

**STUDIO PROSPETTICO MULTICENTRICO
“VALORE PREDITTIVO DEL LINFONODO SENTINELLA
(SN) PRELEVATO CON PROCEDURA MINI-INVASIVA O
LAPAROTOMICA NELLA STADIAZIONE
DEL TUMORE COLICO INIZIALE”**

Sperimentatore principale

Bruno Andreoni

Divisione Chirurgia Generale - Istituto Europeo di Oncologia

Via Ripamonti 435 – 20141 Milano

e-mail: bruno.andreoni@ieo.it

Coordinamento organizzativo

Paolo Pietro Bianchi

Unità Operativa Chirurgia Generale - Istituto Clinico Humanitas

Via Manzoni 56 – 20089 - Rozzano (Milano)

e-mail: paolopietro.bianchi@fastwebnet.it

Anatomia Patologica

Angelica Sonzogni

Divisione Anatomia Patologica - Istituto Europeo di Oncologia

e-mail: angelica.sonzogni@ieo.it

Endoscopia

Cristiano Crosta

Divisione Endoscopia - Istituto Europeo di Oncologia

e-mail: cristiano.crosta@ieo.it

Data Managers

Antonella Perilli / Darina Tamayo

Divisione Chirurgia Generale - Istituto Europeo di Oncologia

e-mail: antonella.perilli@ieo.it; darina.tamayo@ieo.it; segreteria.studigiscor@ieo.it

RAZIONALE

La stadiazione linfonodale rappresenta il fattore prognostico principale nel carcinoma coloretale. Infatti la sopravvivenza a 5 anni passa da circa 80 % nei pazienti con stadio N0 a circa 50% nei pazienti con stadio N1. I pazienti N0 non hanno un beneficio significativo dalla chemioterapia (CT) adiuvante, peraltro dal 20% al 40% di questi malati sviluppa, nei cinque anni successivi alla diagnosi, una malattia metastatica. I pazienti N+ trattati con CT adiuvante, invece, beneficiano di un miglioramento della sopravvivenza intorno al 33%. L'incidenza di metastasi linfonodali è circa il 45% in pazienti con carcinoma coloretale resecato e la sensibilità delle metodiche di stadiazione preoperatoria è ancora bassa. Pertanto lo standard della stadiazione linfonodale prevede la linfadenectomia radicale. A tutt'oggi l'intervento di resezione colo rettale deve avere una estensione tale da comprendere globalmente la via di drenaggio linfatico. L'elevata percentuale di pazienti N0 che sviluppano una progressione di malattia, ha indotto a pensare ad una sottostadiazione degli N0 con le tradizionali metodiche di studio linfonodale. Il problema principale è pertanto l'accuratezza della stadiazione linfonodale e la riduzione del rischio di sottostadiazione. Di importanza cruciale è il reperimento del maggior numero di linfonodi ed il metodo di analisi utilizzato dal patologo. I metodi più accurati (sezioni multiseriate, immunoistochimica e biologia molecolare) sono inapplicabili a tutti i linfonodi per il costo elevato ed il tempo richiesto per la loro esecuzione. Lo studio del linfonodo sentinella (SN) applicato alla chirurgia colica si inserisce nella prospettiva di selezionare i linfonodi da sottoporre ad una ultra – analisi.

Ruolo del linfonodo sentinella nella chirurgia colica e revisione della letteratura

Negli ultimi 8 anni la tecnica di studio del SN è divenuta la procedura standard nella stadiazione linfonodale del tumore della mammella e del melanoma cutaneo. Importanti trials clinici hanno dimostrato che la tecnica del SN raggiunge una accuratezza del 97% nella predittività dello stato linfonodale in queste neoplasie. La possibilità di identificare il primo o i primi linfonodi della via di drenaggio linfatico del tumore può evitare, nei casi in cui il linfonodo sia negativo ad un esame estemporaneo, una resezione estesa con asportazione radicale di tutti i linfonodi. Questa possibilità è valida per quei tumori che presentano una diffusione lineare di metastatizzazione linfonodale, come il melanoma ed il tumore della mammella; ciò risulta meno efficace nel caso in cui sia possibile un salto di stazione nel processo di diffusione linfatica.

Per quanto concerne lo studio del SN applicato alla chirurgia colo – rettale i dati della letteratura sono molto variabili. Le percentuali di identificazione dei SN variano dal 58% al 98%, anche se negli studi con le serie maggiori la percentuale di identificazione supera il 90%. Questa variabilità, analizzando a fondo i diversi studi, è diversamente spiegabile: iniziali errori tecnici di esecuzione della metodica; l'inclusione di neoplasie del retto medio ed inferiore, per le quali si rende necessaria una ampia mobilitazione del retto, con possibili danneggiamenti delle vie linfatiche; il timing di prelievo dei linfonodi e l'effetto della terapia neo adiuvante. Il secondo dato che emerge dalla letteratura riguarda la percentuale di falsi negativi (FN), le cosiddette skip metastasi. La variabilità è da 0% a 60% nei diversi studi, considerando lo studio linfonodale con il metodo tradizionale di colorazione ematossilina/eosina (E/E). Se inseriamo però anche il dato dei linfonodi ultrastadiati con le diverse metodiche, la percentuale di FN scende, sommando i dati degli studi principali, al 18%. Anche questa ampia variabilità può essere spiegata, considerando le diverse casistiche, con le precedenti motivazioni e soprattutto con l'inserimento di neoplasie in stadio avanzato (T4 o N1), per le quali lo studio del SN perde di significato. Nella serie più ampia pubblicata da Saha che valuta 198 pazienti, i FN sono il 10 %. In una recente review pubblicata da Mulsow, che analizza i lavori più importanti, la media di pazienti soprastadiati dopo studio del SN con metodica differente dalla colorazione E/E in 11 serie risulta del 19%. Il SN, quale unica sede di metastasi, si verifica nel 35% dei casi, mentre nel 5.5% dei casi è stata eseguita, grazie allo studio del SN, una linfadenectomia diversa da quella standard.

Riassumendo i dati della letteratura possiamo concludere che lo studio del SN in chirurgia coloretale consente una buona percentuale di identificazione dei linfonodi e gioca un ruolo determinante nella soprastadiazione della malattia, considerando sempre che il valore prognostico reale delle micrometastasi è ancora da dimostrare. Le percentuali di FN si riducono notevolmente se si selezionano i casi in stadio iniziale I e II. Il mappaggio linfatico consente inoltre una linfadenectomia SN-guidata più precisa.

Tecniche di identificazione del SN

La metodica più frequentemente utilizzata è stata quella che impiega l'iniezione sottosierosa del colorante vitale intraoperatoria. Il colorante maggiormente impiegato è la Linfazurina 1%. La metodica offre diversi vantaggi quali l'elevata specificità, la facilità di utilizzo con un breve periodo di apprendimento, mentre gli effetti collaterali sono minimi e i costi sono contenuti. La tecnica con tracciante radioattivo prevede l'inoculazione per via endoscopica, il giorno prima dell'intervento, a livello perilesionale, di particelle di albumina umana radiomarcate con ^{99m}Tc. In sede intraoperatoria una sonda rilevatrice di radiazioni identifica i linfonodi radioattivi sentinella. Questa metodica sembra presentare alcuni vantaggi tra cui: la minore rapidità di diffusione del tracciante nella via linfatica con quindi una maggiore precisione, e il minor rischio di mancata identificazione nei pazienti obesi. Alcuni studi riportano una maggiore percentuale di successo grazie all'utilizzo di una tecnica combinata.

Per quanto concerne l'applicazione della metodica in chirurgia mini-invasiva, in letteratura sono presenti solo due studi, che dimostrano, sebbene il numero di pazienti sia esiguo, una applicabilità della metodica anche nella chirurgia laparoscopica.

Conclusioni

Sulla base dell'esperienza favorevole della tecnica di studio del linfonodo sentinella nel trattamento del tumore della mammella e del melanoma, risulta di grande interesse verificare le potenziali applicazioni della stessa metodica nel tumore colo-rettale.

I vantaggi principali di questa metodica, se il suo valore predittivo venisse confermato, potrebbero essere:

- possibilità di studiare selettivamente il linfonodo sentinella con indagini patologiche di valutazione multiseriata ed immunoistochimica, così da rilevare le micrometastasi e migliorare la stadiazione;
- identificazione corretta mediante il mappaggio linfatico della via di diffusione linfatica, permettendo una linfadenectomia più precisa, eventualmente estesa a stazioni non comprese nella tecnica standard;
- nel caso del polipo cancerizzato, possibilità di prelevare e studiare con metodica poco invasiva il linfonodo sentinella e guidare la strategia terapeutica in senso resettivo o conservativo.

Il nostro protocollo intende valutare il valore predittivo del linfonodo sentinella nella stadiazione del cancro coloretale in fase I e II, escludendo le neoplasie in stadio clinico III, per le quali la determinazione del linfonodo sentinella risulta meno rilevante. Gli stadi III inoltre sono quelli gravati dal maggior numero di falsi negativi.

TIPO DI STUDIO

Studio prospettico multicentrico

DISEGNO DELLO STUDIO

OBIETTIVO PRINCIPALE

Determinazione del valore predittivo della metodica del linfonodo sentinella in termini di sensibilità, specificità ed accuratezza nella stadiazione del cancro colico non metastatico.

Qualora fosse dimostrato un significativo valore predittivo, lo studio del linfonodo sentinella (prelevato con metodica miniinvasiva) nei polipi maligni del colon dopo polipectomia “completa” potrebbe guidare la scelta clinica di chirurgia di radicalizzazione vs sorveglianza endoscopica.

OBIETTIVI SECONDARI

- a) Standardizzazione della tecnica e valutazione di fattibilità
- b) Valutazione dell'efficacia della metodica mininvasiva nel prelievo del linfonodo sentinella
- c) Studio del ruolo del linfonodo sentinella nella stadiazione del polipo cancerizzato dopo asportazione endoscopica
- d) Determinazione del tasso di falsi negativi (skip metastasi) nel tumore colico
- e) Quantificazione del tasso di micrometastasi linfonodali (upstaging) mediante lo studio del linfonodo sentinella con tecnica multilevel sectioning ed eventualmente immunohistochimica
- f) Riconoscimento delle tecniche più efficaci di identificazione del linfonodo (metodica radioimmunoguidata, metodica con colorazione vitale, metodica combinata)

CRITERI DI INCLUSIONE

- a) Pazienti con diagnosi istologica di adenocarcinoma stadio I e II del colon o sottoposti ad asportazione endoscopica di polipo cancerizzato ad alto rischio del colon.
- b) Età minima di 18 anni
- c) Stadiazione con colonscopia, Rx torace, ecografia o TC addome completo
- d) Rischio anestesiológico ASA 1-3
- e) Consenso informato

CRITERI DI ESCLUSIONE

- a) Presenza o sospetto di metastasi a distanza o metastasi linfonodali
- b) Pregressa resezione colica
- c) Controindicazioni all'anestesia generale (ASA 4)
- d) Patologie psichiche o neurologiche che possano impedire una consapevole partecipazione ad uno studio clinico

PROCEDURE

I fase – Valutazione della tecnica con colorante vitale [Blue patent V Guerbet (soluzione iniettabile 2.5%)].

*** Laparoscopia**

- Ispezione completa della cavità peritoneale e della superficie epatica. Identificazione della lesione colica. Ecografia intraoperatoria dove disponibile.

*** Laparotomia**

- Ispezione visiva e manuale del fegato, identificazione della lesione neoplastica. Ecografia intraoperatoria dove disponibile.

*** Laparoscopia/laparotomia**

- Iniezione peritumorale di circa 2 ml di colorante isosolfan blu (blue patent V Guerbet).
- Identificazione dei primi linfonodi colorati di blu (massimo 4) e loro marcatura con punto di sutura o clip metallica.
- Nessuna dissezione chirurgica prima dell'iniezione del colorante. Nei pazienti obesi, ove sia difficoltosa la visione dei linfonodi blu, accurata dissezione del meso per esporre la via linfatica.
- Intervento resettivo colico secondo la tecnica standard con linfadenectomia radicale. Estensione della linfadenectomia ad eventuali linfonodi blu in sedi non standard.
- Invio separato dei linfonodi sentinella e loro studio con metodica standard, sezioni multiseriate ed eventuale test immunoistochimica.
- Confronto dell'analisi patologica dei SN con i restanti linfonodi asportati.
- Valutazione della sensibilità, specificità ed accuratezza della procedura.

II fase (dove disponibile) Valutazione della tecnica di biopsia linfonodale radioimmuno guidata

Le prime 5 linfoscintigrafie saranno finalizzate alla standardizzazione della tecnica:

- definizione del tracciante migliore da legare all'isotopo (TC99) [piccole particelle colloidali di albumina umana vengono drenate più velocemente mentre quelle più grandi si fissano più facilmente all'interno dei linfonodi, ma è necessario che intercorra un tempo più lungo tra inoculo e fissazione];
- definizione della dose adeguata da inoculare;
- standardizzazione della scala di segnale digitale della sonda rilevatrice di radiazioni;
- valutazione del timing adeguato di identificazione del SN e della sua marcatura.

Tecnica

- Il giorno prima dell'intervento, iniezione endoscopica perilesionale del tracciante.
- Linfoscintigrafia con scansioni precoci (15 e 30 min.) e tardive (2 e 18 ore).
- Rilevazione intraoperatoria con sonda rilevatrice di radiazione del SN e sua marcatura.
- Intervento resettivo secondo la tecnica usuale con linfadenectomia radicale.
- Invio separato dei linfonodi sentinella e loro studio con metodica standard, sezioni multiseriate ed eventuale test immunoistochimica.
- Confronto dell'analisi patologica dei SN con i restanti linfonodi asportati.
- Valutazione della sensibilità, specificità ed accuratezza della procedura.

Esame definitivo del SN

- I SN devono giungere in laboratorio a parte in un apposito contenitore in formalina 4%.
- I singoli SN devono essere isolati dal tessuto adiposo e, dopo accurata pulizia, sezionati in due metà lungo l'asse maggiore, se di spessore superiore a 0.5 cm. Il SN deve essere inviato intero se di spessore inferiore a 0.5 cm.
- I campioni devono essere appoggiati sul fondo dell'apposita cassetta con il versante tagliato (parte centrale del linfonodo) sul fondo.
- Inclusione del materiale in paraffina.
- Allestimento di sezioni dello spessore di 3-5 micron, ad intervalli di 200 micron fino ad esaurimento del materiale. Le sezioni verranno raccolte su vetrini pre-trattati per immunohistochimica.
- Colorazione delle sezioni con Ematossilina e Eosina.

Esame dei rimanenti linfonodi non sentinella

- Isolamento di tutti i rimanenti linfonodi periviscerali dal campione inviato in anatomia patologica (fissato o a fresco). Campionamento eseguito dal patologo mediante l'uso di liquido di Carnoy (chiarificazione), al fine di ottenere almeno 12 linfonodi.
- Taglio dei linfonodi in due metà lungo l'asse maggiore, se di spessore superiore a 0.5 cm. Posizionamento nelle apposite cassette con il versante di taglio verso il fondo, cercando di porre linfonodi di dimensioni simili nella stessa cassetta.
- Inclusione del materiale in paraffina.
- Allestimento di sezioni di 3-5 micron su tre livelli ad intervalli di 200 micron.
- Colorazione delle sezioni in E&E

Esame con tecnica immunohistochimica

- Si utilizzano le sezioni già colorate in E&E in cui vi sia un dubbio diagnostico.
- Colorazione immunohistochimica con anticorpo anti-CK a largo spettro.

Criteri di misurazione delle micrometastasi

- Le micrometastasi devono essere misurate lungo i tre assi dello spazio.

CONSIDERAZIONI STATISTICHE

Saranno calcolati i seguenti parametri:

$$\text{a) Detection rate} = \frac{\text{numero pazienti con SN riconosciuto}}{\text{numero pazienti operati}}$$

$$\text{b) Sensibilità} = \frac{\text{VP}}{\text{VP+FN}} = \frac{\text{SN Vero Positivo}}{\text{SN Vero Positivo} + \text{SN Falso Negativo}}$$

$$\text{c) Valore predittivo negativo} = \frac{\text{SN Negativo}}{\text{N pezzo Negativo} + \text{N pezzo Positivo}}$$

L'impatto delle tre differenti analisi del SN (E&E, sezioni multiseriate, sezioni immunoistochimiche) sarà calcolato ripetendo i calcoli di cui sopra.

Numero di pazienti

Il reclutamento annuale di pazienti con diagnosi di cancro colico in stadio I e II o polipo cancerizzato già asportato endoscopicamente con indicazione al trattamento chirurgico resettivo, atteso per centro è di circa 20 pazienti. Dopo l'arruolamento di 24 pazienti, se il SN fosse riconosciuto in meno di 9 pazienti, allora la tecnica di riconoscimento del SN verrebbe dichiarata non fattibile per detection rate non adeguato. Le prime analisi del campione saranno eseguite dopo 25 pazienti giudicati N+ dal patologo. Se 22 o meno SN risultassero positivi in questi 25 pazienti N+, la sensibilità sarebbe considerata insufficiente. Se 23 o più SN fossero positivi in questi 25 pazienti N+, allora la sensibilità sarebbe considerata sufficiente per proseguire lo studio. In altre parole, se più di 3 pazienti SN- / SN+ vengono riscontrati all'interno del numero totale di 25 paziente N+, bisogna prendere in seria considerazione l'eventualità di sospendere lo studio. Il numero totale di pazienti da arruolare deve superare almeno il valore di 25 N+, ed è quantificabile in 150 pazienti.

Valutazione del raggiungimento degli obiettivi

- a) Valutazione della percentuale di successo nell'identificazione del linfonodo con tecnica radioimmunoguidata, con colorante vitale o con tecnica combinata.
- b) Valutazione del numero medio di linfonodi sentinella identificati.
- c) Valutazione del numero di linfonodi sentinella falsi negativi dopo linfoadenectomia.
- d) Valutazione della applicabilità della metodica alla chirurgia mini – invasiva.

SINTESI FINALE DEL PROTOCOLLO

Allo stato attuale in base alle analisi della letteratura, è possibile affermare che l'esame del linfonodo sentinella è fattibile sia con la metodica del colorante vitale, che con il tracciante radioattivo. Non esistono dati significativi sul valore del linfonodo sentinella nel precisare la stadiazione in particolare relativamente al parametro N.

Lo studio proposto vuole definire il valore predittivo del linfonodo sentinella **senza per ora modificare le procedure standard di trattamento chirurgico** nei pazienti con carcinoma del colon in stadio clinico "iniziale". Se venisse documentato un significativo valore predittivo, l'esame del linfonodo sentinella consentirebbe, mediante un miglioramento della stadiazione patologica, di guidare la scelta di successivi trattamenti medici adiuvanti (attualmente la decisione di eseguire una eventuale chemioterapia precauzionale dipende dal riscontro N+ vs N-). Inoltre, una volta validata la metodica dello studio del SN prelevato con procedura miniinvasiva, l'esame del SN potrebbe guidare nella scelta clinica terapeutica nei pazienti con polipo maligno del colon dopo polipectomia "completa": nel caso di SN+, l'orientamento sarebbe verso una *chirurgia resettiva con linfoadenectomia*; mentre nel caso di SN-, potrebbe essere consigliabile solo una sorveglianza endoscopica.

Si ribadisce comunque che il protocollo dello studio multicentrico "Valore predittivo del linfonodo sentinella prelevato con procedura miniinvasiva o laparotomica nella stadiazione del tumore coloretale non metastatico" non intende modificare quello che attualmente è il trattamento chirurgico standard per il carcinoma coloretale.

BIBLIOGRAFIA

- Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999; 80: 827-841
- International Multicentre Pooled Analysis of B2 Colon Cancer Trials (IMPACT B2) investigators. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1356-1363
- Goldstein NS. Lymph node recoveries from 2427 pT3 colorectal resections specimens spanning 45 years: recommendations for a minimum number of recovered lymph nodes based on a predictive probabilities. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 179-189
- 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; 127:392-399
- Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, Viale G, Zurrida S, Bedoni M *et al.* Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* 1997; 349: 1864-1867
- Veronesi U, Paganelli G, Viale G, Luini A, Zurrida S, Galimberti V *et al.* A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med.* 2003 Aug7; 349(6): 546-53
- Wood TF, Tsioulis GJ, Morton DL, Ranger D, Hutchinson W Jr, Forshag LJ *et al.* Focused examination of sentinel lymph nodes upstages early colorectal carcinoma. *Am Surg* 2000; 66: 998-1003
- Saha S, Bilchik A, Wiese D, Espinosa M, Badin J, Ganatra BK *et al.* Ultrastaging of colorectal cancer by sentinel node mapping – a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2001; 8(Suppl): 94S-98S
- Bilchik AJ, Saha S, Wiese D, Stonecypher, JA, Wood TF, Sostrin S *et al.* Molecular staging of early colon cancer on the basis of sentinel node analysis a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1128-1136
- Wiese DA, Saha S, Badin J, Ng PS, Gauthier J, Ahsan A *et al.* Pathologic evaluation of sentinel lymph nodes in colorectal carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 1759-1763
- Saha S, Wiese D, Badin J, Beutler T, Nora D, Ganatra BK *et al.* Technical details of sentinel node lymph node mapping in colorectal cancer and its impact on staging. *Ann Surg Oncol* 2000; 7:120 – 124
- Merrie AE, van Rij AM, Philips LV, Rossaak JL, Yun K, McCall JL. Diagnostic use of the sentinel node in colon cancer. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 410-417

- Wong JH, Steineman S, Calderia C, Bowles J, Namiki T. *Ex vivo* sentinel node mapping in carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg* 2001; 233: 515-521
- Cserni G, Vajda K, Tartan M, Bori R, Svebis M, Baltas B. Nodal staging of colorectal carcinomas from quantitative aspects. Can lymphatic mapping help staging? *Pathos Oncol Res* 1999; 5: 291-296
- Joosten JJA, Strobbe LJA, Wauters CAP *et al.* Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma. *Br J Surg* 1999; 86: 482-486
- Waters GS, Geisinger KR, Garske DD, Loggie BW, Levine EA. Sentinel lymph node mapping for carcinoma of the colon: a pilot study. *Am Surg* 2000; 66:943-945
- Paramo JC, Summerall J, Wilson C, Cabral A, Willis I, Wodnicki H *et al.* Intraoperative sentinel lymph node mapping in patients with colon cancer. *Am J Surg* 2001; 182:40-43
- Esser S, Reilly WT, Riley LB, Eyvazzadeh C, Arcona S. The role of sentinel lymph node mapping in patients with colon cancer. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 850-854
- Feig BW, Culey S, Lucci A, Hunt KK, Vauthey JN, Mansfield PF *et al.* A caution regarding lymphatic mapping in patients with colon cancer. *Am J Surg* 2001; 182: 707-712
- Bendavid Y, Latulippe JF, Younan RJ, Leclerc YE, Dube S, Heyen F *et al.* Phase I study on sentinel lymph node mapping in colon cancer: a preliminary report. *J Surg Oncol* 2002; 79:81-84
- Gandy CP, Biddlestone LR, Roe AM, O'Leary DP. Intra-operative injection of Patent Blue V dye to facilitate nodal staging in colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2002; 4: 447-449
- Wood TF, Spirt M, Ranger D, Shen P, Tsioulis GJ, Morton DL *et al.* Lymphatic mapping improves staging during laparoscopic colectomy for cancer. *Surg Endosc* 2001; 15: 715-719
- Mulsow J, Winter DC, O'Keane C, O'Connell PR. Sentinel lymph node mapping in colorectal cancer. *Br J Surg* 2003; 90: 659-667
- Saha S, Dan A, Barman B, Wiese D, Schochet E, Barber K, Choudhri S *et al.* Lymphazurin 1% versus 99mTc sulfur colloid for lymphatic mapping in colorectal tumors: a comparative analysis. *Ann Surg Oncol* 2004; 11:21-26.
- Wong Jan H, Johnson D, Scott, Namiki T, Tauchi-Nishi P. Validation of ex vivo lymphatic mapping in hematoxylin-eosin node-negative carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg Oncol* 2004; 11(8): 772-777
- Morton Donald L. Sentinel node mapping and an international sentinel node society: current issues and future directions. *Ann Surg Oncol*, 11(3): 137S-143S
- Bertagnolli M, Miedema B, Redstone M, Dowell J *et al.* Sentinel node staging of resectable colon cancer. Results of a multicenter study. *Ann Surg* 2004; 240: 624-630

- Andreoni B, Crosta C, Bianchi P. et al. La strategia del linfonodo sentinella nel trattamento dei polipi maligni del colon retto. Archivio ed atti della Società Italiana di Chirurgia 2004; Volume 1°: 93-114

- Braat AE, Oosterhuis JWA, Moll FCP, de Vries JE. Successful sentinel node identification in colon carcinoma using Patent Blu V. EJSO 2004; 30: 633-637

- Broderick-Villa G, Amr D, Haigh PI, O'Connell TX, Danial T, Difronzo LA. Ex vivo Lymphatic mapping: a technique to improve pathologic staging in colorectal cancer. Am J Surg 2004; 70(11): 937-41

- Saha S, Monson KM, Bilchik A *et al.* Comparative analysis of nodal upstaging between colon and rectal cancers by sentinel lymph node mapping: a prospective trial. Dis Colon Rectum 2004; 47(11): 1767-72

- Andreoni B, Risio M, Segnan N, et al. Trattamento polipi maligni e polipi ad alto rischio del colon retto. Atti Convegno Istituto Europeo di Oncologia, gennaio 2004 (www.ieo.it).

- Saha S, Seghal R., Patel M, *et al.* A multicenter trial of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer: prognostic implications for nodal staging and recurrence trial. Am J Surg 2006; 191: 305-10

- Redston M, Compton CC, Miedema BW, *et al.* Leukemia Group B Trial 80001. Analysis of micrometastatic disease in sentinel lymph nodes from respectable colon cancer: results of Cancer and Leukemia Group B Trial 80001. J Clin Oncol. 2006 20; 24: 878-83.