

GANGLIO CENTINELA DE MAMA HÍBRIDO

Fabiola Portugal¹

Daniel González²

Juan Cossa³

Enzo Silvera¹

Mirel Cabrera⁴

Juan Carlos Hermida¹

Omar Alonso¹

Pablo Cabral⁴

Juan Pablo Gambini¹

1. Centro de Medicina Nuclear e Imagenología Molecular, Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Universidad de la República.
2. Cooperativa Médica Florida (COMEF), Florida, Uruguay.
3. Clínica Quirúrgica A, Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Universidad de la República
4. Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Dirección: Centro de Medicina Nuclear e Imagenología Molecular, Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Avenida Italia 11600, Montevideo, Uruguay

Correo Electrónico del Autor: fabiolaportugal@outlook.com

Profesión del Autor: Médico – Posgrado de Medicina Nuclear e Imagenología Molecular

GANGLIO CENTINELA DE MAMA HÍBRIDO

Introducción: La estrategia del ganglio centinela (GC) de mama es una técnica ya validada la cual permite identificar aquel ganglio que presenta mayor probabilidad de albergar metástasis. El objetivo de nuestro trabajo es describir nuestra experiencia con el trazador híbrido ^{99m}Tc nanocoloide indocianina verde (^{99m}Tc -NC-ICG) en GC de mama.

Materiales y métodos: A 26 pacientes de sexo femenino portadoras de cáncer de mama se les realizó el procedimiento de GC empleando el trazador híbrido ^{99m}Tc -NC-ICG. En el intraoperatorio el GC se localizó empleando el gamma probe y equipo de detección de fluorescencia desarrollado.

Resultados: El ^{99m}Tc -NC-ICG permitió la identificación preoperatoria del SN mediante imágenes centellográficas y SPECT-CT. Se identificaron y extirparon 57 GC, todos ellos radiactivos y fluorescentes.

Conclusiones: Todos los procedimientos se realizaron sin complicaciones ni efectos adversos. El trazador híbrido añade un componente visual al procedimiento que ayuda a los cirujanos a localizar y extirpar los GC.

Palabras clave: ganglio centinela, cáncer de mama, trazador híbrido, imágenes fluorescencia.

HYBRID BREAST SENTINEL NODE

Introduction: Breast sentinel node (SN) strategy is a validated technique that allows identification of the most likely lymph node to harbor metastases. The aim of our work is to describe our experience with the use of the hybrid tracer, ^{99m}Tc nanocolloid indocyanine green (^{99m}Tc -NC-ICG), in breast SN procedures.

Materials and methods: 26 female patients with breast cancer underwent a SN procedure using the ^{99m}Tc -NC-ICG as tracer. Intraoperatively, the SN were localized using the gamma probe and our own fluorescence detection system.

Results: ^{99m}Tc -NC-ICG allowed preoperative identification of the SN by scintigraphic imaging and SPECT-CT. Fifty-seven SNs were identified and removed, all of which were radioactive and fluorescent.

Conclusions: All procedures were performed without complications or adverse effects. The hybrid tracer adds a visual component to the procedure that helps surgeons to locate and remove the SNs.

Keywords: sentinel node, breast cancer, hybrid tracer, fluorescence imaging

GANGLIO CENTINELA DE MAMA HÍBRIDO

INTRODUCCIÓN

Las estadísticas sobre el cáncer a nivel mundial ponen en evidencia que el cáncer de mama es el tumor maligno entre mujeres con mayor incidencia y mortalidad (1). La instauración de políticas sanitarias destinadas a la prevención y detección temprana del cáncer de mama ha generado un aumento del diagnóstico y consecuentemente una mayor necesidad de tratamiento en etapas tempranas y subclínicas. El diagnóstico de cáncer de mama se basa en el denominado “trípode diagnóstico” constituido por un pilar clínico, uno imagenológico y uno anatomopatológico. En Uruguay, 1 de cada 10 mujeres desarrollará cáncer de mama. Cada día 5 mujeres uruguayas son diagnosticadas con cáncer de mama y 2 mujeres mueren a causa de él (2). El diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama es de carácter multidisciplinario, por lo que se requiere la intervención de equipos multidisciplinarios conformados por cirujanos mastólogos expertos en el área, imagenólogos, radioterapeutas, oncólogos clínicos, médicos nucleares, psiquiatras y psicólogos entre otros. Fisher y Veronesi fueron los responsables de instaurar un cambio significativo en la visión radical del tratamiento del cáncer de mama (3,4). Estos cuestionaron el tratamiento loco regional tan radical, exponiendo que la diseminación a distancia era la principal causa del pronóstico a largo plazo. Es así como surge la tendencia de enfocarse en una cirugía cada vez menos cruenta, con la intención de conservar la mama a través de un abordaje quirúrgico lo más ahorrador posible (tumorectomía, cuadrantectomía o mastectomía segmentaria). Estos avances quirúrgicos se han acompañado de adelantos terapéuticos en quimio, radio y hormonoterapia. Otro aspecto para destacar es la estadificación axilar, situación que atañe a esta investigación. El estado de los ganglios linfáticos axilares es un factor pronóstico de alta relevancia dado que influye en la toma de decisiones sobre el tratamiento a realizarse. A medida que los ganglios se ven afectados en mayor extensión, al margen del tamaño del tumor, la supervivencia de las mujeres se ve fuertemente mermada (5). El concepto de ganglio centinela (GC) fue acuñado inicialmente por Cabañas (6) en 1977 en pacientes con cáncer de pene, estableciendo que cuando el primer ganglio de drenaje linfático del tumor no está afectado es muy poco probable que el resto de los ganglios presentes en el mismo territorio lo estén. En 1994, Giuliano (7) extendió la idea del mapeo del ganglio linfático centinela para el cáncer de mama, y se consolida la importancia del GC en pacientes con axila clínicamente negativa (8). Siguiendo la idea originalmente descrita, el GC es aquel que recibe el drenaje linfático directamente del tumor de mama, por lo que las metástasis ganglionares ocurren de forma ordenada al diseminarse primero hacia el GC y posteriormente a las siguientes estructuras ganglionares de la región. En pacientes con GC negativos para metástasis, la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) evita la disección de los linfáticos axilares (ALND). Este último procedimiento ha reemplazado a la ALND de rutina en mujeres con axila clínicamente negativa. De inicio, la BSGC se realizó con una serie de colorantes, sin embargo, la introducción de radiotrazadores como el ^{99m}Tc nanocoloide permitió la visualización del drenaje linfático en el preoperatorio, empleando para este acto las imágenes centellográficas planares y más recientemente imágenes SPECT/CT (9). Todo

este procedimiento se convierte en una “hoja de ruta” para los cirujanos, guiándolo hacia los ganglios con mayor probabilidad de estar afectados y que pudiera albergar metástasis. A través de este método es posible visualizar ganglios regionales que reciben el drenaje linfático directamente del tumor, siendo a veces posible visualizar las vías linfáticas que los conectan. Estos ganglios serán considerados los GC. De inicio, en el acto quirúrgico, la localización, identificación y remoción del GC se realizará con la ayuda de un gamma probe, un detector sensible a las radiaciones gamma emitidas por la acumulación del radiotrazador en el GC, emitiendo una señal acústica a medida que el probe se aproxima al GC. Con relación a las sustancias fluorescentes empleadas en la identificación del GC, se destaca principalmente a la indocianina verde (ICG) por la mayor cantidad de investigaciones que se tiene sobre su uso en el campo de la imagenología molecular (10) así como se empleo en procedimientos de ganglio centinela de mama (11). La ICG es un colorante tricarbocianino, que fue desarrollado por Kodak Research Laboratories para ser empleado en la fotografía en el infrarrojo cercano en 1955 y luego fue aprobado en 1956 por la FDA para su uso clínico (12). Destaca su buena tolerancia, pocos efectos adversos, alergia y baja toxicidad (13). Luego de su administración intravenosa, la ICG se une a las proteínas plasmáticas, para luego ser captada por el hígado y ser eliminada por vía biliar, no sufriendo la recirculación enterohepática (10). Desde el punto de vista de su fluorescencia, la ICG es excitada entre 760 y 785 nm y emite entre 820 y 840 nm(14). El desarrollo del trazador híbrido radioactivo y fluorescente, ^{99m}Tc nanocoloide ICG, presenta los beneficios de los dos métodos de imagen habiéndose empleado con éxito en la búsqueda del GC (15,16). El trazador híbrido le permite al cirujano contar con más información durante la cirugía. Durante el intraoperatorio, la identificación del GC se realiza habitualmente empleando el gamma probe, el cual emite una señal auditiva que aumenta de intensidad a medida que se acerca al ganglio centinela donde se ha concentrado toda la actividad. Este equipo es sensible para detectar las radiaciones gamma emitidas por el radiotrazador, sin embargo, su resolución espacial es pobre. La incorporación al procedimiento de un componente de imagen como lo son las imágenes de fluorescencia brinda al cirujano otra herramienta para lograr identificar y remover el GC. Su empleo no aumenta significativamente la duración del acto quirúrgico y le permite visualizar en la pantalla qué estructura remover con una alta precisión. El empleo de la ICG durante el intraoperatorio no tiñe el campo operatorio como ocurre con otros colorantes vitales. Después de la remoción del GC, este debe ser referido a anatomía patológica para la búsqueda de alteraciones celulares indicativas de metástasis. Este procedimiento permite estadificar los ganglios axilares con alta precisión. Al tratarse de un método menos invasivo, la morbilidad asociada a la ALND como ser el linfedema, las parestesias en el brazo y la limitación del movimiento en el hombro (17) se reducen drásticamente. La ALND está vinculada con alto porcentaje de complicaciones agudas (20%-30%) y crónicas (37%) (18,19). Este hecho es de principal interés pues en aquellos casos en el que las axilas son clínicamente negativas y no tienen metástasis ganglionares identificables, no se beneficiarían de una ALND. Teniendo en cuenta estos antecedentes, nuestro objetivo es llevar adelante la implementación de esta técnica en nuestro medio y analizar la aplicación del trazador híbrido, radioactivo y fluorescente en la BSGC de mama.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo de 26 pacientes sometidas a BSGC de mama con el trazador híbrido ^{99m}Tc -nanocoloide-indocianina verde. Se incluyeron a pacientes del sexo femenino de 19 a 80 años, portadoras de cáncer de mama en la biopsia preoperatoria, con un diámetro tumoral por imagen ≤ 5 cm (cT1–T2) y axila clínicamente negativa. Se excluyeron a los casos con presencia de ganglios axilares palpables, cáncer de mama multicéntrico, procesos inflamatorios locales, embarazo, lactancia, hipersensibilidad conocida a la albúmina humana y/o ICG y sus excipientes. Se empleó un equipo portátil (de elaboración propia) para la detección de fluorescencia emitida por la ICG en el infrarrojo cercano. El mencionado sistema posee las siguientes características y disposición (**Tabla 1, Figura 1**). Este equipo posee como fuente de excitación un led centrado en el infrarrojo cercano asociado a un filtro pasabanda de 780 nm. Luego para la detección de la fluorescencia empleamos un filtro centrado en los 830 nm asociado a una cámara CCD. La distancia óptima de trabajo es de unos 300 mm y el campo de visión es de 150 x 130 mm. El tiempo de integración de las imágenes se encuentra entre los 3 y 60 fps. Con respecto a la síntesis del trazador híbrido, ^{99m}Tc nanocoloide indocianina verde, el mismo se llevó adelante sobre la base de las normas de buena preparación de medicamento. En primer lugar, el generador de ^{99m}Tc proporcionó una solución estéril, transparente y sin pirógenos de pertecnetato de sodio ^{99m}Tc (740 MBq) inyectable en cloruro de sodio (0,4 ml). Posteriormente, este eluido se añadió al vial comercial que contenía el nanocoloide de albúmina (0,5 mg) para obtener ^{99m}Tc -nanocoloide-indocianina verde. Luego se evaluó la pureza radioquímica mediante cromatografía de capa fina para verificar que la suspensión lista para usar no contenía más del 5% de pertecnetato de ^{99m}Tc libre. Consecutivamente, se agregaron 5 ml de agua destilada a un vial de ICG de 25 mg obteniendo una solución de concentración final de 5 mg/ml. Finalmente, se añadieron 0,4 ml de ICG reconstituido (0,25 mg) al vial de ^{99m}Tc -nanocoloide y se agitó suavemente. Después de 10 minutos de incubación, se examinaron las características organolépticas de la solución, que debían ser las de una solución homogénea con coloración verde. Al igual que con ^{99m}Tc nanocoloide, la cromatografía en capa fina se verificó que la suspensión inyectable lista para usar no contenía más del 5% de pertecnetato de ^{99m}Tc libre. Entre 12-16 horas antes de la cirugía se procedió a la inyección de 3 mCi de ^{99m}Tc -nanocoloide-ICG de forma subcutánea en el mismo cuadrante de la mama donde se encontraba la lesión (**Figura 2**). Luego de la inyección se procedió a realizar imágenes centellográficas planares, vistas anterior y lateral así como SPECT/CT en un equipo SPECT/CT de 16 cortes para lograr la localización de GC. Posteriormente, el día de la cirugía, se concurrió con el gamma probe, junto al equipo portátil de detección de fluorescencia desarrollado. Previo a comenzar la cirugía se empleó el gamma probe, el cual emite una señal acústica de mayor intensidad a medida que se aproxima al ganglio centinela y se procede a marcar en piel el sitio de mayor actividad. Durante el acto quirúrgico, a través de una incisión mínima (de 2 cm) en piel, guiada por la marca previamente realizada, se procedió a disecar los planos celuloadiposos de la axila introduciendo el gamma probe para obtener una orientación en

dirección del GC. Una vez identificado, se comprobó que se tratara del GC con el equipo de detección de fluorescencia. En la **Figura 3** se pueden observar ejemplos de las imágenes de fluorescencia. Una vez removidas las estructuras ganglionares, se evaluó *ex vivo* bajo la misma premisa con gamma probe y equipo de detección de fluorescencia. Posteriormente el GC fue remitido a anatomía patológica para su análisis y estudio. Luego de la remoción del GC se procedió a analizar el lecho quirúrgico con el gamma probe y cámara de fluorescencia para cerciorarse de que no existieran otros ganglios radioactivos/fluorescentes presentes. El estudio del GC mediante la anatomía patológica permite concluir la presencia o ausencia de micrometástasis/macrometástasis, y/o ausencia de células tumorales aisladas. Estos resultados modificarán la terapéutica, por ejemplo, en nuestro medio la presencia de macrometástasis es una indicación de vaciamiento ganglionar axilar.

RESULTADOS

Se estudiaron 26 pacientes de sexo femenino portadoras de cáncer de mama con indicación de realización de procedimiento de ganglio centinela. La edad media de las mismas fue de 61 años. Todas las pacientes fueron inyectadas con el trazador híbrido ^{99m}Tc -nanocoloide-ICG no presentando complicaciones relacionadas con dicha inyección, siendo la misma bien tolerada. Las imágenes centellográficas planares, así como las de SPECT/CT mostraron migración del radiotrazador en todos los casos (26/26), pudiéndose observar la presencia de GC. Ninguna de las pacientes requirió ser reinyectado. Durante el acto operatorio se procedió a identificar el GC como se describió en material y métodos. De esta forma se pudo identificar al menos un GC en cada paciente. Se identificaron y removieron 57 GC, todos los GC extraídos eran radiactivos y fluorescentes tanto *in vivo* como *ex vivo*. Ninguna de las pacientes presentó complicaciones pre, intra o postoperatorias por el uso del radiotrazador híbrido o la instrumentación. En particular no hemos evidenciado complicaciones de tipo alérgicas ni secuelas relacionadas al uso de colorante (como el azul patente: tatuaje en sitio de inyección, orina azul, necrosis cutánea, anafilaxia, etc). Además, se pudo comprobar que la utilización del trazador híbrido no implicó un aumento significativo de tiempo operatorio

CONCLUSIONES

La BSGC de mama ha sido incorporado a la rutina asistencial. En el presente trabajo se describe nuestra experiencia empleando el trazador híbrido radioactivo fluorescente ^{99m}Tc -NC-ICG en procedimientos de GC de mama para lo cual se puso a punto su marcación y se desarrolló un sistema de detección de fluorescencia. Hemos demostrado que este procedimiento es factible de ser realizado en nuestro medio, de forma segura y eficiente siendo las imágenes intraoperatorias de fluorescencia con ICG fáciles de realizar y de interpretar. Este trazador híbrido permite realizar imágenes centellográfica preoperatoria y ser una guía en el intraoperatorio para la identificación y remoción del GC ya que combina las bondades del radiotrazador con las del trazador fluorescente. Hemos visto que muchas veces se torna difícil la

identificación del GC debido el alto índice de masa corporal de los pacientes o por encontrarse ante ganglios de un tamaño pequeño, que dificultan su localización. Es aquí donde vemos que la incorporación de imágenes de fluorescencia puede tener un rol más relevante, así como en la formación de recursos humanos que pueden sentirse más seguros al momento de realizar los procedimientos teniendo un componente visual como guía. El incorporar este trazador híbrido nos permitirá ganar experiencia para poder luego introducir trazadores oncoespecíficos híbridos en el block quirúrgico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394–424.
2. Comisión Honoraria de Lucha contra el Cáncer. http://www2.comisioncancer.org.uy/uc_213_1.html
3. Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, Deutsch M, Fisher ER et al Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer *N Engl J Med.* 2002 Oct 17;347(16):1233-41
4. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, et al. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med.* 2002 Oct 17;347(16):1227-32.
5. Yoshihara E, Smeets A, Laenen A, Reynders A, Soens J, Van Ongeval C et al. Predictors of axillary lymph node metastases in early breast cancer and their applicability in clinical practice. *Breast* 22: 357-361, 2013.
6. Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer.* 1977 Feb;39(2):456-66.
7. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg.* 1994 Sep;220(3):391-8; discussion 398-401.
8. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, Viale G, Zurrida S, Bedoni M, et al. Sentinel node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer patients with clinically negative lymph-nodes. *Lancet.* 1997;349:1864–7.
9. Lerman H, Metser U, Lievshitz G, Sperber F, Shneebaum S, Even Sapir E. Lymphoscintigraphic sentinel node identification in patients with breast cancer: the role of SPECT-CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2006;33:329–37.
10. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A, Pättilä T, Spillmann T, Tuchin VV et al. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging.* 2012;2012:940585.
11. Papathelemis T, Jablonski E, Scharl A, Hauzenberger T, Gerken M, Klinkhammer-Schalke M et al. "Sentinel Lymph Node Biopsy in Breast Cancer Patients by Means of Indocyanine Green Using the Karl Storz

12. Fox I, Brooker G, Heseltine D, Essex H, Wood E. New dyes for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Am J Physiol* 1956; 187:599
13. Hope-Ross M, Yannuzzi L, Gragoudas E, Guyer DR, Slakter JS, Sorensen JA et al. Adverse reactions due to indocyanine green. *Ophthalmology*. 1994;101:529–533.
14. Fox IJ, Wood EH. Indocyanine green: physical and physiologic properties. *Proc Staff Meet Mayo Clin*. 1960 Dec 7;35:732-44.
15. KleinJan GH, van Werkhoven E, van den Berg NS, Karakullukcu MB, Zijlmans HJMAA, van der Hage JA, et al. The best of both worlds: a hybrid approach for optimal pre- and intraoperative identification of sentinel lymph nodes. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2018 Oct;45(11):1915-1925.
16. Manca G, Garau LM, Mazzarri S, Mazzuca L, Muccioli S, Ghilli M et al. Novel Experience in Hybrid Tracers: Clinical Evaluation of Feasibility and Efficacy in Using ICG-99mTc Nanotop for Sentinel Node Procedure in Breast Cancer Patients. *Clin Nucl Med*. 2021 Apr 1;46(4):e181-e187.
17. Carter CL, Allen C, Henson DE: Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 63:181-187, 1989.
18. Fisher ER, Sass R, Fisher B: Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Project for Breast Cancers (protocol no. 4) *Cancer* 53:712-723, 1984.
19. Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, et al. Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised Phase 3 trial. *Lancet Oncology* 2010 Oct;11(10):927-33.

TABLA 1

| Fuente de Excitación | Recolección de Fluorescencia | Detector | Distancia de trabajo | Campo de Visión | Tiempo de Integración Tiempo de Frame por segundo (fps) |
|--|---|----------|----------------------|-----------------|--|
| IR LED centrado mediante filtros ópticos de paso de banda a 780 nm | Filtro paso de banda 812-852 nm, utilizando un filtro dicróico a 800 nm | CCD | 300 mm | 150 x 130 mm | 6-30 fps |

Tabla 1: Características del equipo de fluorescencia desarrollado.



Figura 1. Equipo portátil de detección de fluorescencia en el infrarrojo cercano.

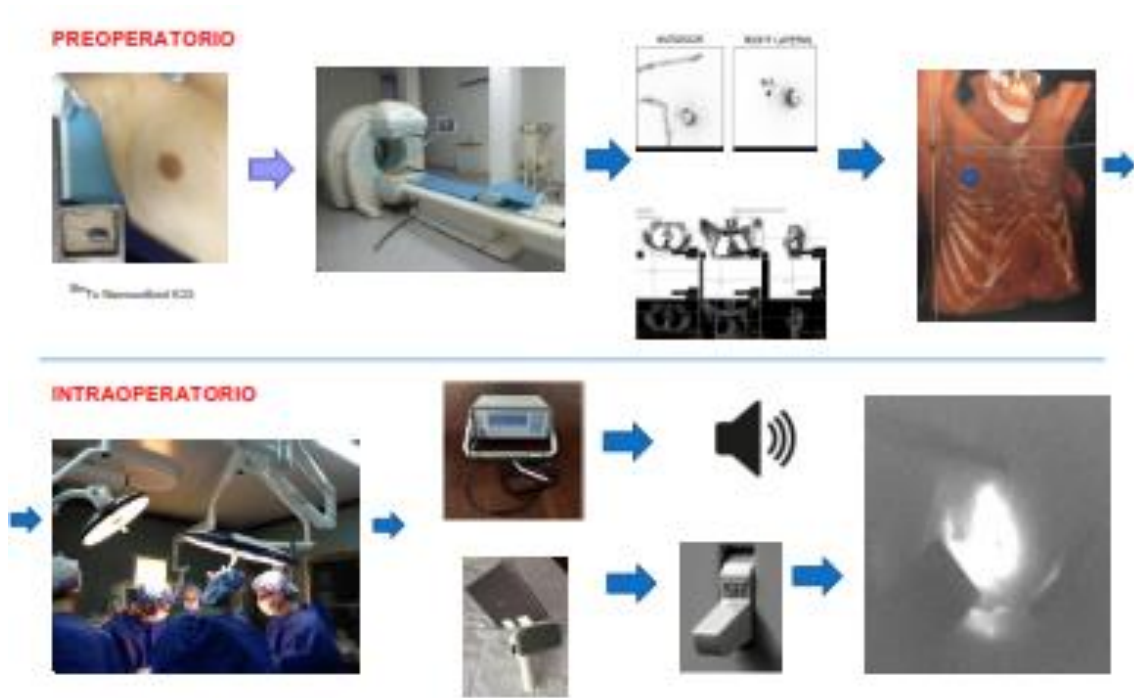


Figura 2. Descripción del procedimiento del ganglio centinela empleando el trazador híbrido ^{99m}Tc nanocoloide indocianina verde. El trazador híbrido se inyecta en el mismo cuadrante donde la paciente presenta el tumor, de forma peri areolar, subcutánea. Posteriormente se procede a realizar imágenes centellográficas en proyección anteroposterior y lateral para precisar hacia donde migra el trazador e identificar el GC. Asimismo, es posible realizar un estudio SPECT/CT que permite visualizar y correlacionar la captación del trazador en el GC con las estructuras anatómicas. Posteriormente en el block quirúrgico se emplea el gamma probe y el equipo portátil de detección de fluorescencia para la identificación del GC. A tener presente: el gamma probe emite una señal acústica cuya frecuencia aumenta a medida que se acerca al ganglio, no proporciona imágenes, pero no es atenuado por los tejidos. Las imágenes de fluorescencia poseen una alta resolución espacial, permitiendo identificar claramente al ganglio centinela, pero pueden ser atenuadas (ocultas) por tejidos superpuestos al ganglio. Si la luz producida por la cialíticas se apagan se logra una mejor apreciación de la fluorescencia.

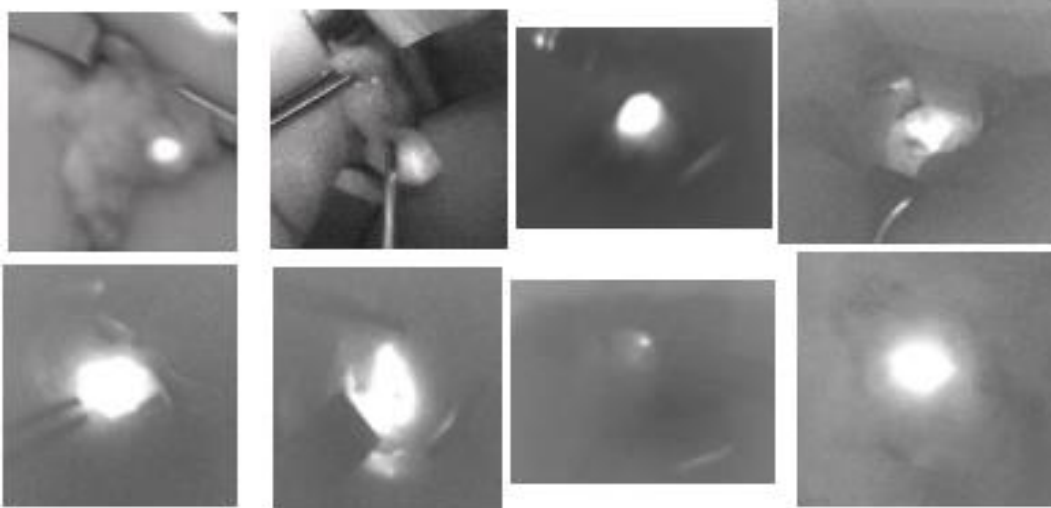


Figura 3. Ejemplos de imágenes de fluorescencia en el lecho quirúrgico donde se observa en blanco la presencia de los ganglios centinelas.