

Το δερματικό μελάνωμα, οι διαγνωστικές τεχνικές και η αξιολόγησή τους στη διάγνωση και χαρτογράφηση των φρουρών λεμφαδένων Μέρος Β'

**Πιπίτσα Βαλσαμάκη,
Αντώνιος Ζάγκλης,
Αλεξία Χατζηπέτρου**

Τμήμα Πυρηνικής Ιατρικής,
Νοσοκομείο «Παμμακάριστος»
Αθηνών

Λέξεις ευρετηρίου: Μελάνωμα
-Φρουρός Λεμφαδένας
-Λεμφοσπινθηρογράφημα
-Φορητός μετρητής
ραδιονουκλιδικής ανίχνευσης
-Τεχνική της κυανής χρωστικής

Διεύθυνση αλληλογραφίας:
Πιπίτσα Βαλσαμάκη
Τμήμα Πυρηνικής Ιατρικής
Νοσοκομείο «Παμμακάριστος»
Ιακωβάτων 43 Τ.Κ. 11144,
Αθήνα, Ελλάδα
E-mail: sgerali@gmail.com

Υποβλήθηκε:
30 Απριλίου 2009
Εγκρίθηκε τροποποιημένη:
4 Ιουνίου 2010

Περίληψη

Αναλύονται τα πλεονεκτήματα και η σωστή αξιολόγηση των ραδιονουκλιδικά καθοδηγούμενων τεχνικών αναζήτησης του φρουρού λεμφαδένα (ΦΛ) και της διεγχειρητικής χρήσης της κυανής χρωστικής στο δερματικό μελάνωμα (ΔΜ). Τα ποσοστά ανίχνευσης για το συνδυασμό των δύο τεχνικών κυμαίνονται σε 96%-98%. Η παρουσία καρκινικών κυττάρων στο ΦΛ μπορεί να διαπιστωθεί από τον ιστοπαθολόγο με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης ή με πιο ευαίσθητες τεχνικές για την ανίχνευση μικρομεταστάσεων, όπως ανοσοϊστοχημικές χρώσεις για δείκτες των επιθηλιακών κυττάρων και αναλύσεις βασισμένες στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης. Η βιοψία του φρουρού λεμφαδένα (ΒΦΛ) επιτρέπει την επιχώρια επιλεκτική λεμφαδενοεκτομή στο ίδιο χειρουργικό πεδίο.

Hell J Nucl Med 2010; 13(2):191-196 • Published on line: 22-6-2010

Η διεγχειρητική τεχνική της κυανής χρωστικής

Η μέθοδος στηρίζεται στην ενδογενή ανοσολογική ανταπόκριση, όπως ακριβώς συμβαίνει με τα ραδιοκολλοειδή, και έχει επιχειρηθεί η χρήση διαφόρων κυανών χρωστικών, όπως είναι η isosulfan blue (λεμφαζουρίνη, CAS number: 68238-36-8), η patent blue-V (calcium chelated dimer: CAS number: 3536-49-0) και το κυανό του μεθυλενίου (anhydrous methylene blue: CAS number: 61-73-4 και methylene blue trihydrate: CAS number: 7220-79-3) [1]. Για το κυανό του μεθυλενίου, αναφέρεται ότι σε τοπική εφαρμογή πρέπει να ενίεται σε βάθος, επειδή σε ενδοδερμική χορήγηση μπορεί να προκαλέσει βαριά νέκρωση [2]. Ακόμη, υποστηρίζεται ότι δε συνδέεται με τις πρωτεΐνες του πλάσματος, καθώς δεν έχει ομάδες σουλφονικών οξέων και επομένως, δεν προσλαμβάνεται από τη λέμφο, αλλά διαχέεται άμεσα στα αιμοφόρα τριχοειδή, ώστε η χρήση του ως παράγοντα λεμφικής χαρτογράφησης είναι περιορισμένη. Καλύτερες αποδείχθηκαν οι χρωστικές isosulfan blue και patent blue-V, οι οποίες και καθιερώθηκαν για τη διεγχειρητική λεμφική χαρτογράφηση [3-8]. Όταν ενίονται ενδοδερμικά, εισχωρούν ταχέως στα λεμφαγγεία, ενώ ελάχιστα διαχέονται στους περιβάλλοντες μαλακούς ιστούς. Το έντονο μπλε χρώμα τους φαίνεται αμέσως, διευκολύνοντας την αναγνώριση των λεμφικών καναλιών. Παραδοσιακά, η μέθοδος για την απεικόνιση του ΦΛ διενεργείται με την ενδοδερμική ή υποδερμική χορήγηση της κυανής χρωστικής, σε ποσότητα 1,5-2mL, 5-10min πριν από την έναρξη της επέμβασης ή διεγχειρητικά κοντά στην περιοχή της πρωτοπαθούς εστίας ή εκατέρωθεν της μετεγχειρητικής ουλής. Τα προσαγωγά λεμφαγγεία διαφαίνονται από το ανέγγιχτο δέρμα ως κυανές γραμμές και ο ΦΛ χρωματίζεται κυανός, λόγω της φαγοκυττάρωσης της χρωστικής από τα επιχώρια μακροφάγα κύτταρα. Η ανύψωση των δερματικών κρημών πριν από την έγχυση της χρωστικής επιτρέπει την επισκόπηση της ταχείας πρόσληψης και της πρόδου της χρωστικής δια των λεμφαγγείων ως το ΦΛ. Ο χρόνος της έγχυσης της χρωστικής είναι κρίσιμος για την επιτυχία της διαδικασίας. Αν ενεθεί πολύ νωρίς, ο εκτεταμένος κυανός χρωματισμός των λεμφαδένων καθιστά αδύνατη την εντόπιση του ΦΛ. Από την άλλη μεριά, αν χορηγηθεί πολύ αργά, η ενδεχόμενη ακούσια καταστροφή των λεμφικών καναλιών κατά τους χειρουργικούς χειρισμούς, μπορεί να αναχαιτίσει την πορεία της χρωστικής προς το ΦΛ [7-9]. Γενικά η επέμβαση προγραμματίζεται, ώστε να συμπίπτει με την άφιξη της χρωστικής στη λεμφαδενική δεξαμενή που διερευνάται, δηλαδή περίπου 15min μετά τη χορήγηση του φαρμάκου- post-injection- (p.i.). Ο αναγκαίος αυτός χρονικός περιορισμός συνιστά βασικό μειονέκτημα της τεχνικής. Εντούτοις από πολύ νωρίς αναφέρονται ικανοποιητικά αποτελέσματα, με 67%-90% αναγνώριση του ΦΛ σε πάσχοντες από αρχικού σταδίου ΔΜ κεφαλής και τραχήλου, όπου μάλιστα η λεμφική παροχέτευση είναι σχετικά πολύπλοκη [10-11]. Η λεμφική χαρτογράφηση με κυανή χρωστική μπορεί σύμφωνα με τα παραπάνω, να είναι δυσχερής και απαιτεί καλή εκπαίδευση των γιατρών. Ιδιαίτερα, η εντόπιση των ΦΛ σε λεμφαδενικές θέσεις εκτός του επιφανειακού λεμφαγγει-

ακού δικτύου δεν είναι συνήθως εφικτή [8-10]. Η έκταση της διατομής και της καταστροφής των καναλιών ενδέχεται να είναι μεγαλύτερη χειρουργικώς όταν δε χρησιμοποιείται η ραδιονουκλιδικά καθοδηγούμενη χειρουργική.

Με την αυξανόμενη χρήση της τεχνικής της κυανής χρωστικής, οι μελέτες και αναφορές ανεπιθύμητων ενεργειών έχουν γίνει συχνότερες και αφορούν κυρίως σε αναφυλακτικές αντιδράσεις στις ανωτέρω χρωστικές [1-6]. Συγκεκριμένα, πρόσφατα ερευνητές υπέδειξαν ένα μηχανισμό αντίδρασης μέσω της ανοσοσφαιρίνης E (immunoglobulin E- IgE) σε ασθενείς με προηγηθείσες αναφυλακτικές αντιδράσεις στη χρωστική isosulfan blue, αν και παλαιότερες δημοσιεύσεις θεώρησαν τις αντιδράσεις αυτές ψευδοαλλεργικές [12]. Γενικά, οι αναφερόμενες παρενέργειες που συνοδεύουν την τεχνική της κυανής χρωστικής περιλαμβάνουν [2, 4, 5, 7, 12-13]: α) δερματικό εξάνθημα, κυρίως σε ασθενείς με ιστορικό αλλεργικής αντίδρασης, β) κυανό ή πράσινο αποχρωματισμό των ούρων, ως αρκετές ώρες μετεγχειρητικά, γ) παροδική ή παρατεταμένη παραμονή κυανού χρωματισμού στο δέρμα, ενίοτε ολόσωμο, που μπορεί να προκαλέσει μετέγχευση με υπερκαπνία ή πνευμονική εμβολή, και δ) αναφυλακτική αντίδραση (0,015%). Το ποσοστό της αναφυλαξίας στην isosulfan blue είναι περίπου 1%, αλλά ως γνωστό η αναφυλαξία μπορεί να αποβεί μοιραία, αν δεν αναγνωριστεί και αντιμετωπιστεί ταχέως. Επομένως, συνιστάται να ενημερώνεται ο αναισθησιολόγος για την έγχυση της χρωστικής. Εντούτοις, ενώ η γνώση των ανεπιθύμητων ενεργειών τεχνικών, οι οποίες εφαρμόζονται ευρέως, είναι αναμφίβολα πολύτιμη, πρέπει να τονιστεί ότι στην περίπτωση των κυανών χρωστικών, εξίσου συνετό είναι να χρησιμοποιείται η σωστή ορολογία για κάθε χρωστική, βάσει των ειδικών αριθμών (CAS ή CI) και να μην διατυπώνονται γενικεύσεις, ώστε να αποφεύγονται παραπλανητικές ή επικίνδυνες δηλώσεις όσον αφορά εκάστη χρωστική [1, 13-14].

Σε παλαιότερη μελέτη 87 πασχόντων από ΔΜ αρχικού σταδίου, υποστηρίζεται ότι η τεχνική της κυανής χρωστικής παραμένει το κριτήριο αναφοράς για την εκτομή του ΦΛ, ενώ η προσθήκη ραδιοφαρμάκου είναι χρήσιμη επικουρική μέθοδος στην ανάδειξη των χρωσμένων ΦΛ [15]. Εντούτοις όσον αφορά στη μεμονωμένη χρήση της χρωστικής τεχνικής για την επισημάνση του ΦΛ, υφίστανται οι εξής περιορισμοί [7, 16-20]: α) ασταθής ευαισθησία 69,5%-96% σε διάφορες σειρές, β) αδυναμία προεγχειρητικής εντόπισης του ΦΛ, γ) αδυναμία εντόπισης ασυνήθιστων, μη αναμενόμενων λεμφαδενικών εστιών καθώς η χρωστική μέθοδος δεν μπορεί να κατευθύνει με ακρίβεια το χειρουργό προς μία ή περισσότερες λεμφαδενικές ομάδες απορροής και τίθεται το ενδεχόμενο να χρειαστεί τελικά ευρύτερη διατομή, δ) αδυναμία άμεσης μετεγχειρητικής επιβεβαίωσης της επιτυχημένης αφαίρεσης του ΦΛ και ε) αδυναμία πραγματοποίησης της διαδικασίας υπό τοπική αναισθησία. Συνολικά, η χρωστική μέθοδος δεν φαίνεται να παρουσιάζει σταθερά αποτελέσματα, ενώ παράλληλα είναι πιο τραυματική, εργώδης και χρονοβόρα από τις ραδιονουκλιδικές τεχνικές λεμφικής χαρτογράφησης.

Εντούτοις τα αξιοσημείωτα αποτελέσματα της αναγνώρισης κυανώς χρωσμένων ΦΛ, με μόνο 5% ψευδώς θετικό ποσοστό, ευνόησαν την ταχεία αποδοχή της μεθόδου. Σήμερα, η λεμφική χαρτογράφηση και η ΒΦΛ με τη χρήση κυανών χρωστικών εφαρμόζονται στην καθημερινή κλινική πράξη για τη σταδιοποίηση ασθενών με ΔΜ, καρκίνο του μαστού και άλλους κακοήθεις όγκους [20-23].

Ψευδή ευρήματα και σωστή αξιολόγηση των μεθόδων πυρηνικής ιατρικής προ- ή διεγχειρητικώς

Υφίστανται περιπτώσεις που δυσχεραίνουν όχι μόνο την ανίχνευση με το γ-ανιχνευτή και με το λεμφοσπινθηρογράφημα (ΛΣΓ) των ΦΛ αλλά και την προετοιμασία των παρασκευασμάτων για ιστολογική ανάλυση. Καταρχάς κριτικός παράγοντας για την επιτυχή εντόπιση του ΦΛ είναι η διατήρηση της λειτουργικής ικανότητας του ίδιου του λεμφαδένα, που επιτρέπει την πρόσληψη του ραδιοκολλοειδούς. Λειτουργικά ανενεργός μπορεί να καταστεί ο ΦΛ, όταν υποστεί λιπώδη διήθηση, όπως έχει παρατηρηθεί στους μασχαλαίους λεμφαδένες ηλικιωμένων ασθενών, ή σε εκτεταμένη μεταστατική διήθηση [7, 24-25]. Επίσης, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη «παραπλανητικά ευρήματα» («artefacts»), όπως επί εδάφους άλλου πρόσφατου σπινθηρογραφήματος ή ύπαρξης μεταλλικών αντικειμένων. Σημειώνεται ότι στις περιπτώσεις που επικαλύπτονται οι επιχώριοι λεμφαδένες και ο ΦΛ στο ΛΣΓ λόγω της πρόσληψης στην πρωτοπαθή βλάβη (φαινόμενο starburst), ορισμένοι συνιστούν να προηγηθεί η ευρεία εκτομή της πρωτοπαθούς βλάβης, ενώ άλλοι πιστεύουν ότι προηγούμενη ευρεία εκτομή θα επηρεάσει την ικανότητα να χαρτογραφηθεί ο ΦΛ, αλλάζοντας το μοντέλο της τοπικής λεμφικής απορροής. Πάντως, σε αναδρομικές ανασκοπήσεις, έχει υποστηριχθεί ότι η αξιοπιστία της βιοψίας του ΦΛ δεν επηρεάζεται επί προηγηθείσες τοπικής εκτομής, όταν το όριο της εκτομής δεν υπερβαίνει τα 2cm και δεν έχει χρησιμοποιηθεί εναλλακτικός δερματικός κρημνός [10, 25].

Εξάλλου, σε ΔΜ κεφαλής και τραχήλου, η εντόπιση του ΦΛ σε μη γειτονικές ή μη κλασικές λεμφαδενικές εστίες, ή στον παρωτιδικό αδένα δυσχεραίνουν τη ΒΦΛ. Τα ποσοστά επιτυχίας στην αναγνώριση του ΦΛ σε περιπτώσεις ΔΜ στις περιοχές αυτές, κυμαίνονται από 90% ως 95%, δηλαδή είναι μικρότερα από εκείνα σε άλλες θέσεις (όπου φτάνουν το 98%) [8, 10, 16-17, 19-20].

Μερικές φορές, η «ex vivo» διατομή λειτουργικού λεμφαδένα που αφαιρέθηκε χειρουργικά, χρησιμοποιώντας το γ-ανιχνευτή, είναι απαραίτητη για να βρεθούν μικροί ΦΛ που δεν θα διαπιστώνονταν διαφορετικά. Ακόμη, ενώ οι περισσότεροι ασθενείς με ΔΜ των άκρων έχουν κατά μέσο όρο 1,3-1,6 ΦΛ, σε ασθενείς με ενδιάμεσου πάχους βλάβες κεφαλής και τραχήλου ανευρίσκονται κατά μέσο όρο 3,8 ΦΛ [10].

Η γ-ακτινοβολία που εκπέμπεται από το ex vivo παρασκεύασμα του ΦΛ μετράται με τον κόνδυλο του ανιχνευτή τοποθετημένο κάθετα και κάτωθεν αυτού, καταγράφεται ως “ex vivo counts/s” και πρέπει να είναι ίση ή/και περισσότερη της μετρηθείσας in vivo (“in vivo counts/s”). Σημειώνεται ότι στις 4h p.i. ο ΦΛ δεν μπορεί πλέον να διαφοροποιηθεί από τους υπόλοιπους φυσιολογικούς λεμφαδένες. Άρα στην εξέταση του ΛΣΓ πρέπει να τηρείται αυστηρά το πρωτόκολλο της εξέτασης, να αποφεύγεται η ραδιομόλυνση και να ελέγχεται προεγχειρητικά η σωστή λειτουργία του γ-ανιχνευτή, βάσει της σύγκρισής του με σταθερή πηγή ιωδίου-129 ή με το κοβάλτιο-57 [7, 25]. Η παράλληλη χρήση της κυανής χρωστικής συμβάλλει στην αναγνώριση του ΦΛ [8, 10, 16-20].

Δοσιμετρικός απολογισμός του ΛΣΓ

Όσον αφορά στην ακτινοπροστασία, η τεχνική του ΦΛ έχει το μεγάλο πλεονέκτημα της σχετικά χαμηλής

απαιτούμενης δόσης της χορηγούμενης ενεργότητας του ιχνηθέτη. Ως εκ τούτου, υφίστανται πολύ χαμηλά επίπεδα έκθεσης σε ακτινοβολία για τον ασθενή, αλλά και για το προσωπικό του τμήματος πυρηνικής ιατρικής, του χειρουργείου ή του ιστοπαθολογικού εργαστηρίου, και δεν απαιτείται ειδική μεταχείριση του ΦΛ. Η δόση απορρόφησης από τον ασθενή κατά το ΛΣΓ για την αναζήτηση του ΦΛ στο ΔΜ εξαρτάται από την ακριβή θέση του όγκου, την κλασματοποίηση και τον ολικό όγκο της ενιόμενης ποσότητας, την επακόλουθη διάσπορά του ιχνηθέτη και τη συγκεκριμένη χειρουργική διαδικασία [7]. Μελέτες δοσιμετρίας για το ΛΣΓ έχουν προσδιορίσει την ενεργό ισοδύναμο δόση των 5,32x10⁻³mSv/MBq για την υποδόρια χορήγηση του επισημασμένου με τεχνητίο-99mθειούχου κολλοειδούς του αντιμονίου (antimony sulfide colloid-^{99m}Tc-ASC) [26]. Στον πίνακα δοσιμετρίας (Πίν. 6), η ενεργός δόση έχει υπολογιστεί υποθέτοντας ότι 20% της χορηγηθείσας ενεργότητας έχει απορροφηθεί συστηματικά, ενώ η τοπική δόση ακτινοβολίας έχει αγνοηθεί, επειδή: α) τα ^{99m}Tc -ραδιοφάρμακα δεν επιφέρουν εμφανή αποτελέσματα, όπως τοπική νέκρωση του δέρματος, β) η υπολογιζόμενη τοπική δόση ακτινοβολίας ποικίλλει σημαντικά, ανάλογα με τις υποκείμενες προϋποθέσεις, ενώ συνεισφέρει ελάχιστα στην ενεργό δόση. Για παράδειγμα, μια δόση των 50rem σε επιφάνεια δέρματος των 10cm² είναι συγκρίσιμη με μια ενεργό δόση των 1,7mrem, γ) το ΔΜ είναι σπάνιο στην παιδική ηλικία, αλλά το ΛΣΓ διενεργείται σε παιδιά για τον προσδιορισμό της αιτίας οιδήματος των άκρων [27]. Η μέγιστη ενεργότητα που διεγχειρητικά παραμένει στο σημείο της έγχυσης είναι περίπου 10MBq ^{99m}Tc. Η έκθεση σε ακάλυπτη ραδιενεργό πηγή που περιέχει αυτήν την ενεργότητα επιφέρει ρυθμό δόσης της ακτινοβολίας της τάξης του 0,17μSv/h σε απόσταση 1m και 1,8μSv/h σε απόσταση 30cm [28-30].

Για κάθε χειρουργική διαδικασία, ένας τυπικός ολικός χρόνος 1h έκθεσης του χειρουργού στον ιστό χορήγησης του ραδιοφαρμάκου, θα του προσδώσει μέγιστη δόση ακτινοβολίας περίπου 1,8μSv. Η δόση ακτινοβολίας στα χέρια του χειρουργού έχει εκτιμηθεί σε 5-94μSv (0,5-9,0rem) ανά ασθενή. Επομένως, ένας χειρουργός μπορεί να διενεργήσει περίπου 30-60 εκτομές ΦΛ σε ΔΜ ετησίως, χωρίς να εκτεθούν τα δάχτυλά του σε ακτινοβολία μεγαλύτερη από την ολόσωμη ετήσια έκθεση εκ του φυσικού περιβάλλοντος (περίπου 3mSv ενεργός ολόσωμη δόση).

Μετά τη χορήγηση του ^{99m}Tc -C, περίπου 1% της δόσης μπορεί να μεταναστεύσει στο ΦΛ. Το παρασκεύασμα του ΦΛ, τοποθετείται σε κατάλληλο συλλέκτη δείγματος, επισημαίνεται με ετικέτα και μπορεί να υποβληθεί άμεσα σε βιοψία, με αμελητέο κίνδυνο, αφού σε αυτόν αντιστοιχεί δόση 0,5mR/h. Εξάλλου η κατακράτηση του ραδιοφαρμάκου στο παρασκεύασμα του ΦΛ, με διόρθωση για την εξασθένηση, κυμαίνεται μεταξύ 0,005% και 5% της ενεθείσας δόσης στις 24h p.i. [7]. Επιπρόσθετα, στις σπινθηρογραφικές εικόνες, δεν έχει παρατηρηθεί ειδική πρόσληψη του ραδιοφαρμάκου στο δικτυοενδοθηλιακό ή στο κυκλοφορικό σύστημα. Διαδοχικά δείγματα αίματος που λαμβάνονται μεταξύ 1h και 48h p.i., μετρήθηκαν σε φρεάτιο μέτρησης γ-ακτινοβολίας και οι συγκεντρώσεις ενεργότητας που καταγράφηκαν ήταν μικρότερες από 1% της ενεθείσας δόσης στο συνολικό όγκο του αίματος. Αντίθετα, στο παρασκεύασμα της πρωτοπαθούς εστίας αντιστοιχεί δόση 15-25mR/h, άρα θα πρέπει να παραμείνει αυτό σε ακτινοπροστατευόμενο χώρο επί 8-10 χρόνους ημίσειας ζωής, ήτοι επί 48-60h, προς εξασθένηση της εκπνεύμενης ακτινοβολίας σύμφωνα με τους κανονισμούς ακτινο-προστασίας. Τότε η δόση θα είναι

μόνο 0,037MBq [28]. Γενικά, η περιορισμένη χρονικά έκθεση των ιστο-παθολόγων, που διαχειρίζονται το ραδιενεργό ΦΛ και την πρωτοπαθή εστία, δεν επιφέρει δόσεις απορροφούμενης ακτινοβολίας μεγαλύτερες από εκείνες που όπως αναφέρθηκε δέχονται οι χειρουργοί.

Συνδυασμένη εφαρμογή ΛΣΓ και της τεχνικής της χρωστικής διεγχειρητικώς

Σήμερα, ένας ΦΛ ορίζεται υποκειμενικά ως ο λεμφαδένας που μακροσκοπικά χρωματίζεται κυανός ή έχει ραδιενεργό πρόσληψη που υπερβαίνει το λόγο 10/1 των κρούσεων «ex vivo» προς τις κρούσεις της εγχειρητικής κοίτης ή ένα λόγο κρούσεων «in vivo»/εγχειρητική κοίτη: 3/1. Ο προεγχειρητικός ΛΣΓ έλεγχος προηγείται πάντοτε κατά τουλάχιστον 1h. Κατά την επισκόπηση του χειρουργικού πεδίου, πρέπει να αφαιρεθούν όλοι οι χρωσμένοι λεμφαδένες, ανεξάρτητα από τη συλλογή κρούσεων βάσει του γ-ανιχνευτή, ως επίσης όλοι οι «θερμοί» λεμφαδένες ανεξαρτήτως της χρώσης τους. Η χρήση της κυανής χρωστικής παρέχει τη δυνατότητα άμεσης οπτικής διάκρισης μεταξύ ενός ΦΛ κι ενός λεμφαδένα δεύτερου επιπέδου [17, 18].

Με τη συνδυασμένη χρήση του ΛΣΓ, του γ-ανιχνευτή και της χρωστικής, η επιτυχία στην εντόπιση του ΦΛ είναι μέγιστη, με μείωση των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων. Σε διάφορες μελέτες με σειρές εκατοντάδων ασθενών με ΔΜ, αλλά και άλλους συμπαγείς όγκους, εξήχθη το συμπέρασμα ότι τα καλύτερα αποτελέσματα ανίχνευσης του ΦΛ επιτυγχάνονται με το συνδυασμό του δυναμικού ΛΣΓ και της διεγχειρητικής καθοδήγησης με φορητό γ-μετρητή και κυανή χρωστική [16, 18, 20]. Ενδεικτικά αναφέρονται ποσοστά ανίχνευσης της τάξεως του 69,5%-96 % για τη μέθοδο της χρωστικής, 83,5%-94% για τη ραδιονουκλιδική μελέτη, και 96%-98% για το συνδυασμό των δύο τεχνικών, και μάλιστα σε λεμφαδενικές ομάδες, στις οποίες δεν εμφανίστηκε υποτροπή κατά την παρακολούθηση για 1 ως 125 μήνες [8, 10, 16-20].

Τα πλεονεκτήματα της ραδιονουκλιδικά καθοδηγούμενης διεγχειρητικής αναζήτησης του ΦΛ συνοψίζονται ως εξής [7, 8]: α) ακριβής εντόπιση του ΦΛ στην επιφάνεια του δέρματος, στην εγχειρητική κοίτη και σταθερή διεγχειρητική καθοδήγηση του χειρουργού, β) διάκριση λεμφαδένων δεύτερου επιπέδου (second-echelon node), αναγνώριση παρένθετων (in-transit) ή μη-αναμενόμενων θέσεων λεμφοαδένων (π.χ. σε ΔΜ κεφαλής, τραχήλου και κορμού) και ανεύρεση πιθανών υπολειμματικών λεμφαδένων, γ) πιστοποίηση ότι έγινε βιοψία του σωστού λεμφαδένα, δ) επέμβαση με μικρή τομή και υπό τοπική αναισθησία, όπως στα εξωτερικά ιατρεία, ή με ελαχιστοποίηση του διεγχειρητικού χρόνου γενικής αναισθησίας, όταν αυτή κρίνεται αναγκαία.

Η συνδυασμένη στρατηγική διευκόλυνε την επιτυχημένη χρήση της τεχνικής για όλους τους ενδιαφερόμενους χειρουργούς. Έτσι, το επίκεντρο γρήγορα προσανατολίστηκε στις προγνωστικές και θεραπευτικές επιδράσεις της ιστοπαθολογίας του ΦΛ [20].

Παθολογοανατομική εξέταση και ευρήματα

Η παρουσία καρκινικών κυττάρων στο ΦΛ μπορεί να διαπιστωθεί από τον ιστοπαθολόγο με ταχεία διεγχειρητική μικροσκοπική εξέταση κατεψυγμένης τομής με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης (hematoxylin-eosin-H&E), η οποία εξέταση διαρκεί 20-30min [10, 31-32]. Ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα περιορίζονται σε

ποσοστό μέχρι 5%, καθώς είναι πιθανή η μη ανεύρεση μικρομεταστατικού ιστού (Σχήμα 2) [11, 20, 32-34]. Λαμβάνοντας υπόψη τα αναφερόμενα ευρεία ποσοστά της επίπτωσης (20%-78%) των μεταστάσεων μέσα στο ΦΛ και τη χαμηλή ευαισθησία (59%) της ανάλυσης της κατεψυγμένης τομής, η μεμονωμένη χρήση της μεθόδου αυτής ως ρουτίνα σε όλους τους ασθενείς που υφίστανται ΒΦΛ αμφισβητείται [35].

Πίνακας 6. Δοσιμετρία ακτινοβολίας ενηλίκων και παιδιών [7, 51]

Ραδιοφάρμακο 99mTc-small or large col- loids ¹	Χορηγούμενη δόση (MBq)	Όργανο που δέχεται τη μέγιστη δό- ση(mGy/MBq)	Ενεργός δόση ² (mSv/MBq)
Ενήλικες	15-35 Ενδοδερμικά	0.015 Σπλήνας	0.0019
Παιδιά (5 ετών)	15-35 Ενδοδερμικά	0.050 Σπλήνας	0.0036

¹ICRP 53, pp. 180 και 182. ²ICRP 80. Σημειώνεται ότι οι τιμές στον πίνακα συνιστούν μόνο 20% των τιμών που βρίσκονται στο ICRP 80, λόγω της υπόθεσης ότι μόνο το 20% της χορηγούμενης ενεργότητας απορροφάται.

Για να αυξηθεί η ευαισθησία της βιοψίας του ΦΛ, απαιτούνται πιο ενδελεχείς και ακριβείς ιστοπαθολογικές εξετάσεις σε μόνιμες τομές του ΦΛ. Συγκεκριμένα εφαρμόζονται πιο ευαίσθητες τεχνικές για την ανίχνευση μικρομεταστάσεων, όπως είναι οι ανοσοϊστοχημικές (immunohistochemical- IHC) χρώσεις ειδικές για δείκτες των επιθηλιακών κυττάρων, με S-100, Melan-A και HMB-45, και αναλύσεις βασισμένες στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (polymerase chain reaction- PCR) [20, 36]. Οι τεχνικές αυτές έχουν τροποποιήσει τις κατηγορίες σταδιοποίησης και, στα πλαίσια πιο ενδελεχούς «υπερσταδιοποίησης» («ultrastaging») των λεμφαδένων, συχνά ανιχνεύουν λεμφαδενικές μικρομεταστάσεις, οι οποίες δεν ανιχνεύονται στα κλασσικά παρασκευάσματα που χρωματίζονται με H&E [20, 37]. Έτσι, επί αρνητικών H&E τομών και ιδίως σε μικρομετάσταση (ένα μόνο κύτταρο ή μια συστάδα με λιγότερα από 50 κύτταρα), η ανοσοϊστοχημική χρώση αναγνωρίζει επιπλέον 5%-15% ασθενών με θετικό ΦΛ και αλλάζει τη σταδιοποίηση της νόσου (Πίν. 7) [20]. Η ανάπτυξη νέων χρωστικών για πρωτεΐνες ειδικές στους διαφορετικούς νεοπλασματικούς και ιστικούς τύπους, όπως των πρωτεϊνών S-100 και MART-1 στο ΔΜ, έχει διευκολύνει την αναγνώριση ακόμη και μεμονωμένων νεοπλασματικών κυττάρων σε δείγματα και έχει αυξήσει την ειδικότητα της διαγνωστικής τεχνικής. Ωστόσο, αναφέρονται και ψευδώς θετικά ευρήματα για τις χρωστικές, όπως η ανάδειξη δένδρικών λευκοκυττάρων με την S-100, και η σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας που αποτρέπει την εισαγωγή ορισμένων από αυτά στην καθημερινή κλινική πράξη [38-39].

Η νεότερη εξέταση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης, αντίστροφης τρανσκριπτάσης (reverse transcriptase polymerase chain reaction- RT-PCR) εκμεταλλεύεται την ανάπτυξη των ανιχνευτών για γονίδια, που υπερεκφράζονται σε συγκεκριμένους όγκους. Για το ΔΜ, έχει συμπεριλάβει πρωτεΐνες σχετιζόμενες με την τυροσινάση (tyrosinaserelated proteins, TRP-1 και TRP-2), το μεταγραφικό παράγοντα που σχετίζεται με τη μικροφθalmία (microphthalmia-associated transcription factor, MITF), και τις πρωτεΐνες MAGE-3, gp100, και MART-1.

Πίνακας 7. Ποσοστά εντόπισης, ψευδώς αρνητικά και άνοδου σταδίου του ΦΛ [41]

Ποσοστό (%)	Εντόπιση ΦΛ	Ψευδώς αρνητικός ΦΛ	Άνοδος σταδίου του ΦΛ*
	95-100	0-5	12

*Ποσοστό ασθενών στους οποίους η ανοσοϊστοχημική χρώση του ΦΛ με τους καρκινικούς δείκτες του επιθηλίου S-100 και HMB45, οδήγησε στην άνοδο του σταδίου της νόσου, που δεν θα είχε συμβεί με τις παραδοσιακές μεθόδους σταδιοποίησης (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης).

Οι ανωτέρω παράγοντες μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα ή ως σύστημα πολλαπλών δεικτών (multimarker panels) [40-42], και αποτελούν πολύ ευαίσθητες και αναπαραγωγίμες εξετάσεις. Σήμερα η RT-PCR εξακολουθεί να εφαρμόζεται ευρέως σε ερευνητικό επίπεδο για την αποσαφήνιση της προγνωστικής σημασίας της αποκλειστικής RT-PCR θετικότητας. Το πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι εξετάζει ολόκληρο το λεμφαδένια, καταρρίπτοντας έτσι κάθε σφάλμα δείγματος και αυξάνοντας την ευαισθησία. Μπορεί να ανιχνευθεί ένα μελανοκύτταρο επί 1.000.000 κυττάρων εκ του υποστρώματος, χωρίς όμως να αποκλείονται και ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Προοπτική και μακροπρόθεσμη παρακολούθηση ασθενών που αντιμετωπίζονται με την τεχνική αυτή, ενδέχεται να βοηθήσει στον προσδιορισμό της αληθούς βιολογίας των λεμφαδενικών μικρομεταστάσεων [39-42].



Εικόνα 2. Διαδικασία χειρουργικής αφαίρεσης του λεμφαδένα φρουρού με την καθοδήγηση του φορητού γ-μετρητή.

Επομένως, με τη ΒΦΛ, το κόστος και η νοσηρότητα μειώνονται σε σύγκριση με την εφαρμογή των ανωτέρω περιγραφόμενων ιστοπαθολογικών τεχνικών στους πολλαπλούς λεμφαδένες που λαμβάνονται με την προφυλακτική λεμφαδενεκτομή. Ένας αρνητικός ΦΛ ελαττώνει την έκταση της εγχείρησης, τη νοσηρότητα και το κόστος για ασθενείς που ειδάλλως θα είχαν υποβληθεί σε προφυλακτική λεμφαδενεκτομή, εκ των οποίων 80% θα υφίσταντο μόνο τη νοσηρότητα χωρίς κανένα θεραπευτικό όφελος. Το αναφερόμενο ποσοστό της αποτυχίας σταδιοποίησης στην επιχώρια λεμφαδενική χώρα είναι περίπου 1% [42]. Αν ανοσοθετικά πλειομορφικά καρκινικά κύτταρα ή παρόμοια με τα κύτταρα του πρωτοπαθούς όγκου βρίσκονται στο λεμφαδένια, τίθεται η διάγνωση του μεταστατικού ΔΜ και

μπορεί να διενεργηθεί επιλεκτική λεμφαδενεκτομή κατά το ίδιο χειρουργικό πεδίο ή σε δεύτερη επέμβαση και πιθανώς χορήγηση ιντερφερόνης σε ασθενείς με υψηλό κίνδυνο υποτροπής [20, 32, 33, 35, 43-50].

Βιβλιογραφία

- Scherer K and Bircher AJ. Blue dyes in medicine-a confusing terminology. *Contact Dermatitis* 2006; 54: 231-2.
- Stradling B, Aranha G, Gabram S et al. Adverse skin lesions after methylene blue injections for sentinel lymph node localization. *Am J Surg* 2002; 184: 350-2.
- Tsopelas C, Sutton R. Why certain dyes are useful for localizing the sentinel lymph node. *J Nucl Med* 2002; 43: 1377-82.
- Van Zuuren E, Poldermann MCA, Kuijken I. Anaphylaxis to patent blue during sentinel lymph node identification. *Contact Dermatitis* 2005; 53: 171.
- Nour A. Efficacy of methylene blue dye in localization of sentinel lymph node in breast cancer patients. *Breast J* 2004; 10: 388-91.
- Vargas HI. Blue Dye of choice for lymphatic mapping. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3648 [author's reply]: 3648-9.
- Keshtgar MRS, Waddington WA, Lakhani SR, Ell PJ. *The Sentinel Node in Surgical Oncology*. 1st edn. London: Springer 1999.
- Γραμματικός Φ, Καρακατσάνης Κ, Γκοτζαμάνη-Ψαρράκου Α, Άρσος Γ. *Πυρηνική Ιατρική*. 1^η έκδ. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Ζήτη 2001; 182-6.
- Krag D, Harlow S, Weaver D et al. Technique of sentinel node resection in melanoma and breast cancer: probe guided surgery and lymphatic mapping. *Eur J Surg Oncol* 1998; 24: 89-93.
- Kuwajerwala NK, Dwivedi A, Abbarah T et al. Sentinel lymph node biopsy in patients with melanoma. *eMedicine*. Last updated 22-05-2008.
- Albertini J, Cruse C, Rapaport D et al. Intraoperative radio-lympho-scintigraphy improves sentinel lymph node identification for patients with melanoma. *Ann Surg* 1996; 223: 217-24.
- Woehrl S, Focke M, Hinterhuber G et al. Near fatal anaphylaxis to Patent Blue V. *Br J Dermatol* 2004; 150: 1037-8.
- Scherer K, Studer W, Figueiredo V et al. Anaphylaxis to isosulfan blue and cross-reactivity to patent blue V. Case report and review of the nomenclature of vital blue dyes. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 96: 497-500.
- Tsopelas C. Correction for Tsopelas and Sutton, *J Nucl Med* 43:1377-82. *J Nucl Med* 2002; 44: 649.
- Bostick P, Essner R, Glass E et al. Comparison of blue dye and probe-assisted intraoperative lymphatic mapping in melanoma to identify sentinel nodes in 100 lymphatic basins. *Arch Surg* 1999; 134: 43-9.
- Reintgen D, Cruse CW, Wells K et al. The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg* 1994; 220: 759-67.
- Kapteijn BAE, Nieweg OE, Liem I et al. Localizing the sentinel node in cutaneous melanoma: gamma probe detection versus blue dye. *Ann Surg Oncol* 1997; 4: 156-60.
- Pijpers R, Borgstein PJ, Meijer S et al. Sentinel node biopsy in melanoma patients: dynamic lymphoscintigraphy followed by intraoperative gamma probe and vital dye guidance. *World J Surg* 1997; 21: 788-93.
- Uren RF, Hofman-Giles RB, Shaw HM et al. Lymphoscintigraphy in high risk melanoma of the trunk: predicting draining node groups, defining lymphatic channels and locating the sentinel node. *J Nucl Med* 1993; 34: 1435-40.
- Zervos EE, Burak WE. Lymphatic mapping in solid neoplasms: state of the art. *Cancer Control* 2002; 9: 189-202.
- Chae-Chun Rhim, Jong-Sup Park, Seog-Nyeon Bae et al. Sentinel node biopsy as an indicator for pelvic nodes dissection in early stage cervical cancer. *J Korean Med Sci* 2002; 17: 507-11.
- Usmani S, Khan HA, abu Huda F et al. Evaluation of the gamma probe guided sentinel lymph node biopsy and the blue dye technique in the management of breast cancer. *Hell J Nucl Med* 2010; 13(1): 30-4.
- Sadeghi R, Forghani MN, Memar B et al. Comparison of pre-operative lymphoscintigraphy with inter-operative gamma probe

and dye technique regarding the number of detected sentinel lymph nodes. *Hell J Nucl Med* 2009; 12: 30-2.

- Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF et al. Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial. *Ann Surg* 2005; 242: 302-11.
- Borgstein PJ, Pijpers R, Comans EF et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: guidelines and pitfalls of lymphoscintigraphy and gamma probe detection. *J Am Coll Surg* 1998; 186: 275-83.
- Bergqvist L, Strand S-E, Persson B et al. Dosimetry in lymphoscintigraphy of Tc-99m antimony sulfide colloid. *J Nucl Med* 1982; 23: 698-705.
- Sadeghi R, Kazemzadeh G, Keshtgar M. Diagnostic application of lymphoscintigraphy in the management of lymphoedema. *Hell J Nucl Med* 2010; 13: 6-10.
- Alazraki N, Glass EC, Castronovo F et al. Procedure guideline for lymphoscintigraphy and the use of intraoperative gamma probe for sentinel lymph node localization in melanoma of intermediate thickness. *J Nucl Med* 2002; 43: 1414-8.
- Castronovo FP, McKusick AK, Strauss HW. Dosimetric consequences of radiopharmaceutical infiltrations. *Invest Radiol* 1994; 29: 59-64.
- Baum JW. Analysis of potential radiobiological effects related to a unified skin dose limit. *Health Phys* 2001; 80: 537-43.
- Bostick P, Essner R, Sarantou T et al. Intraoperative lymphatic mapping for early-stage melanoma of the head and neck. *Am J Surg* 1997; 174: 536-9.
- Cochran AJ, Balda BR, Starz H et al. The Augsburg Consensus. Techniques of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy, and completion lymphadenectomy in cutaneous malignancies. *Cancer* 2000; 89: 236-41.
- McMasters KM, Reintgen DS, Ross MI et al. Sentinel lymph node biopsy for melanoma: how many radioactive nodes should be removed? *Ann Surg Oncol* 2001; 8: 192-7.
- Tyler DS, Onaitis M, Kherani A et al. Positron emission tomography scanning in malignant melanoma. *Cancer* 2000; 89: 1019-25.
- Cascinelli N, Belli F, Santinami M et al. Sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma: the WHO Melanoma Program experience. *Ann Surg Oncol*. 2000; 7: 469-74.
- Reintgen D, Conrad A. Detection of occult melanoma cells in sentinel lymph nodes and blood. *Semin Oncol* 1997; 24: S4-S11.
- Greene FL, Page DL, Fleming ID et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 6th ed. New York: Springer-Verlag; 2002.
- Essner R, Cochran AJ. Sentinel node biopsy: not only a staging tool? *Recent Results Cancer Res* 2002; 160: 1331-48.
- Scolyer RA, Li L-X L, McCarthy SW et al. Immunohistochemical stains fail to increase the detection rate of micrometastatic melanoma in completion regional lymph node dissection specimens. *Melanoma Res* 2004; 14: 263-8.
- Bostick PJ, Morton DL, Turner RR et al. Prognostic significance of occult metastases detected by sentinel lymphadenectomy and reverse transcriptase-polymerase chain reaction in early-stage melanoma patients. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3238-44.
- Morton DL, Hoon DS, Cochran AJ et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: therapeutic utility and implications of nodal microanatomy and molecular staging for improving the accuracy of detection of nodal micrometastases. *Ann Surg* 2003; 238: 538-49.
- Mueller DW, Bosserhoff AK. Role of miRNAs in the progression of malignant melanoma. *Br J Cancer* 2009; 101: 551-6.
- Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ et al. Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol*. 2001; 19: 3635-48.
- Balch CM. Cutaneous melanoma: prognosis and treatment results worldwide. *Semin Surg Oncol* 1992; 8: 400-14.
- Kirkwood JM, Strawderman MH, Ernstoff MS et al. Interferon alfa-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J Clin Oncol* 1996; 14:7-17.
- Dessureault S, Soong S-J, Ross ML et al. Improved staging of node-negative patients with intermediate to thick melanomas (>1 mm) with the use of lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy. The American Joint Committee on Cancer (AJCC)

- Melanoma Staging Committee. *Ann Surg Oncol* 2001; 8: 766-70.
47. Niezabitowski A, Czajeczki K, Rys J et al. Prognostic evaluation of cutaneous malignant melanoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study. *J Surg Oncol* 1999; 70: 150-60.
48. Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sondak VK, et al. High- and low-dose interferon alfa-2b in high-risk melanoma: first analysis of Inter-group Trial E1690/S9111/C9190. *J Clin Oncol.* 2000; 18: 2444-58.
49. Lange JR. The current status of sentinel node biopsy in the management of melanoma. *Dermatol Surg* 2000; 26: 809-10.
50. Gershenwald JE, Mansfield PF, Lee JE et al. Role for lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patient with thick (> or = 4 mm) primary melanoma. *Ann Surg Oncol* 2000; 7:160-5.
51. Alazraki N, Glass EC, Castronovo F et al. Procedure guideline for lymphoscintigraphy and the use of intraoperative gamma probe for sentinel lymph node localization in melanoma of intermediate thickness. *Society of Nucl Med Procedure Guidelines Manual* 2002; version 1.0: 135-140

Review Article

Cutaneous melanoma; diagnostic procedures and their evaluation in diagnosing and mapping sentinel nodes. Part 2

Pipitsa Valsamaki, Antonios Zanglis, Alexia Chatzipetrou

The second part of this review describes the advantages, and evaluates the radionuclide-guided methods for sentinel lymph node localization and also evaluates the intraoperative application of the blue dye technique in melanoma. By combining the two techniques, the detection rate rises to 96%-98%. The presence of cancer cells in the sentinel node is histopathologically shown by using hematoxylin-eosin and by using sensitive techniques for the detection of micrometastases. Immunohistochemical techniques specific for epithelial markers and polymerase chain reaction examination are also applied. Sentinel lymph node biopsy suggests whether regional elective lymphadenectomy shall be performed.