

ПОРТНОЙ С. М., КУЗНЕЦОВ А. В., ШАКИРОВА Н. М., КОЗЛОВ Н. А., МАСЛЯЕВ А. В., КАРПОВ А. В., КАМПОВА-ПОЛЕВАЯ Е. Б., МИСТАКОПУЛО М. Г., ЕГОРОВ Ю. С., АНУРОВА О. А., ШЕНДРИКОВА Т. А.

PORTNOY S. M., KUZNETSOV A. V., SHAKIROVA N. M., KOZLOV N. A., MASLYAEV A. V., KARPOV A. V., KAMPOVA-POLEVAYA E. B., MISTAKOPULO M. G., EGOROV Y. S., ANUROVA O. A., SHENDRIKOVA T. A.

## Технология биопсии сигнального лимфатического узла с использованием флуоресцентной лимфографии. Предварительные результаты

**Цитирование:** Портной С. М., Кузнецов А. В., Шакирова Н. М., Козлов Н. А., Масляев А. В. и др. Технология биопсии сигнального лимфатического узла с использованием флуоресцентной лимфографии. Предварительные результаты // Злокачественные опухоли. – 2016. – № 4, спецвыпуск 1. С. – 9–13.

**DOI:** 10.18027/2224–5057–2016–4s1–9–13

### Резюме

С целью изучения возможности биопсии сигнального лимфатического узла (СЛУ) методом флуоресцентной лимфографии с применением зелёного индоцианина оперированы 65 больных раком молочной железы (РМЖ) 0–III стадий, в том числе: 1) 8 больных РМЖ cTisNOMO; 2) 45 больных РМЖ cT1–4NOMO; 3) 12 больных РМЖ cT1–4N1–3M0 после эффективной системной терапии с неопределяемыми регионарными метастазами. Больным первой группы выполнялись биопсия СЛУ и мастэктомия с первичной реконструкцией. Дополнительная подмышечная лимфаденэктомия не производилась. Больным второй и третьей групп первым этапом операции выполнялась биопсия СЛУ, затем – органосохраняющая операция или радикальная мастэктомия с сохранением грудных мышц +/- первичная реконструкция молочной железы + подмышечная лимфаденэктомия I–II или I–II–III уровней. СЛУ были выявлены у 60 больных – 92%, не найдены в 5 случаях. В том числе в первой группе СЛУ был найден у 7, у всех – без метастатического поражения. Во второй группе СЛУ найден у 43 – в 96%. В 11 случаях из 43 обнаружены метастазы в СЛУ (26%). Ложноотрицательный результат 1 из 43 (2%). При РМЖ cT1–4N1–3M0 после эффективной системной терапии с исчезновением регионарных метастазов: из 12 таких больных СЛУ найден у 10 – в 83%. В 4 случаях из 10 обнаружены метастазы в СЛУ (40%). Ложноотрицательных результатов 0 из 10. Не было зафиксировано ни одного случая аллергических реакций или других побочных реакций при стандартном подкожном применении индоцианина. Флуоресцентный метод поиска СЛУ 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. По нашей предварительной оценке, метод не уступает радионуклидному методу по частоте обнаружения СЛУ и частоте ложноотрицательных результатов.

### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

рак молочной железы, биопсия сигнального лимфатического узла, зелёный индоцианин, флуоресцентная лимфография

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина»  
Минздрава России, г. Москва. e-mail: sportnoj@yahoo.com

### ВВЕДЕНИЕ

Could EA et al. были первыми, кто обосновал и применил на практике хирургическую тактику биопсии сигнального лимфатического узла (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. 4 больных, которым радикальная шейная диссекция не выполнялась, были прослежены от 2 до 8 лет без признаков рецидива [1].

Нахождение и морфологическая оценка статуса 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 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 [2].



**Рисунок 1.** Ведение индоцианина зелёного (0 мин)



**Рисунок 2.** Получение изображения доминирующего пути лимфооттока (3 мин)



**Рисунок 3.** Флуоресцирующий узел в ране (6 мин)



**Рисунок 4.** Флуоресцирующий узел на препарате (14 мин)

Применительно к раку молочной железы (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 cT1–2N0M0, 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» [3]. Ещё одна клиническая группа, где применима биопсия СЛУ – протоковый рак *in situ*, особенно в ситуации, когда необходима мастэктомия. С одной стороны, у этих больных более высока вероятность обнаружения инвазивного компонента при

плановом гистологическом исследовании всего препарата, с другой стороны, после мастэктомии невозможно выполнить биопсию СЛУ [4, 5].

Общепринятая в настоящее время технология поиска СЛУ основана на радионуклидной маркировке лимфатических узлов с использованием радиофармпрепаратов, включающих  $^{99m}\text{Tc}$ . Средний размер частиц радиофармпрепарата может колебаться от 3 до 400 нм [5], однако использование частиц размером менее 100 нм позволяет более успешно находить СЛУ [6, 7]. Адекватность технологии поиска подтверждается высокой частотой обнаружения сигнального лимфатического узла (>90%) и низкой частотой ложноотрицательных заключений (<10%). К новым технологиям поиска СЛУ относится технология флуоресцентной лимфографии с использованием зелёного индоцианина. Флуоресцентная лимфография не уступает радионуклидной технологии по частоте нахождения СЛУ (94–100%), однако адекватность первой почти не оценена по показателю частоты ложноотрицательных заключений [8, 9, 10, 11, 12].

## ЦЕЛЬ

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 МЕТОДЫ

Анализируются 65 больных РМЖ 0–III стадий, в том числе: 1) 8 больных cTisN0M0 с большой протяжённостью поражения молочной железы протоковым раком *in situ*; 2) 45 больных РМЖ cT1–4N0M0, из них 9 получали предоперационную химиотерапию или гормонотерапию; 3) 12 больных РМЖ cT1–4N1–3M0 после эффективной системной терапии с неопределяемыми регионарными метастазами. Больным первой группы выполнялись биопсия СЛУ и мастэктомия с первичной реконструкцией. Дополнительная подмышечная лимфаденэктомия не производилась. Больным второй и третьей групп первым этапом операции выполнялась биопсия СЛУ, затем – органосохраняющая операция или радикальная мастэктомия с сохранением грудных мышц +/- первичная реконструкция молочной железы + подмышечная лимфаденэктомия I–II или I–II–III уровней. 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. В качестве источника активирующего инфракрасного излучения и регистратора ответной флуоресценции использовалась камера PDE (Photo dynamic eye) фирмы Hamamatsu. 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 внутривожно и подкожно по наружному краю ареолы молочной железы или над опухолью (рисунок 1). Через 2–5 минут можно было видеть флуоресцентное изображение лимфатического пути, идущего к подмышечной области (рисунок 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 СЛУ в глубине тканей подмышечной области. Для этого было необходимо рассечение, как минимум, кожи, подкожной клетчатки и поверхностной фасции (рисунок 3). Технической ошибкой, допущенной несколько раз, являлась попытка проследить ход флуоресцирующего лимфатического протока в ране. Повреждение протока приводило к излиянию индоцианина из протока в рану и беспорядочному прокрашиванию тканей. Для исключения подобной ошибки необходимо 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 (рисунок 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 СЛУ 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

Прооперировано 65 больных РМЖ 0–III стадий. СЛУ были выявлены у 60 больных – 92%, не найдены в 5 случаях.

В частности, из 8 больных раком TisN0M0 СЛУ был найден у 7. У всех – без метастатического поражения и по срочному, и по плановому гистологическому исследованию. При гистологическом исследовании у 7 пациенток не было обнаружено элементов инвазивного рака в молочной железе. У одной пациентки при плановом гистологическом исследовании выявлен внутрипротоковый рак *in situ* G3 с формированием 5 узелков инвазивного рака (от 2 до 4 мм) неспецифического типа G2, в 3 СЛУ – без метастазов.

При раке cT1–4N0M0. Оперировано 45 больных, СЛУ найден у 43 – в 96%. В 11 случаях из 43 обнаружены метастазы в СЛУ (26%). Ложноотрицательный результат 1 из 43 (2%) обусловлен патоморфологическим этапом работы (в 1 из 3-х СЛУ при плановом исследовании выявлен метастаз до 4 мм, не найденный при срочном гистологическом исследовании). Если характеризовать собственно технологию поиска СЛУ, то ложноотрицательных результатов не было.

При РМЖ cT1–4N1–3M0 после эффективной системной терапии с исчезновением регионарных метастазов: из 12 таких больных СЛУ найден у 10 – в 83%. В 4 случаях из 10 обнаружены метастазы в СЛУ (40%). Ложноотрицательных результатов 0 из 10.

Побочные эффекты. Не было зафиксировано ни одного случая аллергических реакций или других побочных реакций при стандартном подкожном применении индоцианина.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Технология поиска СЛУ за прошедшие почти 40 лет эволюционировала, первой была рентгеновская лимфография [2], затем технология с использованием лимфотропных красителей, с 1992 г. по настоящее время – эпоха радиофармпрепаратов, содержащих  $^{99m}\text{Tc}$ . Большинство методических вопросов отработано при исследованиях радионуклидной методики. Показано, что место введения лимфотропного препарата: перитуморально, подкожно над опухолью, периареолярно, внутривожно в ареолу, субареолярно не имеют значения, любой из них позволяет осуществить успешный поиск СЛУ. Мультицентричность опухоли, предшествующая эксцизионная биопсия опухоли не мешают выполнению биопсии СЛУ [5]. 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% [13].

Успешность биопсии СЛУ у больных с N1–3→«N0» после эффективной системной терапии вызывает определённые сомнения. При заведомо поражённых лимфатических узлах наличие или отсутствие метастазов в том или ином лимфатическом узле после системной терапии зависит, по крайней мере, от двух процессов: а) от анатомо-функциональной последовательности лимфооттока и продвижения по этому пути опухолевых клеток и б) от наступления или не наступления полного морфологического регресса. Все технологии биопсии СЛУ оценивают только последовательность лимфооттока. По разным авторам у таких больных частота нахождения СЛУ колеблется от 82 до 98%, частота ложноотрицательных ответов от 9 до 25%, вероятность сохранения лимфатических узлов составляет 32–42% [14, 15, 16, 17, 18]. Причиной неудач считают нарушение распределения радиофармпрепарата в лимфатических узлах вследствие

блокирования оттока лимфы оставшимися метастазами или склеротическими изменениями в лимфатических узлах, развившимися после элиминации опухолевой ткани [18]. Выходом из ситуации являются рекомендации по забору 3 и более сигнальных лимфатических узлов, что обеспечивает снижение уровня ложноотрицательных заключений до 9,1% против 21,1% при биопсии 1–2 лимфатических узлов [18].

Из новых технологий поиска СЛУ можно отметить появление радиофармпрепарата, содержащего молекулу таргетного действия по отношению к Т-лимфоцитам и дендритным клеткам в лимфатических узлах [<sup>99</sup>mTc-tilmanocept (Lymphoseek®)]. Такой механизм действия и малый размер частиц (7 нм) позволяет радиофармпрепарату быстро попадать в СЛУ и надолго там задерживаться [19, 5]. Технология с использованием наночастиц супер парамагнитного оксида железа оказалась не хуже по диагностическим возможностям, чем сочетание радиофармпрепарата с красителем [20]. Флуоресцентная лимфография является также относительно новой технологией. Первая публикация по применению индоцианина для поиска сигнального лимфоузла без использования эффекта флуоресценции относится к 1999 г. [21]. Успешное обнаружение СЛУ в 74% у 172 больных РМЖ. Первое использование индоцианина, основанное на флуоресцентной навигации, также было сделано японскими авторами. СЛУ был обнаружен в 94% [8]. По мнению Ballardini B. с соавторами флуоресцентный метод с индоцианином позволяет находить СЛУ в 99,6%. Флуоресцентная лимфография с индоцианином позволяет легко идентифицировать СЛУ с частотой не ниже, чем при использовании радиоактив-

ных материалов и может использоваться как самостоятельный метод [11]. Флуоресцентная лимфография не уступает радионуклидной технологии по частоте нахождения СЛУ (94–100%) или превосходит её [8, 9, 10, 11, 12], 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% [22].

В нашем исследовании, несмотря на технические неудачи, связанные с освоением метода (3 случая не нахождения СЛУ из 5 были связаны с пересечением лимфатического протока и выходом индоцианина в ткань), частота нахождения СЛУ оказалась на приемлемом уровне, – 92%. По показателю ложноотрицательных ответов поиск СЛУ, основанный на флуоресцентной лимфографии, не давал осечек, 0 из 53 случаев.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Флуоресцентный метод поиска СЛУ 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. По нашей предварительной оценке, метод не уступает радионуклидному методу по частоте обнаружения СЛУ и частоте ложноотрицательных результатов.

## ЛИТЕРАТУРА

- Gould EA, Winship T, Philbin PH, Kerr HH. Observations on a «sentinel node» in cancer of the parotid. *Cancer*. 1960; 13: 77–8.
- R. Cabanas. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 39:456–466, 1977.
- A. S. Coates, E. P. Winer, A. Goldhirsch, 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. *Annals of Oncology* 2015, 26:1533–1546.
- Ansari B, Ogston SA, Purdie CA, et al. Meta-analysis of sentinel node biopsy in ductal carcinoma in situ of the breast. *Br J Surg*. 2008 May;95(5):547–54.
- F. Giammarile, N. Alazraki, J. N. Aarsvold, et al. The EANM and SNMMI practice guideline for lymphoscintigraphy and sentinel node localization in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2013) 40:1932–1947.
- 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, 85–89.
- Криворотько П. В., Канаев С. В., Семглазов В. Ф. и др. Методологические проблемы биопсии сигнальных лимфатических узлов у больных раком молочной железы. *Вопросы онкологии*. 2015, 61, 3, 418–423.
- Kitai T, Inomoto T, Miwa M, Shikayama T. Fluorescence navigation with indocyanine green for detecting sentinel lymph nodes in breast cancer. *Breast Cancer* 2005;12:211–215.
- 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 Jun;19(3):210–3.
- Wishart GC, Loh SW, Jones L, Benson JR. 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 Aug;38(8):651–6.
- Ballardini B, Santoro L, Sangalli C. et al, The indocyanine green method is equivalent to the <sup>99</sup>mTc-labeled radiotracer method for identifying the sentinel node in breast cancer: a concordance and validation study. *Eur J Surg Oncol*. 2013 Dec;39(12):1332–6.
- 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 Jul;40(7):843–9.
- Л. З. Вельшер, Д. Н. Решетов, З. Р. Габуня, и др. Сторожевые лимфатические узлы при раке молочной железы. *Маммология*, 2007, № 1, 23–25.
- Shen J, Gilcrease MZ, Babiera GV et al. Feasibility and accuracy of sentinel lymph node biopsy after preoperative chemotherapy in breast cancer patients with documented axillary metastases. *Cancer*. 2007 Apr 1;109(7):1255–63.
- Newman EA, Sabel MS, Nees AV et al. Sentinel lymph node biopsy performed after neoadjuvant chemotherapy is accurate in patients with documented node-positive breast cancer at presentation. *Ann Surg Oncol*. 2007 Oct; 14(10):2946–52.

16. J.-M. Classe, V. Bordes, L. Campion et al. Sentinel Lymph Node Biopsy After Neoadjuvant Chemotherapy for Advanced Breast Cancer: Results of Ganglion Sentinelle et Chimiothérapie Neoadjuvante, a French Prospective Multicentric Study *J Clin Oncol* 27:726–732.2008.
17. Alvarado R, Yi M, Le-Petross H. et al. The role for sentinel lymph node dissection after neoadjuvant chemotherapy in patients who present with node-positive breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2012 Oct;19(10):3177–84.
18. J. C. Boughey, V. J. Suman, E. A. Mittendorf, et al. Sentinel Lymph Node Surgery after Neoadjuvant Chemotherapy in Patients With Node-Positive Breast Cancer: The American College of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) Z1071 Clinical Trial *JAMA*. 2013 October 9; 310(14): 1455–1461.
19. Vera DR, Wallace AM, Hoh CK. A synthetic macromolecule for sentinel node detection: (99m)Tc-DTPA-mannosyl-dextran. *J Nucl Med*. 2001;42:951–9.
20. Karakatsanis A, Christiansen PM, 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 Jun;157(2):281–94.
21. 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;29:604–607.
22. Murawa D, Hirche C, Dresel S, Hünnerbein M. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer guided by indocyanine green fluorescence. *Br J Surg*. 2009 Nov;96(11):1289–94.