a diagnostikovány až z definitivního histologického vyšetření SLN pomocí ultrastagingu.

2.3.3 Metodika

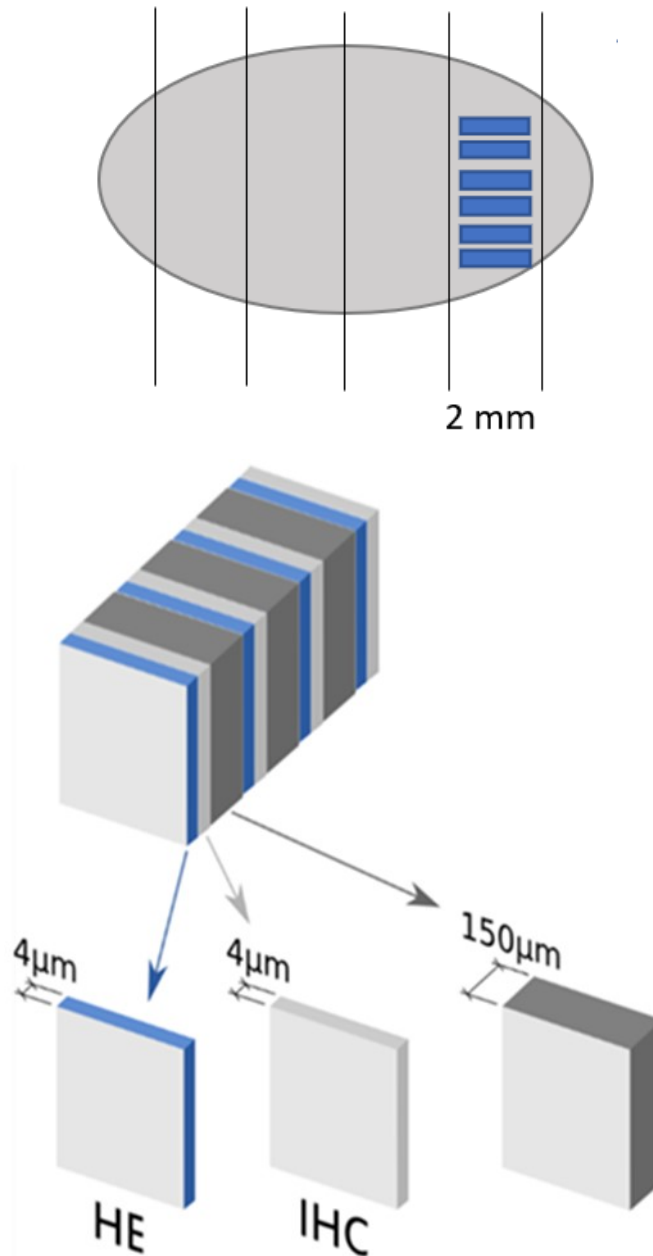
Analyzovaná kohorta pacientek i použitá metodika vychází z protokolu studie Sentix a byla detailně popsána v předchozí kapitole.

Intraoperační vyšetření SLN metodou zmrazených řezů je ve studii Sentix obligatorním vyšetřením a jen pacientky s oboustranně úspěšnou detekcí a s negativními SLN z intraoperačního vyšetření mohou ve studii pokračovat. Pacientky s detekovaným metastatickým postižením z intraoperačního vyšetření SLN (přítomnými MAC a MIC) byly ze studie vyřazeny a dále léčeny dle lokálních doporučení. Pacientky s metastatickým postižením SLN, které bylo diagnostikováno z definitivního histologického vyšetření (ultrastagingem), ve studii Sentix pokračují a jsou indikovány k zajištění adjuvantní terapie.

Intraoperační vyšetření SLN metodou zmrazených řezů spočívalo v cíleném vyšetření makroskopicky suspektní uzliny z fokusu předpokládané metastázy a nesuspektních SLN z jednoho náhodně vybraného řezu mimo místo lipomatózní atrofie. Intraoperačně byly vyšetřeny jen SLN >4 mm s ohledem na riziko ztráty materiálu při vykrojení uzliny.

SLN pak byly definitivně zpracovány pomocí Sentix protokolu pro ultrastaging. (Obr. 6) Všechny SLN byly fixovány 10 % formaldehydem. Po fixaci byly nakrájeny v 2 mm

intervalech a parafinových bloky z nich vyšetřeny vždy ve dvou ultratenkých řezech (4 μm) v 150 μm intervalech. První řez vyšetřen barvením hematoxylinem-eosinem a druhý imunohistochemicky pomocí protilátek proti cytokeratinu (AE1/AE3) a to v celkem tolika úrovních, dokud nebyla vyšetřena veškerá tkáň SLN.



Obr. 6: Protokol pro ultrastaging sentinelové uzliny

Důležitou součástí studie Sentix je centrální kontrola kvality histologického vyšetření sentinelových uzliny pomocí ultrastagingu, která garantuje onkologickou bezpečnost a kvalitu výsledků. Všechny materiál lymfatických uzlin, sklíčka, parafinové bločky a originální výsledek histologické zprávy byly od dvou náhodně vybraných pacientek z každého centra zapůjčeny a odeslány do Ústavu patologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze (centrální patologické laboratoře studie Sentix) k centrální kontrole histologického zpracování. Centra, u kterých byly zjištěny vážné a kritické deviace protokolu,

musela odeslat vzorky od všech do studie zařazených pacientek k dalšímu kolu centrální histologické kontroly [62].

2.3.4 Použité experimentální metod včetně statistických

Jsou identické s předchozí kapitolou, kde jsou uvedeny.

2.3.5 Výsledky

V analyzované kohortě 395 pacientek bylo diagnostikováno celkem 62 (16 %) případů s uzlinovým postižením v těchto kategoriích: 29 MAC, 21 MIC, 12 ITC.

Z 391 pacientek, které podstoupily detekci SLN, bylo 30 (8 %) vyřazen pro intraoperační nález uzlinového postižení (MAC, MIC). Nezaznamenali jsme stranové rozdíly v pánevní lokalizaci mezi SLN a postiženými SLN. Výsledky srovnávající intraoperační a definitivní histologické vyšetření SLN jsou uvedeny v tabulce 13. Z 29 případů s MAC jich bylo 21 (72 %) diagnostikováno intraoperačně, zbylých 8 (28 %) pomocí finálního ultrastagingu. Z 21 případů MIC jich bylo 19 (90,5 %) detekováno z definitivního histologického vyšetření, jen 2 (9,5 %) intraoperačně. Všech 12 (100 %) případů ITC bylo diagnostikováno až po operaci. Polovina všech případů metastatického postižení SLN (MAC+MIC) nebyla intraoperačně detekována. Sensitivita intraoperačního vyšetření SLN dosáhla 72,4 % pro MAC a jen 46 % pro kategorii pN1 (MAC+MIC).

Tab. 13: Postižení SLN z intraoperačního a definitivního histologického vyšetření (N=391)

typ postižení	stav SLN			výsledky intraop. vyšetření SLN		
	Frozen section	Ultrastaging	finální stav*	senzitivita (%)	FNR (%)	NPV (%)
MAC	21	8	29	72,4	27,6	97,8
MIC	2	19	21	9,5	90,5	94,7
ITC	0	12	12	0	100	96,7
MAC + MIC	23	27	50	46,0	54,0	92,5
MAC + MIC + ITC	23	39	62	37,1	62,9	89,2

ITC – izolované nádorové buňky, MAC – makrometastáza, MIC – mikrometastáza, *kombinované výsledky (frozen section plus ultrastaging)

2.3.6 Diskuze

Výhodou biopsie SLN je skutečnost, že odstraňuje jen malé množství lymfatických uzlin s největší pravděpodobností postižení a poskytuje možnost jejich histologického vyšetření během operace. Definitivní vyšetření SLN pomocí ultrastagingu snižuje riziko přehlédnutí mikrometastáz a malých makrometastáz. Ultrastaging zvyšuje sensitivitu vyšetření SLN.

Pacientky s MIC nebo ITC v SLN mohou mít MAC v nesentinelové uzlině [63]. Při falešně negativním vyšetření SLN by uzlinová pozitivita zůstala nedetekována se všemi důsledky pro prognózu. Taková pacientka s přehlédnutým metastatického postižením by nebyla zajištěna adjuvantní terapií s vysokým rizikem recidivy onemocnění a úmrtí.

Publikovaná senzitivita intraoperačního vyšetření SLN pro různé kategorie metastatického postižení je uvedena v tabulce 14.

Tab. 14: Senzitivita intraoperačního vyšetření SLN v literatuře

Autor (rok)	N	sens. MAC	sens. MAC+MIC	sens. MAC+MIC+ITC
Bats (2011)	102	71 %	45 %	25 %
Slama (2013)	225	81 %	63 %	56 %
Martinez (2013)	94	100 %	89 %	64 %
Rychlik (2019)	153	77 %	81 %	68 %
Dostalek (2020)	309	67 %	47 %	38 %
Cibula (2020)	391	72 %	46 %	37 %

ITC – izolované nádorové buňky, MAC – makrometastáza, MIC – mikrometastáza, sens. - senzitivita

Francouzská skupina z multicentrické prospektivní studie Senticol 1 retrospektivně analyzovala souboru 102 pacientek s ohledem na přesnost intraoperačního vyšetření SLN pomocí metody zmrazených řezů (97) a otiskové cytologie (5). Zaznamenala nízkou celkovou senzitivitu 23 % (95%CI: 7,8–45,4 %) a negativní prediktivní hodnotu 93,0% (95%CI: 89,0–95,9 %). Intraoperační vyšetření minulo 77 % metastaticky postižených uzlin, všechny MIC, ITC. Nedetekovali pět z celkem devíti případů MAC, senzitivita pro MAC byla 55,6 % (95% CI:21,2–86,3 %) [49]. Intraoperační vyšetření bylo protokolem studie doporučeno u makroskopicky suspektních uzlin, metoda zmrazeného řezu spočívala v rozpůlení uzliny v dlouhé ose a vyšetření jedné poloviny v jedné úrovni barvením hematoxylinem-eosinem, cytologické vyšetření otiskem obou polovin uzliny na podložní sklo.

V retrospektivní souboru 225 pacientek z našeho centra (Sláma, 2013) bylo dosaženo 63 % sensitivity pro metastatické postižení sentinelové uzliny. Ultrastaging detekoval uzlinové postižení u 73 pacientek (32,4 %), MAC u 48, MIC u 17, ITC u 8. Vysoké senzitivity 81 % bylo dosaženo pro MAC, naopak nízké 8 % senzitivity pro tzv. „LVD - low volume disease“, tzn. MIC+ITC. Možnosti, jak se s nízkou senzitivitou pro MIC vypořádat, byly pro pacientky málo akceptovatelný chirurgický výkon ve dvou dobách nebo více extenzivní protokol intraoperačního zpracování SLN, který by neúměrně prodlužoval operační výkon [64].

Vysoká senzitivita pro detekci MAC, ale i MIC byla zaznamenána v menší retrospektivní francouzské studii z centra v Toulouse (Martinez, 2013). V souboru bylo 11 (11,7 %) pacientek s uzlinovým postižením, 8 případů s MAC, 1 s MIC a 2 s ITC. Autoři vyhodnotil intraoperační vyšetření sentinelové uzliny za metodu, která přesně predikuje finální stav lymfatických uzlin a umožňuje selekci uzlinově negativních pacientek majících benefit z radikální hysterektomie [50].

V retrospektivní studii z Bernu analyzovali 87 pacientek s úspěšnou oboustrannou detekcí SLN a intraoperačním vyšetřením pomocí metody zmrazených řezů [65]. Tato studie měla dvě ramena, rameno A s časnými stádii karcinomu, kde intraoperační vyšetření sloužilo jako triáž mezi radikální operací (SLN negativita) a definitivní chemoradioterapií (SLN pozitivita) a rameno B s lokálně pokročilými nádory, u kterých byl při pozitivitě SLN během operace dokončen paraaortální staging pro nutný rozsah ozařovacího pole. Zaznamenali 25 uzlinově pozitivních případů (85 % MAC, 12 % MIC), z toho 21 detekovaných intraoperačně a 4 případy falešně negativních SLN, pozitivních až z definitivního histologického vyšetření ultrastagingem (2 MAC, 1 MIC, 1 ITC). Senzitivita vyšetření metodou zmrazených řezů dosáhla 87,5 % a falešná negativita 12,5 % pro MAC a MIC. Celkem 21 z 25 pacientek bylo na základě lymfatického mapování a pro pozitivitu SLN z intraoperačního vyšetření indikováno k definitivní chemoradioterapii. Byl u nich dokončen paraaortální uzlinový staging, radikální hysterektomie a systematické pánevní lymfadenektomie nebyla provedena. Přes 80 % pacientek

podstoupilo triáž na základě mapování a intraoperačního vyšetření SLN ve snaze vybrat optimální modalitu onkologické léčby a nekombinovat radikální operaci a chemoradioterapii [65].

Retrospektivní analýza (N=176) ze dvou francouzských center (Rychlik, 2020) prokázala vysokou negativní prediktivní hodnotu intraoperačního vyšetření SLN pro finální stav lymfatických uzlin. Pro MAC dosáhla sensitivita 76,9 % (95%CI: 49,7-91,8 %) a NPV 97,9% (95%CI:94,0-99,3 %) u bilaterálně úspěšné detekce SLN. Pro uzlinově pozitivní postižení (MAC a MIC) byla sensitivita 81,2 % (95%CI:57,0-93,4 %) a NPV 97,9 % (95%CI:94,0-99,3 %). Pro kombinaci kategorií MAC + MIC + ITC byla sensitivita 68,4 % (95%CI:46,0-84,6 %) a NPV 95,7 % (95%CI:91,0-98,0 %). Autoři vyhodnotili intraoperační vyšetření SLN jako metodu spolehlivou pro triáž pacientek [66].

V největším publikovaném retrospektivním souboru (N=309) z našeho centra (Dostalek, 2020) byla adjuvantní chemoradioterapie po radikální operaci indikována u 29 (9 %) případů. Celkem 47 pacientek bylo identifikováno jako s vysokým rizikem pro recidivu, byly u nich přítomny prognosticky významné faktory (pozitivita uzlin, parametrií, chirurgického okraje). Zaznamenali jsme 86 % úspěšnost oboustranné detekce SLN. Sensitivita, specificita, pozitivní a negativní prediktivní hodnota pro intraoperačně detekovanou uzlinovou pozitivitu (MAC a MIC) byla 47 % (95% CI: 31-64%), 100 %, 100 %, a 93 % (95% CI:90-96 %). V 6 % (18/47) případech se během operace podařilo histologicky diagnostikovat uzlinové postižení a radikální operace v pánvi nebyla provedena, metodou zmrazených řezů bylo detekováno 16 z celkem 24 (67 %) MAC, 2 z 14 (14 %) MIC a 0 z 10 (0 %) ITC. Limitací intraoperačního vyšetření sentinelové uzliny byla nízká sensitivita zejména pro detekci MIC. Téměř polovina (18/38) všech uzlinově pozitivních pacientek byla na základě intraoperačního vyšetření ušetřena nežádoucí kombinace radikální operace a adjuvantní chemoradioterapie [67].

2.3.7 Závěr 3

V naší práci jsme prokázali nízkou sensitivitu intraoperačního vyšetření SLN. Intraoperační vyšetření bylo falešně negativní u 90 % pacientek s MIC a 28 % s MAC. Téměř u poloviny pacientek byla informace o metastatickém postižení SLN získána až z definitivního histologického vyšetření. Výsledky jsme získali z plánované analýzy sekundárních cílů prospektivní multicentrické observační studie Sentix.

Potvrdili jsme důležitost definitivního vyšetření SLN pomocí protokolu pro patologický ultrastaging. Tyto pacientky by bez patologického ultrastagingu nebyly zajištěny adjuvantní léčbou a měly by vyšší riziko pro recidivu onemocnění a úmrtí.

Pacientky musí být předem informovány o nízké sensitivitě intraoperačního vyšetření SLN a limitacích intraoperační triáže mezi radikální chirurgickou léčbou a primární chemoradioterapií, jejíž cílem je obě modalitty pro jejich kumulativní morbiditu nekombinovat.

2.4 Úspěšnost detekce sentinelové uzliny u větších nádorů

2.4.1 Cíl

Cílem práce bylo zjistit úspěšnost oboustranné detekce SLN u „bulky“ nádorů děložního hrdla velikosti >2 cm a >4 cm.

2.4.2 Hypotéza

Biopsie SLN je v kombinaci se systematickou pánevní lymfadenektomií výkonem doporučeným pro chirurgický uzlinový staging zejména pro nádory děložního hrdla menší než 2 cm. S dobrým zvládnutím techniky a její modifikací pomocí spinální jehly, lze i pro větší nádory ve stádiích IB2, IB3 (FIGO 2018) dosáhnout podobně vysoké úspěšnosti oboustranné úspěšné detekce SLN.

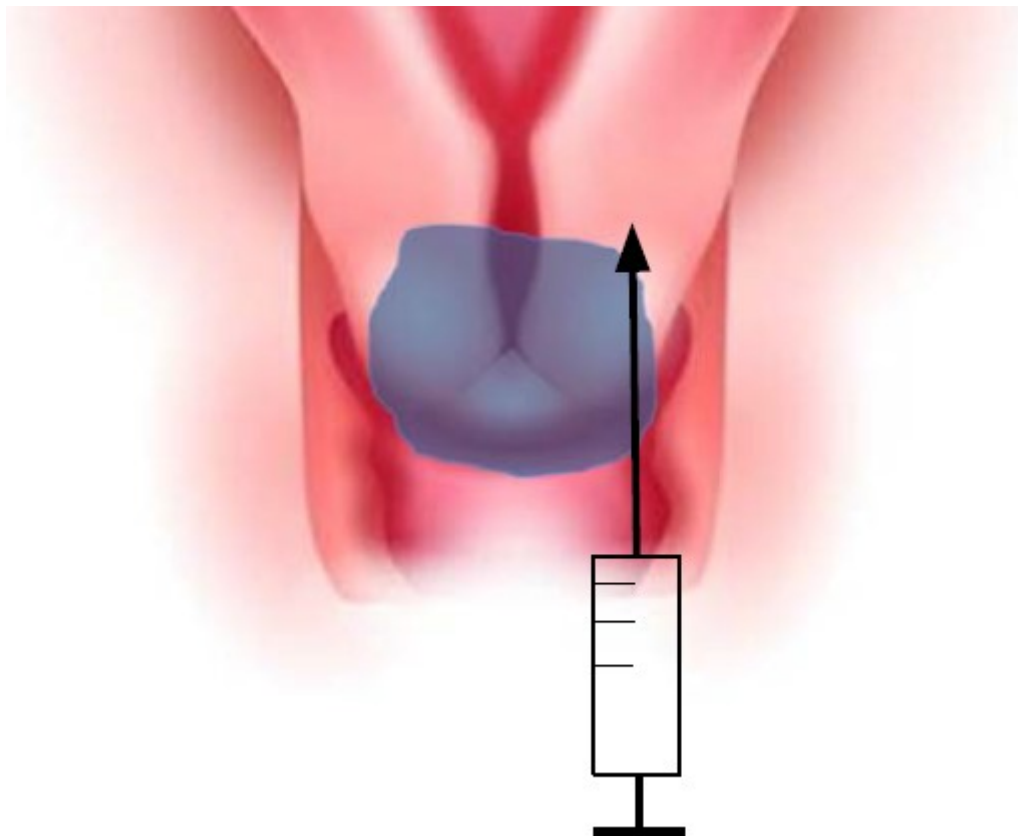
Uzlinové mapování, biopsie SLN je pro časná stádia karcinomu děložního hrdla spojená s vysokou sensitivitou a nízkou falešnou negativitou pro finální stav lymfatických uzlin, a to nezávisle na velikosti primárního nádoru.

2.4.3 Metodika

Retrospektivně jsme analyzovali kohortu 350 konsekutivně zařazených pacientek z našeho centra. Jednalo se o pacientky s karcinomem děložního hrdla, běžných histologických typů (dlaždicobuněčný karcinom, adenokarcinom, adenoskvamózní karcinom), ve stádiu IA – II, které v rozmezí let 2006–2015 podstoupily primární operaci s kurativním záměrem. Součástí chirurgického výkonu byla detekce SLN následovaná systematickou pánevní lymfadenektomií v případě její negativity z intraoperačního vyšetření. Vyloučeny byly případy s neoadjuvantní chemoterapií.

2.4.4 Použité experimentální metod včetně statistických

K aplikaci detekční látky při biopsii SLN byla pro objemné exofyticky rostoucí nádory a nádory bez patrného reziduálního zdravého stromatu děložního hrdla („bulky a pseudobulky“) použita modifikovaná metoda s dlouhou spinální jehlou. (Obr. 7) K detekci byl využit radiokoloid (Tc^{99m}) a patentní modř, nebo jejich kombinace. Způsob aplikace detekční značky, času a dávky byl již popsán v kapitole Technika značení a detekce sentinelové uzliny.



Obr. 7: Aplikace detekční značky u větších nádorů pomocí spinální jehly

Modifikací techniky se spinální jehlou byla detekční látka aplikována do reziduálního nádorem nepostiženého stromatu děložního hrdla nebo do nepostiženého stromatu za nádor. Kontrolou správné techniky aplikace byla absence úniku detekční látky z děložního hrdla, která bývá přítomna při nesprávné aplikaci do nekroticky změněného nádoru. Zdravé stroma děložního hrdla klade pístu injekce větší pocíťovaný odpor v kontrastu s jeho absencí při nesprávné aplikaci do nádoru.

Každá detekovaná modrá anebo radioaktivní uzlina byla označena za uzlinu sentinelovou, exstirpována a odeslána k intraoperačnímu histologickému vyšetření pomocí metody zmrazených řezů. V případě její negativity následovala systematická pánevní lymfadenektomie jako součást operačního výkonu ve všech sedmi standardních anatomických oblastí pánve. SLN byly definitivně vyšetřeny podle protokolu pro ultrastaging. SLN byly zpracovány v 2 mm intervalech, vždy ve 2 ultratenkých řezech ve 150 μ m intervalech (jeden řez barvený hematoxylinem-eosinem, při negativitě prvního řezu byl druhý vyšetřený imunohistochemicky protilátkami proti pancytokeratinu AE1 a AE3). Takto byly vyšetřeny v nejméně čtyřech úrovních nebo dokud nezůstala žádná nezpracovaná tkáň SLN. V závěrečné patologické zprávě bylo uvedeno TNM stádium, kategorie pN1 pro MAC nebo MIC a pN0 v případě negativity nebo při nálezu ITC.

Data byla analyzována pro pacientky s alespoň jednostranně úspěšnou detekcí SLN (celková úspěšnost detekce a oboustranná detekce). Za falešně negativní byly označeny případy s absencí metastatického postižení v uzlině sentinelové a přítomnou MAC anebo MIC v uzlině nesentinelové.

Byly použity metody deskriptivní statistiky, relativní a absolutní četnosti, aritmetický průměr doplněný směrodatnými odchylkami, medián doplněný o 5%-95% intervaly spolehlivosti. Ke srovnání spojitých proměnných byl použit neparametrický Mann-Whitneyův

pořadový test a Kruskal-Wallisův test. Fisherův exaktní test pak pro srovnání experimentálních veličin.

2.4.5 Výsledky

Finální analýzu podstoupilo 350 pacientek s karcinomem děložního hrdla se stádii IA-II. Zastoupení v jednotlivých kategoriích podle velikosti nádoru bylo následující: N=140 (<2 cm), N=138 (2-3,9 cm), N=72 (\geq 4 cm).

Celková úspěšnost detekce dosáhla 93 % a oboustranná detekce SLN 80 %. Byla zjištěna srovnatelně vysoká oboustranná úspěšnost detekce SLN v jednotlivých kategoriích dle velikosti nádoru: 79 % pro nádory <2 cm, 83 % pro nádory 2-3,9 cm a 76 % pro nádory \geq 4 cm ($p=0,460$). (Tab. 15)

Tab. 15: Úspěšnost detekce rozdělená podle velikosti nádoru

DR	celá kohorta	<2cm	2,0-3,9cm	\geq 4cm	p^1
(N, %)	N=350	N=140	N=138	N=72	
celková	326 (93,1 %)	128 (91,4 %)	134 (97,1 %)	64 (88,9 %)	0,034
jednostranná	45 (12,9 %)	17 (12,1 %)	19 (13,8 %)	9 (12,9 %)	0,936
oboustranná	281 (80,3 %)	111 (79,3 %)	115 (83,3 %)	55 (76,4 %)	0,460

p^1 -Fisherův exaktní test

V kohortě bylo 254 (78 %) pacientek s negativními uzlinami, 10 % s MAC, 8 % s MIC a 4 % s ITC. Celkem bylo zaznamenáno 48 (13,7 %) recidiv. Pomocí ultrastagingu bylo dosaženo 93 % (96 %) senzitivity SLN pro jednostrannou (oboustrannou) detekci, tj. poměr SLN pozitivních ke všem LN pozitivním, tj. SLN i non-SLN. (Tab. 16) Falešná negativita (FNR) dosáhla 1,2 % ve skupině s alespoň jednostrannou detekcí, hodnoty 1,6 %, 1,5 % a 0 % pro nádory <2 cm, 2-3,9 cm, \geq 4 cm. Z finální histologie byly v nesentinelových uzlinách detekovány celkem 3 případy s MAC a 2 s MIC.

Tab. 16: Senzitivita ultrastagingu SLN pro finální stav uzlin

jednostranná detekce	N	senzitivita	p^1
celá kohorta	60	56 (93,3 %)	0,251
<2cm	17	15 (88,2 %)	
2,0-3,9cm	21	19 (90,5 %)	
\geq 4cm	22	22 (100 %)	
oboustranná detekce	N	senzitivita	p^1
celá kohorta	50	48 (96,0 %)	0,510
<2cm	15	14 (93,3 %)	
2,0-3,9cm	15	14 (93,3 %)	
\geq 4cm	20	20 (100 %)	

p^1 -Fischerův exaktní test

2.4.6 Diskuze

Publikovaná retrospektivní kohorta 350 pacientek z našeho centra je výjimečná zastoupením velkých IB nádorů. Celkem 138 pacientek mělo nádor v největším rozměru 2,0-3,9 cm a 72 pacientek ≥ 4 cm. Větší nádory jsou spojeny s vyšším rizikem metastatického postižení lymfatických uzlin. Potvrdili jsme spolehlivost konceptu SLN pro kategorie různě velikých nádorů, srovnatelně úspěšnou oboustrannou detekci, vysokou senzitivitu a velmi nízkou falešnou negativitu. Do současnosti bylo publikováno jen několik studií věnujících se úspěšnosti detekce SLN u nádorů větších než 2cm.

Modifikovaná technika se spinální jehlou byla prof. Cibulou publikována již v roce 2009 na menším souboru 44 pacientek pro nádory >3 cm. V počátcích jejího využití byla provázena nižší celkovou (77 %) i oboustrannou (59 %) úspěšností detekce SLN [68].

Někteří autoři, zejména ve starších publikacích (Wydra, 2006), prezentovali horší výsledky u nádorů >2 cm. Oboustranně úspěšné detekce SLN bylo dosaženo jen u 26 % případů [56]. Jiní (Rob, 2005), publikovali 92 % úspěšnou oboustrannou detekci u nádorů >2 cm s použitím kombinované techniky značení pomocí radiokoloidu a patentní modři, s nulovou falešnou negativitou [69]. Prospektivní multicentrická studie německých autorů (Altgassen, 2008) zaznamenala o 10 % nižší úspěšnost detekce SLN u nádorů >2 cm (84 % versus 94 %) [70]. Review českých autorů (Rob, 2013), srovnávající kohortu 600 pacientek, zjistilo o 10-15 % nižší DR i senzitivitu pro nádory >2 cm (80 % vs. 95 %, 89 % vs. 100 %) [19]. Vysoká, 97 % senzitivita SLN ultrastagingu byla publikována v největší retrospektivní kohortě (N=645), ve které bylo 19 % nádorů >4 cm (Cibula, 2012) [63]. Recentní americká studie (Salvo, 2017) neprokázala rozdílnou úspěšnost detekce pro nádory $< a \geq 2$ cm a zachytila jen jeden případ falešné negativity SLN z následného ultrastagingu [24].

2.4.7 Závěr 4

Na retrospektivním souboru 350 pacientek jsme prokázali srovnatelně vysokou úspěšnost oboustranné detekce SLN u nádorů různé velikosti. Úspěšnost detekce SLN dosáhla 79 % pro nádory <2 cm, 83 % v kategorii 2-3,9 cm, 76 % pro nádory \geq 4 cm.

K těmto výsledkům přispěla kontinuální dlouhodobá zkušenost s biopsií SLN v našem centru od roku 2005 a modifikace techniky aplikace detekční značky pomocí spinální jehly, která je vhodná pro objemné exofyticky rostoucí nádory bez viditelného reziduálního zdravého stromatu děložního hrdla.

Dobře zvládnutá technika detekce a biopsie SLN a její vyšetření pomocí ultrastagingu byla spojena s vysokou sensitivitou a nízkou falešnou negativitou pro finální stav pánevních lymfatických uzlin, a to nezávisle na velikosti primárního nádoru, tzn. 1,6 %, 1,5 % a 0 % pro nádory <2 cm, 2-3,9 cm, \geq 4 cm.

3 Souhrn

Biopsie sentinelové uzliny je metodou standardizovanou, spolehlivou a pevně zakotvenou v současných mezinárodních doporučených postupech věnujících se léčbě pacientek s časnými stádii karcinomu děložního hrdla.

Následuje shrnutí přínosu výsledků prezentovaných v disertační práci k současné klinické praxi:

3.1 Prognostický význam mikrometastáz

V naší práci jsme sledovali prognózu pacientek s časnými stádii karcinomu děložního hrdla po primární chirurgické léčbě s kurativním záměrem. Potvrdili jsme význam MIC jako nezávislého negativního prognostického faktoru, spojeného s vyšším rizikem pro recidivu onemocnění. Přítomnost MIC se projevila zkrácením přežití bez známek nemoci a zkrácením celkového přežití. S mediánem sledování 65 měsíců jsme v celé práci dosáhli 90 % DFS. Přežití bez nemoci zaznamenalo 89 % pacientek s MAC, 87 % s ITC a jen 67 % pacientek s detekovanou MIC.

Na základě uvedených výsledků by měl být klinický management u pacientek s diagnostikovanou MIC shodný s pacientkami s MAC, a to v podobě adekvátního zajištění adjuvantní léčbou, tzn. kombinovanou konkomitantní chemoradioterapií.

Jedná se o největší dosud publikovaný retrospektivní soubor, věnující se prognostickému významu mikrometastáz. Výsledky byly publikovány v prestižním časopise *Cancers* s IF=6,126. Výsledky projektu byly autorem prezentovány na konferenci Evropské společnosti pro onkogynekologii (ESGO, Atény, 2019).

3.2 Lymfatické mapování a úspěšnost detekce SLN

V prospektivní mezinárodní multicentrické studii jsme prezentovali dosud nejvyšší úspěšnost oboustranné detekce SLN (91 %). Popsali jsme anatomickou distribuci SLN, a to v pánevní úrovni I (distálně od interilické bifurkace). Izolovaně mimo tuto oblast jsme sentinelové uzliny detekovali vzácně, pouze ve 4 % případů, a izolované pozitivní SLN v pánevní úrovni II jen ve 2 % případů. Prokázali jsme lepší výsledky detekce sentinelové uzliny v centrech s větším počtem případů. Úspěšnost detekce SLN nebyla negativně ovlivněna stádiem onemocnění, velikostí nádoru ani indexem tělesné hmotnosti pacientky.

Výsledky byly získány z plánované analýzy sekundárních cílů probíhající chirurgické studie Sentix (NCT02494063, CEEGOG CX-01, ENGOT-Cx2). Jedná se o prospektivní observační studii, která by měla vést ke změně mezinárodní klinické praxe. Ověřuje onkologickou bezpečnost samostatné biopsie sentinelové uzliny bez provedené systematické pánevní lymfadenektomie, současně se zabývá pooperační morbiditou spojenou s němě radikální operací, tzn. výskytu lymfedému a symptomatických lymfocyst u pacientek s časnými stádii karcinomu děložního hrdla léčených primárně chirurgicky s kurativním záměrem. Hlavním investigátorem a autorem protokolu je prof. Cibula. Předkladatel této práce se od počátku účastní jako investigátor studie a spoluřešitel grantů AZV ČR (16-31643A, NV19-03-00023). Náběr do studie byl v říjnu 2020 úspěšně ukočen zařazením všech plánovaných 733 pacientek v 47 centrech z 18 zemí. Data pro analýzu primárního cíle studie, kterým je výskyt recidivy 24 měsíců po operaci, budou k dispozici na konci roku 2022. Některé sekundární cíle studie Sentix, mezi které patří úspěšnost detekce a sensitivita intraoperačního vyšetření sentinelové uzliny byly publikovány v prestižním časopise *European Journal of Cancer* s IF=7,275 a prezentovány na konferenci Evropské společnosti pro onkogynekologii (ESGO, Atény, 2019).

3.3 Sensitivita a falešná negativita intraoperačního vyšetření SLN

Intraoperační vyšetření sentinelové uzliny je doporučeno k triáži patientek mezi radikální operací a primární chemoradioterapií. Cílem je tyto modalities onkologické léčby navzájem nekombinovat ve snaze vyhnout se jejich kumulativní pozdní morbiditě.

V naší práci jsme prokázali nízkou sensitivitu intraoperačního vyšetření SLN. Intraoperační vyšetření bylo falešně negativní u 90 % patientek s MIC a 28 % s MAC. Téměř u poloviny patientek byla informace o metastatickém postižení SLN získána až z definitivního histologického vyšetření. Falešná negativita intraoperačního vyšetření SLN pro přítomnost MAC a MIC dosáhla 54 %. Potvrdili jsme důležitost definitivního vyšetření SLN pomocí protokolu pro patologický ultrastaging. Tyto pacientky by bez patologického ultrastagingu nebyly zajištěny adjuvantní léčbou a měly by vyšší riziko recidivy a úmrtí.

Výsledky byly získány z plánované analýzy sekundárních cílů probíhající chirurgické studie Sentix (NCT02494063, CEEGOG CX-01, ENGOT-Cx2) a publikovány společně s výsledky úspěšnosti detekce SLN v časopise *European Journal of Cancer* s IF=7,275.

3.4 Úspěšnost detekce SLN u větších nádorů

Prokázali jsme srovnatelně vysokou úspěšnost oboustranné detekce SLN u nádorů různé velikosti. Úspěšnost detekce SLN byla 79 % pro nádory <2cm, 83 % v kategorii 2-3,9cm, 76 % pro nádory ≥4cm.

Jedná se o první publikovanou studii, která se věnuje úspěšnosti detekce a falešné negativitě SLN pro nádory >4cm. Na tomto retrospektivním souboru jsme prokázali vysokou úspěšnost oboustranné detekce SLN i pro větší nádory, které mají prokazatelně vyšší riziko metastatického postižení lymfatických uzlin. Soubor je výjimečný zastoupením velkých IB nádorů. Z 350 zařazených mělo 138 patientek nádor s největším rozměrem 2-3,9 cm a 72 patientek ≥4 cm. Unikátní je také dlouhodobá kontinuální zkušenost s biopsií SLN, která je v našem centru prováděna systematicky od roku 2005.

Biopsie SLN byla spojena s velmi nízkou falešnou negativitou pro finální stav lymfatických uzlin, dosáhla 1,2 % ve skupině s alespoň jednostranně úspěšnou detekcí SLN.

V klinické praxi jsme ověřili modifikaci techniky aplikace detekční látky pomocí spinální jehly, která je vhodná pro objemné exofyticky rostoucí nádory bez viditelného reziduálního zdravého stromatu děložního hrdla.

Získané výsledky byly publikovány v časopise *Gynecologic Oncology* s IF=4,623.

Summary

The sentinel lymph node biopsy is a well standardized reliable method, which is fully incorporated into international up-to-date guidelines for early stages cervical cancer management. Results from all research projects under this dissertation and their benefits for clinical practice are summarized below.

3.1 Prognostic impact of micrometastasis

We have focused on patients' prognosis after primary curative surgical treatment of early stages cervical cancer. We have confirmed the MIC as an important negative prognostic factor related to higher risk of disease recurrence. The presence of MIC in SLN was associated with significantly decreased DFS and OS. With a median of 65 months follow-up, the disease-free survival (DFS) reached 90% in the whole group, 93% in LN-negative cases, 89% in cases with MAC, 87% with ITC and only 69% with MIC.

Patients with MIC and MAC should be managed similarly and adequate adjuvant treatment (i.e. concomitant combined chemoradiation) should be provided. The SLN ultrastaging should become an integral part of the management of patients with early-stage cervical cancer.

We have presented the largest to date retrospective data about impact of MIC on patient's prognosis. The paper was published in *Cancers* journal with IF=6.126. Research results were presented by the author during ESGO biennial conference in 2019 (Athens, Greece).

3.2 Sentinel lymph node mapping and bilateral detection rate

We have reached bilateral detection rate of 91%, which is the highest detection rate ever published out of all prospective multicentric trials. We have described the anatomical distribution of SLN, where most SLN are localized in the two anatomical regions below the iliac vessel bifurcation (pelvic Level I). Isolated SLN outside of Level I were localized rarely, only in 4% of cases and isolated positive SLN in Level II were localized only in 2% of cases.

Higher SLN detection rate was achieved in sites with more cases. SLN detection rate was not negatively impacted by the stage of the disease, the tumour size or the patients' BMI.

These results were obtained from planned secondary end-points analysis of ongoing surgical trial Sentix (NCT02494063, CEEGOG CX-01, ENGOT-Cx2). This is a prospective observational trial, which will potentially lead to change in international clinical practice. Sentix trial verifies oncological safety of SLN biopsy without full pelvic lymph node dissection and it deals with postoperative morbidity in less radical surgery, i.e. incidence of lower limb lymphedema and symptomatic lymphoceles in patients with early stages of cervical cancer treated primarily surgically with curative intent. The principal investigator and the author of the protocol is Prof. Cibula. The dissertation author has participated in the trial as the main investigator and co-recipient of two grants from the Czech Health Research Council (16-31643A, NV19-03-00023). The recruitment was successfully completed in October 2020 by enrolling all planned 733 patients from 47 sites in 18 countries. The data for primary end-point analysis, which is the recurrence rate at 24 months of follow up, will be available at the end of 2022. Some secondary end points, such as detection rate and sensitivity of SLN intraoperative assessment, have already been published in the *European Journal of Cancer* with IF=7.275 and presented at the biennial conference of European Society of Gynaecological Oncology, in Athens (2019).

3.3 Sensitivity and false negative rate of SLN intraoperative assessment

Intraoperative assessment of SLN is recommended as triage for patients to decide between radical surgery and primary chemoradiation. The aim is not to combine both modalities of oncological treatment to avoid their cumulative late morbidity.

We have proved low sensitivity of intraoperative SLN assessment. The intraoperative SLN assessment was false negative in 90% of patients with MIC and 28% with MAC respectively. In nearly half of all patients, the information about metastatic involvement was achieved from final histopathological assessment. False negative rates of intraoperative SLN assessment for MAC and MIC reached 54%; confirming the importance of SLN ultrastaging.

Without ultrastaging, these patients would have not been treated with adjuvant treatment and would be in higher risk of recurrence and death. These results were obtained from the planned analysis of secondary end points from ongoing surgical trial Sentix (NCT02494063, CEEGOG CX-01, ENGOT-Cx2) and were published together with SLN detection rate results in the European Journal of Cancer with IF=7.275.

3.4 SLN detection rate in bigger tumours

We have proved similarly high bilateral SLN detection rate for tumours of different sizes. SLN detection rate was 79% for tumours <2cm, 83% for 2-3,9cm, 76% for tumours \geq 4cm.

To our knowledge, this is the first published trial focused on SLN detection rate and false negative rate in tumours >4cm.

In this retrospective cohort, we have confirmed high bilateral SLN detection rate even for bigger tumours which possess higher risk for LN metastatic involvement.

The cohort is a unique representation of bigger stage IB tumours. 138 out of 350 patients had tumours with the largest diameter of 2-3.9cm and 72 patients had tumours \geq 4cm. Another exceptional feature is also our continuous experience with SLN biopsy, which has been systematically performed in our site since 2005. SLN biopsy had very low false negative rate for final LN status reaching only 1.2% in the cohort with at least unilaterally successful SLN detection.

We have clinically confirmed effectiveness of modified technique of tracer injection into bulky tumours without residual healthy cervical stroma by using long spinal needle.

Results were published in Gynaecology Oncology with IF=4.623.

Poděkování

Za odborné vedení, profesní příležitosti, inspiraci a trpělivost bych chtěl poděkovat především mémú školiteli a vedoucímu onkogynekologického týmu, prof. MUDr. Davidovi Cibulovi, CSc., FCMA. Za podporu v klinické i akademické práci, cenné rady a stabilní zázemí bych rád poděkoval přednostovi Gynekologicko-porodnické kliniky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze, prof. MUDr. Aloisovi Martanovi, DrSc. Veliké díky za podporu, pomoc a přátelské vztahy patří také všem mým kolegům, jmenovitě doc. MUDr. Andree Burgetové, Ph.D., MBA, prof. Pavlu Dundrovi, Ph.D., prof. MUDr. Daniele Fischerové, Ph.D., doc. MUDr. Kristýně Němejcové, Ph.D., prof. MUDr. Jířímu Slámovi, Ph.D., doc. MUDr. Pavlovi Freitagovi, CSc., MUDr. Filipovi Frühaufovi, Ph.D., MUDr. Lukášovi Dostálkovi, MUDr. Anně Germanové, Ph.D., MUDr. Tereze Ballaschové.

Seznam literatury

1. Alvarez RD, Soong SJ, Kinney WK, Reid GC, Schray MF, Podratz KC, et al. Identification of prognostic factors and risk groups in patients found to have nodal metastasis at the time of radical hysterectomy for early-stage squamous carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol.* 1989;35(2):130-5.
2. Delgado G, Bundy B, Zaino R, Sevin BU, Creasman WT, Major F. Prospective surgical-pathological study of disease-free interval in patients with stage IB squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 1990;38(3):352-7.
3. Grisaru DA, Covens A, Franssen E, Chapman W, Shaw P, Colgan T, et al. Histopathologic score predicts recurrence free survival after radical surgery in patients with stage IA2-IB1-2 cervical carcinoma. *Cancer.* 2003;97(8):1904-8.
4. Ho CM, Chien TY, Huang SH, Wu CJ, Shih BY, Chang SC. Multivariate analysis of the prognostic factors and outcomes in early cervical cancer patients undergoing radical hysterectomy. *Gynecol Oncol.* 2004;93(2):458-64.
5. Kamura T, Tsukamoto N, Tsuruchi N, Saito T, Matsuyama T, Akazawa K, et al. Multivariate analysis of the histopathologic prognostic factors of cervical cancer in patients undergoing radical hysterectomy. *Cancer.* 1992;69(1):181-6.
6. Sevin BU, Lu Y, Bloch DA, Nadji M, Koechli OR, Averette HE. Surgically defined prognostic parameters in patients with early cervical carcinoma. A multivariate survival tree analysis. *Cancer.* 1996;78(7):1438-46.
7. Yuan CC, Wang PH, Lai CR, Yen MS, Chen CY, Juang CM. Prognosis-predicting system based on factors related to survival of cervical carcinoma. *Int J Gynaecol Obstet.* 1998;63(2):163-7.
8. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg.* 1992;127(4):392-9.
9. Cabañas RM, El tratamiento ganglionar en el cancer del pene [thesis]. New York. 1975.
10. Thompson JF, Stretch JR, Uren RF, Ka VS, Scolyer RA. Sentinel node biopsy for melanoma: Where have we been and where are we going? *Ann Surg Oncol.* 2004;11(3 Suppl):147S-51S.
11. Braithwaite LR, The flow of lymph from the ileocaecal angle, and its possible bearing on the cause of duodenal and gastric ulcer. *Br J Surg.* 1923;11:7-26
12. Nieweg OE, Uren RF, Thompson JF. The history of sentinel lymph node biopsy. *Cancer J.* 2015;21(1):3-6.
13. Cibula D, Potter R, Planchamp F, Avall-Lundqvist E, Fischerova D, Haie Meder C, et al. The European Society of Gynaecological Oncology/European Society for Radiotherapy and Oncology/European Society of Pathology Guidelines for the Management of Patients With Cervical Cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2018;28(4):641-55.
14. NCCN. Cervical Cancer - NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (version 2.2020 - July 24, 2020) 2020 [Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/cervical.pdf.
15. Brown JS, Sawaya G, Thom DH, Grady D. Hysterectomy and urinary incontinence: a systematic review. *Lancet.* 2000;356(9229):535-9.
16. Dargent D, Martin X, Mathevet P. Laparoscopic assessment of the sentinel lymph node in early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2000;79(3):411-5.
17. Niikura H, Okamoto S, Otsuki T, Yoshinaga K, Utsunomiya H, Nagase S, et al. Prospective study of sentinel lymph node biopsy without further pelvic lymphadenectomy in

- patients with sentinel lymph node-negative cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2012;22(7):1244-50.
18. Buda A, Crivellaro C, Elisei F, Di Martino G, Guerra L, De Ponti E, et al. Impact of Indocyanine Green for Sentinel Lymph Node Mapping in Early Stage Endometrial and Cervical Cancer: Comparison with Conventional Radiotracer (99m)Tc and/or Blue Dye. *Ann Surg Oncol*. 2016;23(7):2183-91.
 19. Rob L, Robova H, Halaska MJ, Hruda M, Skapa P. Current status of sentinel lymph node mapping in the management of cervical cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2013;13(7):861-70.
 20. Dostalek L, Zikan M, Fischerova D, Kocian R, Germanova A, Fruhauf F, et al. SLN biopsy in cervical cancer patients with tumors larger than 2cm and 4cm. *Gynecol Oncol*. 2018;148(3):456-60.
 21. Pinero A, Illana J, Garcia-Palenciano C, Canizares F, Canteras M, Canadillas V, et al. Effect on oximetry of dyes used for sentinel lymph node biopsy. *Arch Surg*. 2004;139(11):1204-7.
 22. Cibula D, Abu-Rustum NR. Pelvic lymphadenectomy in cervical cancer--surgical anatomy and proposal for a new classification system. *Gynecol Oncol*. 2010;116(1):33-7.
 23. Bats AS, Mathevet P, Buenerd A, Orliaguet I, Mery E, Zerdoud S, et al. The sentinel node technique detects unexpected drainage pathways and allows nodal ultrastaging in early cervical cancer: insights from the multicenter prospective SENTICOL study. *Ann Surg Oncol*. 2013;20(2):413-22.
 24. Salvo G, Ramirez PT, Levenback CF, Munsell MF, Euscher ED, Soliman PT, et al. Sensitivity and negative predictive value for sentinel lymph node biopsy in women with early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2017;145(1):96-101.
 25. Balaya V, Mathevet P, Magaud L, Bonsang-Kitzis H, Delomenie M, Montero Macias R, et al. Predictive factors of unexpected lymphatic drainage pathways in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2019;154(1):102-9.
 26. Cibula D, Kocian R, Plaikner A, Jarkovsky J, Klat J, Zapardiel I, et al. Sentinel lymph node mapping and intraoperative assessment in a prospective, international, multicentre, observational trial of patients with cervical cancer: The SENTIX trial. *Eur J Cancer*. 2020;137:69-80.
 27. Cibula D, McCluggage WG. Sentinel lymph node (SLN) concept in cervical cancer: Current limitations and unanswered questions. *Gynecol Oncol*. 2019;152(1):202-7.
 28. Bizzarri N, Pedone Anchora L, Zannoni GF, Santoro A, Valente M, Inzani F, et al. Role of one-step nucleic acid amplification (OSNA) to detect sentinel lymph node low-volume metastasis in early-stage cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2020;30(3):364-71.
 29. Dundr P, Cibula D, Nemejcova K, Ticha I, Bartu M, Jaksa R. Pathologic Protocols for Sentinel Lymph Nodes Ultrastaging in Cervical Cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2019.
 30. Cibula D, Abu-Rustum NR, Dusek L, Zikan M, Zaal A, Sevcik L, et al. Prognostic significance of low volume sentinel lymph node disease in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2012;124(3):496-501.
 31. Sobin LH, Gospodarowicz, M.K., Wittekind, Ch. International Union against Cancer (UICC). TNM classification of malignant tumours, 7th ed. eds. , Ed.; New York: Wiley: 2009.2009.
 32. Querleu D, Morrow CP. Classification of radical hysterectomy. *Lancet Oncol*. 2008;9(3):297-303.
 33. Querleu D, Cibula D, Abu-Rustum NR. 2017 Update on the Querleu-Morrow Classification of Radical Hysterectomy. *Ann Surg Oncol*. 2017;24(11):3406-12.

34. Cibula D, Slama J, Dostalek L, Fischerova D, Germanova A, Fruhauf F, et al. Tumour-free distance: a novel prognostic marker in patients with early-stage cervical cancer treated by primary surgery. *Br J Cancer*. 2020.
35. Euscher ED, Malpica A, Atkinson EN, Levenback CF, Frumovitz M, Deavers MT. Ultrastaging improves detection of metastases in sentinel lymph nodes of uterine cervix squamous cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2008;32(9):1336-43.
36. Lentz SE, Muderspach LI, Felix JC, Ye W, Groshen S, Amezcua CA. Identification of micrometastases in histologically negative lymph nodes of early-stage cervical cancer patients. *Obstet Gynecol*. 2004;103(6):1204-10.
37. Darai E, Rouzier R, Ballester M, Barranger E, Coutant C. Sentinel lymph node biopsy in gynaecological cancers: the importance of micrometastases in cervical cancer. *Surg Oncol*. 2008;17(3):227-35.
38. Diaz JP, Gemignani ML, Pandit-Taskar N, Park KJ, Murray MP, Chi DS, et al. Sentinel lymph node biopsy in the management of early-stage cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2011;120(3):347-52.
39. Marchiolo P, Buenerd A, Benchaib M, Nezhat K, Dargent D, Mathevet P. Clinical significance of lympho vascular space involvement and lymph node micrometastases in early-stage cervical cancer: a retrospective case-control surgico-pathological study. *Gynecol Oncol*. 2005;97(3):727-32.
40. Juretzka MM, Jensen KC, Longacre TA, Teng NN, Husain A. Detection of pelvic lymph node micrometastasis in stage IA2-IB2 cervical cancer by immunohistochemical analysis. *Gynecol Oncol*. 2004;93(1):107-11.
41. Van Trappen PO, Gyselman VG, Lowe DG, Ryan A, Oram DH, Bosze P, et al. Molecular quantification and mapping of lymph-node micrometastases in cervical cancer. *Lancet*. 2001;357(9249):15-20.
42. Fregnani JH, Latorre MR, Novik PR, Lopes A, Soares FA. Assessment of pelvic lymph node micrometastatic disease in stages IB and IIA of carcinoma of the uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer*. 2006;16(3):1188-94.
43. Horn LC, Hentschel B, Fischer U, Peter D, Bilek K. Detection of micrometastases in pelvic lymph nodes in patients with carcinoma of the cervix uteri using step sectioning: Frequency, topographic distribution and prognostic impact. *Gynecol Oncol*. 2008;111(2):276-81.
44. Colturato LF, Signorini Filho RC, Fernandes RC, Gebrim LH, Oliani AH. Lymph node micrometastases in initial stage cervical cancer and tumoral recurrence. *Int J Gynaecol Obstet*. 2016;133(1):69-75.
45. Stany MP, Stone PJ, Felix JC, Amezcua CA, Groshen S, Ye W, et al. Lymph Node Micrometastases in Early-Stage Cervical Cancer are Not Predictive of Survival. *Int J Gynecol Pathol*. 2015;34(4):379-84.
46. Guani B, Dorez M, Magaud L, Buenerd A, Lecuru F, Mathevet P. Impact of micrometastasis or isolated tumor cells on recurrence and survival in patients with early cervical cancer: SENTICOL Trial. *Int J Gynecol Cancer*. 2019;29(3):447-52.
47. Du XL, Sheng XG, Jiang T, Li QS, Yu H, Pan CX, et al. Sentinel lymph node biopsy as guidance for radical trachelectomy in young patients with early stage cervical cancer. *BMC Cancer*. 2011;11:157.
48. Lecuru F, Mathevet P, Querleu D, Leblanc E, Morice P, Darai E, et al. Bilateral negative sentinel nodes accurately predict absence of lymph node metastasis in early cervical cancer: results of the SENTICOL study. *J Clin Oncol*. 2011;29(13):1686-91.
49. Bats AS, Buenerd A, Querleu D, Leblanc E, Darai E, Morice P, et al. Diagnostic value of intraoperative examination of sentinel lymph node in early cervical cancer: a prospective, multicenter study. *Gynecol Oncol*. 2011;123(2):230-5.

50. Martinez A, Mery E, Filleron T, Boileau L, Ferron G, Querleu D. Accuracy of intraoperative pathological examination of SLN in cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2013;130(3):525-9.
51. Hellebrekers BW, Zwinderman AH, Kenter GG, Peters AA, Snijders-Keilholz A, Graziosi GC, et al. Surgically-treated early cervical cancer: Prognostic factors and the significance of depth of tumor invasion. *Int J Gynecol Cancer.* 1999;9(3):212-9.
52. Ramirez PT, Frumovitz M, Pareja R, Lopez A, Vieira M, Ribeiro R, et al. Minimally Invasive versus Abdominal Radical Hysterectomy for Cervical Cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(20):1895-904.
53. Kong TW, Chang SJ, Piao X, Paek J, Lee Y, Lee EJ, et al. Patterns of recurrence and survival after abdominal versus laparoscopic/robotic radical hysterectomy in patients with early cervical cancer. *J Obstet Gynaecol Res.* 2016;42(1):77-86.
54. Brar H, Hogen L, Covens A. Cost-effectiveness of sentinel node biopsy and pathological ultrastaging in patients with early-stage cervical cancer. *Cancer.* 2017;123(10):1751-9.
55. Cibula D, Dusek J, Jarkovsky J, Dundr P, Querleu D, van der Zee A, et al. A prospective multicenter trial on sentinel lymph node biopsy in patients with early-stage cervical cancer (SENTIX). *Int J Gynecol Cancer.* 2019;29(1):212-5.
56. Wydra D, Sawicki S, Wojtylak S, Bandurski T, Emerich J. Sentinel node identification in cervical cancer patients undergoing transperitoneal radical hysterectomy: a study of 100 cases. *Int J Gynecol Cancer.* 2006;16(2):649-54.
57. Balaya V, Bresset A, Guani B, Magaud L, Montero Macias R, Delomenie M, et al. Risk factors for failure of bilateral sentinel lymph node mapping in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2020;156(1):93-9.
58. Zarganis P, Kondi-Pafiti A, Arapantoni-Dadioti P, Trivizaki E, Velentzas K, Vorgias G, et al. The sentinel node in cervical cancer patients: role of tumor size and invasion of lymphatic vascular space. *In Vivo.* 2009;23(3):469-73.
59. Imboden S, Papadia A, Nauwerk M, McKinnon B, Kollmann Z, Mohr S, et al. A Comparison of Radiocolloid and Indocyanine Green Fluorescence Imaging, Sentinel Lymph Node Mapping in Patients with Cervical Cancer Undergoing Laparoscopic Surgery. *Ann Surg Oncol.* 2015;22(13):4198-203.
60. Di Martino G, Crivellaro C, De Ponti E, Bussi B, Papadia A, Zapardiel I, et al. Indocyanine Green versus Radiotracer with or without Blue Dye for Sentinel Lymph Node Mapping in Stage >IB1 Cervical Cancer (>2 cm). *J Minim Invasive Gynecol.* 2017;24(6):954-9.
61. Luhrs O, Ekdahl L, Lonnerfors C, Geppert B, Persson J. Combining Indocyanine Green and Tc(99)-nanocolloid does not increase the detection rate of sentinel lymph nodes in early stage cervical cancer compared to Indocyanine Green alone. *Gynecol Oncol.* 2020;156(2):335-40.
62. Nemejcova K, Kocian R, Kohler C, Jarkovsky J, Klat J, Berjon A, et al. Central Pathology Review in SENTIX, A Prospective Observational International Study on Sentinel Lymph Node Biopsy in Patients with Early-Stage Cervical Cancer (ENGOT-CX2). *Cancers (Basel).* 2020;12(5).
63. Cibula D, Abu-Rustum NR, Dusek L, Slama J, Zikan M, Zaal A, et al. Bilateral ultrastaging of sentinel lymph node in cervical cancer: Lowering the false-negative rate and improving the detection of micrometastasis. *Gynecol Oncol.* 2012;127(3):462-6.
64. Slama J, Dundr P, Dusek L, Cibula D. High false negative rate of frozen section examination of sentinel lymph nodes in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2013;129(2):384-8.

65. Papadia A, Morosi C, Wang J, Gasparri ML, Rau T, Ghezzi F, et al. SLN mapping in early-stage cervical cancer as a minimal-invasive triaging tool for multimodal treatment. *Eur J Surg Oncol*. 2019;45(4):679-83.
66. Rychlik A, Angeles MA, Migliorelli F, Croce S, Mery E, Martinez A, et al. Frozen section examination of sentinel lymph nodes can be used as a decisional tool in the surgical management of early cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2020;30(3):358-63.
67. Dostalek L, Slama J, Fisherova D, Kocian R, Germanova A, Fruhauf F, et al. Impact of sentinel lymph node frozen section evaluation to avoid combined treatment in early-stage cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2020;30(6):744-8.
68. Cibula D, Kuzel D, Slama J, Fischerova D, Dundr P, Freitag P, et al. Sentinel node (SLN) biopsy in the management of locally advanced cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2009;115(1):46-50.
69. Rob L, Strnad P, Robova H, Charvat M, Pluta M, Schlegerova D, et al. Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2005;98(2):281-8.
70. Altgassen C, Hertel H, Brandstadt A, Kohler C, Durst M, Schneider A, et al. Multicenter validation study of the sentinel lymph node concept in cervical cancer: AGO Study Group. *J Clin Oncol*. 2008;26(18):2943-51.

Seznam zkratek

- AD – adenokarcinom („adenocarcinoma“)
- AS – adenoskvamózní karcinom („adenosquamous cancer“)
- BD – patentní modř („blue dye“)
- BMI – index tělesné hmotnosti („body mass index“)
- CI – interval spolehlivosti („confidence interval“)
- DFS – přežití bez nemoci („disease-free survival“)
- DOI – hloubka stromální invaze („depth of stromal invasion“)
- DR – úspěšnost detekce („detection rate“)
- ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group
- FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics
- FNR – falešná negativita („false negative rate“)
- FS – vyšetření pomocí metody zmrazených řezů („frozen section“)
- HE – hematoxylin a eozin („hematoxylin eosin“)
- IHC – imunohistochemie („immunohistochemistry“)
- ICG – indocyaninová zeleň („indocyanine green“)
- ITC – izolované nádorové buňky („isolated tumor cells“)
- LN – lymfatická uzlina („lymph node“)
- MAC – makrometastáza („macrometastasis“)
- MIC – mikrometastáza („micrometastasis“)
- non-SLN – nesentinelová uzlina („nonsentinel lymph node“)
- NPV – negativní prediktivní hodnota („negative predictive value“)
- OR – poměr šancí („odds ratio“)
- OS – celkové přežití („overall survival“)
- PS – výkonnostní stav („performance status“)
- RFS – přežití bez známek recidivy („recurrence-free survival“)
- PFS – přežití bez progresivního onemocnění („progression-free survival“)
- RC – radiokoloid („radiocolloid“)
- RecR – četnost recidiv („recurrence rate“)
- RR – relativní riziko („relative risk“)

SCC – dlaždicobuněčný karcinom („squamous cell cancer“)

SLN – sentinelová uzlina („sentinel lymph node“)

SLNB – biopsie sentinelové uzliny („sentinel lymph node biopsy“)

TFD – minimální vzdálenost mezi nádorem a pericervikální fascií („tumor free distance“)

UD – nediferencovaný (“undifferentiated”)

Přílohy (publikace autora):

- 1. Kocian R**, Slama J, Fischerova D et al. Micrometastases in Sentinel Lymph Nodes Represent a Significant Negative Prognostic Factor in Early-Stage Cervical Cancer: A Single-Institutional Retrospective Cohort Study. *Cancers (Basel)*. 2020;12(6):1438. IF= 6.162
- 2. Kocian R**, Význam sentinelové uzliny u pacientek s časným karcinomem děložního hrdla. *Česká Gynekologie*. 2020;35(85):344-351. Souhrnný článek bez IF
- 3. Cibula D, Kocian R, Plaikner A et al.** Sentinel lymph node mapping and intraoperative assessment in a prospective, international, multicentre, observational trial of patients with cervical cancer: The SENTIX trial. *Eur J Cancer*. 2020;137:69-80. IF= 7.275
- 4. Dostálek L, Zikan M, Fischerova D, Kocian R, Germanova A, Frühauf F et al.** SLN biopsy in cervical cancer patients with tumors larger than 2 cm and 4 cm. *Gynecologic Oncology*. 2018;148(3):456-460. IF= 4.623
- 5. Cibula D, Dusek J, Jarkovsky J, Dundr P, Querleu D, van der Zee A et al.** A prospective multicenter trial on sentinel lymph node biopsy in patients with early-stage cervical cancer (SENTIX). *International Journal of Gynecologic Cancer*. 2019;29(1):212-215. IF= 1.746