

*С.М. Портной¹, А.В. Кузнецов², Н.М. Шакирова², Н.А. Козлов², А.В. Масляев²,
А.В. Карпов¹, Е.Б. Кампова-Полевая², М.Г. Мистаконуло², Ю.С. Егоров², О.А. Анурова²,
Т.А. Шендрикова², А.С. Горностаева², Д.В. Хайленко²*

Биопсия сигнального лимфатического узла с использованием флуоресцентной лимфографии у больных раком молочной железы cT1-4N0M0: высокие диагностические возможности

¹ООО «Фрау Клиник»,
²ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Больным раком молочной железы cT1-4N0M0 необходимо выполнение биопсии сигнального лимфатического узла. Биопсия сигнального лимфатического узла с использованием флуоресцентной лимфографии является современной технологией, имеющей очень высокую частоту нахождения сигнального лимфатического узла. Однако, частота ложноотрицательных ответов при использовании этой технологии адекватно не оценена, что и явилось целью нашего исследования. Было оперировано 99 больных со 100 случаями рака молочной железы cT1-4N0M0. Подмышечный этап операции состоял из биопсии сигнального лимфатического узла с использованием флуоресцентной лимфографии и лимфаденэктомии I-II или I-II-III уровней. Сигнальный лимфатический узел был найден в 98 случаях (98%). В 28 случаях из 98 (28,6%) были обнаружены метастазы в лимфатических узлах. У больных с N+ метастатическое поражение других лимфатических узлов кроме сигнальных присутствовало только в 35,7%. Ложноотрицательный результат наблюдался в 1 случае из 28 (3,6%). Применение флуоресцентной лимфографии с индоцианином зелёным позволяет производить биопсию сигнального лимфатического узла с высокой частотой обнаружения лимфатического узла и низкой частотой ложноотрицательных результатов.

Ключевые слова: рак молочной железы, биопсия сигнального лимфатического узла

Введение

Биопсия сигнального лимфатического узла (СЛУ) при раке молочной железы (РМЖ) с cN0 является стандартной операцией в странах с развитой медициной и интенсивно осваиваемой онкологами Российской Федерации. Безопасность биопсии СЛУ была доказана в рандомизированных исследованиях, ставших фундаментальными для этого раздела онкомаммологии [7, 15, 20, 21,

25], а также в метаанализе рандомизированных исследований [18]. Ограничение объёма вмешательства на подмышечных лимфатических узлах биопсией СЛУ узла привело к резкому снижению частоты осложнений, связанных с подмышечной лимфаденэктомией и, прежде всего, частоты лимфостаза верхней конечности [22].

К новым технологиям поиска СЛУ относится технология флуоресцентной лимфографии с использованием зелёного индоцианина. Зелёный индоцианин обладает способностью к флуоресценции. Пик поглощаемого излучения имеет длину волны около 780 нм, испускаемое излучение (в инфракрасном спектре) имеет длину волны около 830 нм. Флуоресценция проникает через ткани толщиной не более 10 мм. Флуоресцентная лимфография не уступает радионуклидной технологии по частоте нахождения СЛУ (94-100%), однако адекватность первой почти не оценена по показателю частоты ложноотрицательных заключений [5, 12, 14, 23, 24].

Целью нашей работы было изучение возможности биопсии СЛУ методом флуоресцентной лимфографии с оценкой основных диагностических характеристик метода: частоты нахождения СЛУ и частоты ложноотрицательных ответов.

Материалы и методы

Было оперировано 99 больных со 100 случаями рака молочной железы cT1-4N0M0 (T1 — 43, T2 — 55, T3 — 1, T4 — 1). Во всех случаях диагноз инфильтративного рака был подтверждён гистологически. 12 больных получили предоперационную химиотерапию, 8 — предоперационную гормонотерапию. Подмышечный этап операции состоял из биопсии СЛУ с использованием флуоресцентной лимфографии и лимфаденэктомии I-II или I-II-III уровней.

Прибор Photodynamic Eye C9830 (Hamamatsu Photonics К.К) использовался для генерации возбуждающего инфракрасного излучения и регистрации ответной флуоресценции. Флуоресцентное изображение передавалось на экран компьютера. Биопсия СЛУ производилась под наркозом как первый этап операции. Зелёный индоцианин в виде водного раствора (5 мг/мл) в объёме 2 мл вводился внутрикочно и подкожно по наружному краю ареолы



Рис. 1. Ведение индоцианина зелёного (0 мин.)



Рис. 2. Получение изображения доминирующего пути лимфооттока (3 мин.)



Рис. 3. Флуоресцирующий узел в ране (6 мин.)



Рис. 4. Флуоресцирующий узел на препарате (14 мин.)

молочной железы или над опухолью (рис. 1). Через 2–5 минут можно было видеть флуоресцентное изображение лимфатического пути, идущего к подмышечной области (рис. 2). Изображение на экране компьютера было видно в режиме реального времени, что позволяло зарисовывать на коже пациентки изображение лимфатического протока. Изображение лимфатического узла через не рассечённые ткани удавалось увидеть менее, чем в 10%. Место «обрыва» лимфатического протока, видимого сквозь кожу, являлось ориентиром для поиска сигнального лимфатического узла в глубине тканей подмышечной области. Для этого было необходимо рассечение, как минимум, кожи, подкожной клетчатки и поверхностной фасции (рис. 3). Технической ошибкой, допущенной дважды, являлась попытка проследить ход флуоресцирующего лимфатического протока в ране. Повреждение протока приводило к излиянию зелёного индоцианина из протока в рану и беспорядочному прокрашиванию тканей. Флуоресцирующий участок тканей в таких случаях был ошибочно принят за СЛУ, и при гистологическом исследовании в этих 2 случаях лимфатический узел не был обнаружен. Для исключения подобной ошибки, нужно было представить локализацию лимфатического узла, в который впадает лимфатический проток, и оперативный доступ к этому СЛУ осуществлять со стороны противоположной впадению лимфатического протока в СЛУ. После удаления СЛУ контролировалась его флуоресценция (рис. 4), в ране контролировалось наличие или отсутствие дополнительных лимфатических узлов как с помощью поиска флуоресценции, так и пальпаторно. И флуоресцирующие и пальпируемые лимфатические узлы расценивались как сигнальные и отправлялись на срочное гистологическое исследование по замороженным срезам с окраской гематоксилином и эозином. На собственно биопсию СЛУ уходило 15–30 минут и ещё такое же время на гистологическое исследование.

Результаты

Флуоресцирующий через кожу лимфатический проток был виден во всех 100 случаях, а флуоресцирующий лимфатический узел — менее, чем в 10%. Обычно последний становился виден в ране после рассечения кожи, подкожной клетчатки, поверхностной и собственной фасций. СЛУ был найден в 98 случаях (98 %). Среднее количество лимфатических узлов, удалённых как сигнальные, = $1,9 \pm 0,1$ (1-7 узлов). Среднее количество лимфатических узлов, удалённых при лимфаденэктомии, = $10,5 \pm 0,5$ (5-26 узлов). В 28 случаях из 98 (28,6%) были обнаружены метастазы в лимфатических узлах. У больных с N+ метастатическое поражение других лимфатических узлов кроме сигнальных присутствовало только в 35,7%. По данным интраоперационного гистологического исследования ложноотрицательный результат наблюдался в 3 случаях из 28, по данным планового гистологического исследования — в 1 случае из 28 (3,6%). Чувствительность составила 96,4%, специфичность — 100%, точность — 99,0% (97 правильных заключений из 98). Не наблюдалось аллергических реакций или других побочных эффектов и осложнений при введении индоцианина зелёного.

Обсуждение. Е.А. Gould et al. были первыми, кто обосновал и применил на практике хирургическую тактику биопсии СЛУ. У больных раком околоушной слюнной железы лимфатический узел, находящийся в месте слияния передней и задней лицевых вен, по наблюдению авторов являлся сигнальным. Приводятся сведения о 9 больных, оперированных в 1951–1957 гг. СЛУ удалялся и исследовался интраоперационно гистологически. При нахождении в нём метастаза, производилась радикальная шейная диссекция, если СЛУ не был поражён, диссекция не выполнялась. Четверо больных, которым радикальная шейная диссекция не выполнялась, были прослежены от 2 до 8 лет без признаков рецидива [11]. Нахождение и морфологическая оценка состояния СЛУ, — лимфатического узла, первым воспринимающим лимфу от поражённого злокачественной опухолью органа, позволяют оценить вероятность метастатического поражения других лимфатических узлов. В случае отсутствия такого поражения, — с высокой степенью достоверности можно предвидеть отсутствие метастазов в последующих лимфатических узлах и отказаться от их удаления без ущерба для эффективности противоопухолевого лечения. Такова концепция биопсии СЛУ, изложенная R. Cabanas в 1977 г. Для поиска СЛУ у больных раком полового члена автор применял рентгеновскую лимфографию с использованием контраста, вводимого в лимфатический сосуд полового члена [6].

Применительно к РМЖ речь идёт о сохранении подмышечных лимфатических узлов и предотвращении осложнений, связанных с подмышечной лимфаденэктомией: лимфатическим отёком верхней конечности, лимфатическим отёком молочной железы (при органосохраняющих операциях), нарушением кожной чувствительности на плече и в подмышечной области. Первоначально биопсия СЛУ применялась у больных РМЖ сT1-2N0M0, в настоящее время показания к её использованию ставятся значительно шире: она применима в тех случаях, когда по данным клинического обследования (пальпация, УЗИ ± тонкоигольная биопсия) отсутствуют признаки метастатического поражения подмышечных лимфатических узлов исходно, то есть, cN0 (не ограничиваясь T1-2); либо после эффективной предоперационной системной терапии cN1-3 → «N0» [8,9], а также при выполнении мастэктомии по поводу протокового рака *in situ* [4].

Общепринятая в настоящее время технология поиска СЛУ основана на радионуклидной маркировке лимфатических узлов с использованием радиофармпрепаратов, включающих ^{99m}Tc . Средний размер частиц радиофармпрепарата может колебаться от 3 до 400 nm [10], однако использо-

вание частиц размером менее 100 нм позволяет более успешно находить СЛУ [2, 3]. Большинство методических вопросов отработано при исследованиях с использованием радионуклидной методики. Показано, что место введения лимфотропного препарата: перитуморальное, подкожное над опухолью, периареолярное, внутрикожное в ареолу, субареолярное не имеют значения, любой из них позволяет осуществить успешный поиск СЛУ. Мультицентричность опухоли, предшествующая эксцизионная биопсия опухоли не мешают выполнению биопсии СЛУ [10]. Адекватность технологии поиска подтверждается высокой частотой обнаружения СЛУ (>90%) и низкой частотой ложноотрицательных заключений (<10%). Частота ложноотрицательных заключений является главной характеристикой метода, она демонстрирует, с какой частотой метастатически поражённые лимфатические узлы остаются не удалёнными у пациентов, которым выполняется только биопсия СЛУ. Первое исследование диагностических возможностей поиска СЛУ в России с использованием радиофармпрепарата и красителя было успешным, частота обнаружения СЛУ составила 91,4%, ложноотрицательные ответы получены в 6,4% [1].

Из новых технологий поиска СЛУ можно отметить появление радиофармпрепарата, содержащего молекулу таргетного действия по отношению к Т-лимфоцитам и дендритным клеткам в лимфатических узлах [^{99m}Tc-tilmanocept (Lymphoseek®)]. Такой механизм действия и малый размер частиц (7 нм) позволяет радиофармпрепарату быстро попадать в СЛУ и надолго там задерживаться [19]. Технология с использованием наночастиц суперпарамагнитного оксида железа оказалась не хуже по диагностическим возможностям, чем сочетание радиофармпрепарата с красителем [13].

Флуоресцентная лимфография также является относительно новой технологией. Первая публикация по применению индоцианина зелёного для поиска СЛУ без использования эффекта флуоресценции относится к 1999 г. [16]. Успешное обнаружение СЛУ было получено

только в 74% из 172 больных РМЖ. Первое использование зелёного индоцианина, основанное на флуоресцентной навигации, также было сделано японскими авторами: Т. Kitai, Т. Inomoto, М. Miwa, Т. Shikayama в 2005 г. СЛУ был обнаружен в 94% [14]. По мнению В. Ballardini et al флуоресцентный метод с индоцианином позволяет находить сигнальный лимфатический узел в 99,6%. Флуоресцентная лимфография с индоцианином зелёным позволяет легко идентифицировать СЛУ с частотой не ниже, чем при использовании радиоактивных препаратов и может использоваться как самостоятельный метод [5]. Флуоресцентная лимфография не уступает радионуклидной технологии по частоте нахождения СЛУ (94-100%) или превосходит её [5, 12, 14, 23, 24], однако характеристика флуоресцентной технологии не полна из-за недостатка сведений по показателю частоты ложноотрицательных заключений. Только в одной работе на небольшом количестве больных (серии по 21 и 13 пациенток) показано, что частота ложноотрицательных ответов составила 10% и 8% [17].

В табл. 1 приводятся сведения о частоте ложноотрицательных ответов при биопсии СЛУ в фундаментальных исследованиях по этой проблеме. Усреднённая частота этого показателя составила 10,9%. В нашем исследовании, несмотря на технические неудачи, связанные с освоением метода (2 случая не нахождения СЛУ из 100 были связаны с пересечением лимфатического протока и выходом индоцианина в ткани), частота нахождения СЛУ у больных с cN0 и частота ложноотрицательных ответов оказались на высоком уровне — 98% и 3,6% соответственно.

Заключение

Флуоресцентный метод поиска СЛУ при РМЖ имеет свои технологические особенности: в большинстве случаев СЛУ не визуализируется через кожу, его нужно искать в ране, ориентируясь на ход лимфатического протока. Выполнение метода поиска от введения препарата до получения СЛУ занимает 15–30 минут.

Таблица 1. Частота ложноотрицательных результатов при биопсии СЛУ

Источник	п в группах с лимфаденоктимией	Лимфотропный препарат	Частота нахождения СЛУ в %	Частота ложноотрицательных результатов в %
1. Canavese G. et al. [7]	115	^{99m} Tc + blue dye	99,1	22,9 (8/35)
2. Veronesi U. et al. [20]	257	^{99m} Tc	98,8	8,8 (8/91)
3. Zavagno G. et al. [25]	323	^{99m} Tc	94,9	16,7 (18/108)
4. Krag D.N. et al. [15]	2807	^{99m} Tc + Isosulfan blue	97,3	9,8 (75/766)
В объединённой группе 1-4	3502	^{99m} Tc + \-	94,9- 99,1	10,9 (109/1000)
Наши данные	100	Индоцианин зелёный	98%	3,6 (1/28)

У больных с cN0 метод по своим диагностическим характеристикам идеален, может применяться в самостоятельном варианте. Очевидным преимуществом флуоресцентного метода является отсутствие лучевой нагрузки на пациента и персонал.

Благодарность: авторы благодарят профессоров G.C. Wishart и J.R. Bensen за обучение технологии биопсии СЛУ с использованием флуоресцентной лимфографии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вельшер Л.З., Решетов Д.Н., Габуня З.Р., и др. Сто-рожевые лимфатические узлы при раке молочной железы // Маммология. — 2007. — № 1. — С. 23-25.
2. Петровский А.В., Афанасьева К.В., Гончаров М.О. и др. Использование различных радиофармпрепаратов при биопсии сторожевых лимфатических узлов у больных раком молочной железы // Радиационная онкология и ядерная медицина. — 2013. — № 1. — С. 85-89.
3. Криворотко П.В., Канаев С.В., Семиглазов В.Ф. и др. Методологические проблемы биопсии сигнальных лимфатических узлов у больных раком молочной железы // Вопросы онкологии. — 2015. — Т. 61. — № 3. — С. 418-423.
4. Ansari B., Ogston S.A., Purdie C.A. et al. Meta-analysis of sentinel node biopsy in ductal carcinoma in situ of the breast // Br. J. Surg. — 2008. — Vol. 95. — P. 547-554.
5. Ballardini B., Santoro L., Sangalli C. et al. The indocyanine green method is equivalent to the ^{99m}Tc-labeled radiotracer method for identifying the sentinel node in breast cancer: a concordance and validation study // Eur. J. Surg. Oncol. — 2013. — Vol. 39. — P. 1332-1336.
6. Cabanas R. An approach for the treatment of penile carcinoma // Cancer. — 1977. — Vol. 39. — P. 456-466.
7. Canavese G., Catturich A., Vecchio C. et al. Sentinel node biopsy compared with complete axillary dissection for staging early breast cancer with clinically negative lymph nodes: results of randomized trial // Ann. Oncol. — 2009. — Vol. 20. — P. 1001-1007.
8. Coates A.S., Winer E.P., Goldhirsch A. et al. Tailoring therapies—improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015 // Ann Oncol. — 2015. — Vol. 26. — P. 1533-1546.
9. Curigliano G., Burstein H.J., Winer E.P. et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017 // Ann Oncol. — 2017. — Vol. 28. — P. 1700-1712.
10. Giammarile F., Alazraki N., Aarsvold J.N. et al. The EANM and SNMMI practice guideline for lymphoscintigraphy and sentinel node localization in breast cancer // Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. — 2013. — Vol. 40. — P. 1932-1947.
11. Gould E.A., Winship T., Philbin P.H., Kerr H.H. Observations on a "sentinel node" in cancer of the parotid // Cancer. — 1960. — Vol. 13. — P. 77-78.
12. Hojo T., Nagao T., Kikuyama M. et al., Evaluation of sentinel node biopsy by combined fluorescent and dye method and lymph flow for breast cancer // Breast. — 2010. — Vol. 19. — P. 210-213.
13. Karakatsanis A., Christiansen P.M., Fischer L. et al. The Nordic SentiMag trial: a comparison of super paramagnetic iron oxide (SPIO) nanoparticles versus Tc(99) and patent blue in the detection of sentinel node (SN) in patients with breast cancer and a meta-analysis of earlier studies // Breast Cancer Res Treat. — 2016. — Vol. 157. — P. 281-294.
14. Kitai T., Inomoto T., Miwa M., Shikayama T. Fluorescence navigation with indocyanine green for detecting sentinel lymph nodes in breast cancer // Breast Cancer. — 2005. — Vol. 12. — P. 211-215.
15. Krag D.N., Anderson S.J., Julian T.B. 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 Oncol. — 2010. — Vol. 11. — P. 927-933.
16. Motomura K., Inaji H., Komoike Y. et al. Sentinel node biopsy guided by indocyanine green dye in breast cancer patients // Jpn J. Clin. Oncol. — 1999. — Vol. 29. — P. 604-607.
17. Murawa D., Hirche C., Dresel S., H nerbein M. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer guided by indocyanine green fluorescence // Br. J. Surg. — 2009. — Vol. 96. — P. 1289-1294.
18. Petrelli F., Lonati V., Barni S. Axillary dissection compared to sentinel node biopsy for the treatment of pathologically node-negative breast cancer: a meta-analysis of four randomized trials with long-term follow up // Oncol. Rev. — 2012. — Vol. 6. — e20.
19. Vera D.R., Wallace A.M., Hoh C.K. A synthetic macromolecule for sentinel node detection: (99m)Tc-DTPA-mannosyl-dextran // J. Nucl. Med. — 2001. — Vol. 42. — P. 951-959.
20. Veronesi U., Paganelli G., Viale G. et al. A Randomized Comparison of Sentinel-Node Biopsy with Routine Axillary Dissection in Breast Cancer // N. Engl. J. Med. — 2003. — Vol. 349. — P. 546-553.
21. Veronesi U., Viale G., Paganelli G. et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: ten year results of a randomized controlled study // Ann Surg. — 2010. — Vol. 251. — P. 595-600.
22. Wang Z., Wu L.C., Chen J.Q. Sentinel lymph node biopsy compared with axillary lymph node dissection in early breast cancer: a meta-analysis // Breast Cancer Res Treat. — 2011. — Vol. 129. — P. 675-689.
23. Wishart G.C., Loh S.W., Jones L., Benson J.R. A feasibility study (ICG-10) of indocyanine green (ICG) fluorescence mapping for sentinel lymph node detection in early breast cancer // Eur. J. Surg. Oncol. — 2012. — Vol. 38. — P. 651-656.
24. Xiong L., Gazyakan E., Yang W. et al. Indocyanine green fluorescence-guided sentinel node biopsy: a meta-analysis on detection rate and diagnostic performance // Eur. J. Surg. Oncol. — 2014. — Vol. 40. — P. 843-849.
25. Zavagno G., De Salvo G.L., Scalco G. et al. A randomized clinical trial on sentinel lymph node biopsy versus axillary lymph node dissection in breast cancer: results of the Sentinella/GIVOM trial // Ann Surg. — 2008. — Vol. 247. — P. 207-213.

Поступила в редколлегию 19.06.2018 г.

S.M. Portnoy^{1}, A.V. Kuznetsov², N.M. Shakirova²,
N.A. Kozlov², A.V. Maslyayev², A.V. Karpov¹,
E.B. Kampova-Polevaya², M.G. Mistakopulo²,
Y.S. Egorov², O.A. Anurova², T.A. Shendrikova²,
A.S. Gornostaeva², D.V. Khailenko²*

Sentinel lymph node biopsy using fluorescent lymphography in cT1-4N0M0 breast cancer patients: high diagnostic capabilities

¹Frau Klinik LLC, Russia,

²N.N. Blokhin Cancer Research Center, subdivision of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Breast cancer cT1-4N0M0 patients usually require a sentinel lymph node biopsy. Sentinel lymph node biopsy with indocyanine green fluorescence detection is a modern technique with a high lymph node detection rate. However, the false-negative rate was not evaluated adequately. Our objective was to determine node detection rate and the false-negative rate. 99 patients with 100 cases of breast cancer cT1-4N0M0 were operated on. The axillary part of an operation consisted of indocyanine green fluorescence-guided SLN biopsy and an axillary lymphadenectomy of levels I-II or I-II-III. A signal lymph node was detected in 98 cases (98 %). In 28 (28.6%) cases out of 98, metastases in signal lymph nodes were found. Other than sentinel lymph node had metastatic lesion only in 35.7% in SLN N+ cases. False negative result occurred in 1 case of 28 (3.6%). The application of indocyanine green fluorescence-guided sentinel lymph node biopsy in cN0 breast cancer patients allows for a high signal lymph node detection rate and a low false negative rate.

Keywords: Breast cancer; Sentinel lymph node biopsy