



Universitat Autònoma de Barcelona

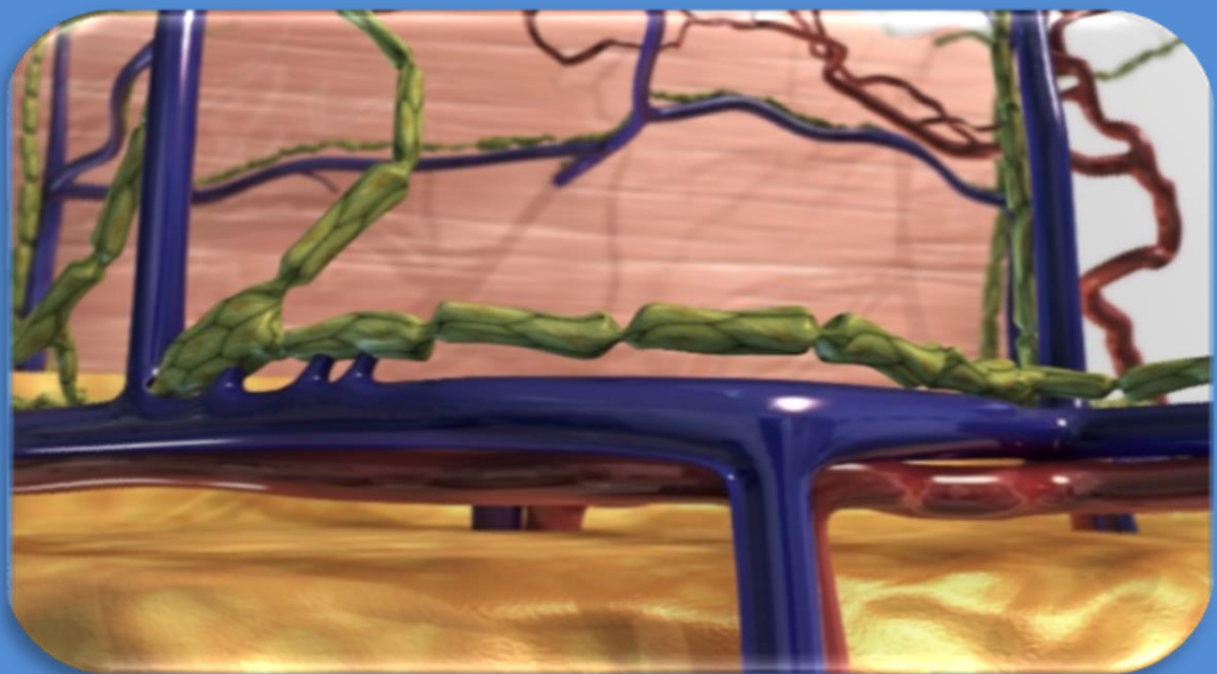
ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Anastomosis linfático-venosas naturales y su papel en la cirugía del linfedema

María del Carmen Miranda Garcés



2017



Universitat Autònoma
de Barcelona

ANASTOMOSIS LINFÁTICO-VENOSAS NATURALES Y SU PAPEL EN LA CIRUGÍA DEL LINFEDEMA

TESIS DOCTORAL

MARÍA DEL CARMEN MIRANDA GARCÉS

Programa de Doctorado

Cirugía y Ciencias Morfológicas

Directores

Dra. Rosa M^a Mirapeix Lucas

Dr. Jaume Masià Ayala

Tutora

Dra. Rosa M^a Mirapeix Lucas

Barcelona, 2017

*No existe nada más poderoso que una idea
a la que le ha llegado su tiempo.*

*Nothing is more powerful than an
idea whose time has come.*

VICTOR HUGO

Dedicatoria

A día de hoy, en la sociedad y en el mundo médico la desigualdad de género es aún la regla más que la excepción por eso quiero dedicar esta tesis a estas excepcionales mujeres que han influido en mi vida personal y en mi carrera profesional, unas en mayor grado que otras, pero todas de algún modo especial.

A Carmen y Magdalena mis abuelas. Lourdes mi madre. Gay que ha sido como mi madre adoptiva en Europa. Marilú y Cecilia mis hermanas. Laura, Ximena, Miriam, Fanny, Azucena, Rocío, Susana y María Luisa mis tías. Gabriela, Vanessa, Mariarosa, Berniza, Cristina y Carmen Damián mis amigas. María de los Ángeles mi prima. Martina, Rosa y Gill figuras de inspiración médica.

A todas las mujeres que por medio de sus esfuerzos y lucha constante han conseguido que las que venimos detrás de ellas, disfrutemos de derechos que ahora se dan por sentado pero que en otras épocas no existían, como el derecho a votar, a estudiar, a tener una carrera profesional, a decidir sobre nuestras vidas. Esos derechos no han sido fáciles de lograr, aún no son universales y hay que reconquistarlos cada día. Aún quedan muchos por conseguir.

A los hombres a los que no les asusta que haya igualdad de género, sino que la viven y la promueven. A Tony, uno de ellos.

Y a mi sobrino Benjamín, por despertar en mí un sentimiento maternal cada vez que le veo.

Agradecimientos

La idea en la que se basó esta investigación surgió en Taiwan en el año 2013 cuando asistí al International Symposium on Surgical Treatment of Lymphedema organizado por el Chang Gung Memorial Hospital y MD Anderson. Durante esa reunión se presentaron una gran variedad de colgajos de ganglios linfáticos vascularizados, pero en ese momento no obtuve respuestas satisfactorias sobre que colgajo es mejor o sobre cómo funciona este tipo de colgajos. Esa duda fue la que me motivó a investigar más sobre el tema. Además, fue durante ese simposio que empezó mi pasión por la cirugía del linfedema.

En el año 2014, al terminar mi especialidad en Madrid y ante la falta de un trabajo en cirugía reconstructiva, decidí dejarlo todo y mudarme a Barcelona para iniciar mi doctorado. Quiero agradecer a la Dra. Rosa Mirapeix, Profesora de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona porque aceptó ser mi directora de tesis sin conocerme. El proyecto iba a realizarse inicialmente en cadáver, pero resultó no ser el modelo adecuado para este estudio. Para aprender la técnica de identificación de linfáticos en cadáver viajé a MD Anderson Cancer Center en Houston, y mis agradecimientos en ese caso van para el Prof. Hiroo Suami quien me abrió las puertas de su laboratorio y del hospital.

También quiero agradecer al Dr. Jaume Masià porque también sin conocerme, luego de contactarle por email, aceptó escuchar mi idea de plan de tesis y posteriormente apoyarla. El Dr. Masià me dio la oportunidad de investigar la hipótesis de este estudio en el Hospital de Sant Pau en un modelo funcional con verde de indocianina. Además, me enseñó cómo se trata el linfedema en el Hospital de Sant Pau, pionero en España en el manejo quirúrgico

de esta patología. Gracias por abrirme las puertas del hospital. Gracias a la Dra. Gemma Pons Playà por ayudarme a recoger la muestra necesaria para la investigación.

Gracias sobre todo, a los pacientes que fueron parte del estudio. Estoy muy contenta de que hayamos obtenido resultados que ayudarán a optimizar la cirugía del linfedema.

Además quiero agradecer al Prof. Koshima, pionero a nivel mundial de la cirugía de perforantes y supramicrocirugía para el tratamiento del linfedema, por su generosidad y por transmitirme algunos de sus conocimientos cuando visité su hospital. Él me dio la oportunidad de presentar los resultados preliminares de esta investigación en su hospital, Tokio University Hospital, en Japón el año pasado y me dijo que cree que este trabajo cambiará la cirugía del linfedema. Sus palabras fueron y siguen siendo una fuente de inspiración y motivación.

Pero llegar aquí no ha sido fácil. No hay apoyo económico en lo absoluto para investigación. Este ha sido un trabajo que ha salido adelante por mi pasión por el tema. Trabajé a tiempo completo de lunes a domingo durante casi 10 meses sin recibir un salario, los viajes y estancias en el extranjero han sido autofinanciados. Por lo que al terminar los 10 meses de investigación a tiempo completo continué con mi investigación mientras trabajaba, haciendo pausas para escribir los resultados. Además, y aunque parezca poco, conseguir los artículos de investigación fue un reto en sí. Quiero agradecer a Willy Blanco Pérez por su ayuda en la búsqueda bibliográfica. Agradezco al Dr. Ignasi Gich por ayudarme con el análisis estadístico de la investigación y por recordarme esa ciencia. A Caroline Newey por su ayuda con la redacción en inglés de los artículos. Desde que corregimos el primer artículo cada vez que escribo algo trato de recordar lo que me enseñó. A mi hermano Guillermo Miranda por ayudarme con los gráficos de las publicaciones.

Gracias por el apoyo “moral” y por hacerme reír a Gabriela Sacoto y Tony Mckenna. Sin ustedes no hubiese continuado cuando la cosa se ponía difícil.

Gracias por supuesto a mis padres Juan y Lourdes, sus enseñanzas y amor trascienden todos los días la distancia y el tiempo. A mis hermanos Marilú, Juan, Guillermo, Thomas y Cecilia porque son un regalo de la vida y es un inmenso privilegio tenerles y saber que están ahí. A mis abuelitos y tías por su cariño. A Berniza porque verte hacer tu tesis me empujó a empezar la mía.

Y “last but not least” al Dr. Vicente García Morato. Gracias Vicente porque has sido mi primer maestro en este hermoso campo de la cirugía plástica y me has enseñado mucho. Todavía me acuerdo de tu luz en los sitios oscuros del hospital.

Resumen de las publicaciones

La primera publicación es una revisión exhaustiva sobre las anastomosis linfático-venosas, en ella se analizan además las implicaciones clínicas de éstas en la cirugía del linfedema. Esta revisión fue la base para justificar la investigación que se detalla en la segunda publicación, cuyo objetivo es demostrar la existencia de anastomosis linfático-venosas intratisulares.

El modelo de investigación necesario para lograr ese objetivo se definió luego de realizar dos estudios piloto. Inicialmente, se planeó investigar la existencia de anastomosis linfático-venosas intratisulares en el tejido adiposo de colgajos submentonianos, supraclaviculares e inguinales en un modelo en cadáver. Sin embargo, ese modelo resultó no ser adecuado para esta investigación.

PRIMER ARTÍCULO

Miranda Garcés, M, Mirapeix R, Pons G, Sadri A, Masià J. *A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery.* J Surg Oncol 2016; 113(4):374-380

La prevalencia del linfedema tras un cáncer de mama se estima en un 21%. Las técnicas quirúrgicas reconstructivas del linfedema incluyen las anastomosis linfático-venosas microquirúrgicas y las transferencias de ganglios linfáticos vascularizados. A pesar de que estas técnicas no revierten la fisiopatología del linfedema, pueden mejorar el transporte linfático y descomprimir parcialmente el espacio intersticial retardando la progresión del linfedema.

Las comunicaciones linfático-venosas se han encontrado tanto en personas sanas como en pacientes con patologías del sistema linfático, aunque con tasas de prevalencia más bajas, lo que implica un mecanismo compensatorio. El conocer el tipo de anastomosis linfático-venosas y su funcionamiento permite entender el mecanismo de acción y efectividad de los colgajos de ganglios linfáticos. Estos colgajos drenan la linfa del miembro afecto a la circulación sanguínea a través de comunicaciones linfático-venosas localizadas en el interior de los ganglios. Como resultado de esta revisión, se propone la hipótesis de que el tejido adiposo que rodea a los ganglios es también un tejido activo y contiene anastomosis linfático-venosas periféricas.

En el funcionamiento de las anastomosis linfático-venosas y de los colgajos de ganglios linfáticos vascularizados, la presión venosa de la zona receptora del colgajo es un factor esencial y se debe considerar al momento de planificar la cirugía. Colocar un colgajo en zonas receptoras distales, donde la presión venosa es mayor que en zonas proximales, afecta al funcionamiento del colgajo.

En este artículo se revisa la fisiología y fisiopatología de las anastomosis linfático-venosas, abriendo nuevas puertas a la investigación en este campo.

SEGUNDO ARTÍCULO

Miranda Garcés M, Pons G, Mirapeix R, Masià J. *Intratissue lymphovenous communications in the mechanism of action of vascularized lymph node transfer*. J Surg Oncol 2017; 115(1):27-31

Antecedentes: La transferencia de ganglios linfáticos vascularizados para el tratamiento del linfedema ha demostrado efectos beneficiosos. El mecanismo de acción no se conoce con exactitud.

Objetivos: Comprobar el transporte de linfa al sistema venoso a través de anastomosis linfático-venosas intratisulares en los colgajos libres utilizados en reconstrucción mamaria.

Material y métodos: Se trata de un estudio observacional prospectivo que se llevó a cabo de octubre de 2014 a septiembre de 2015 en el Departamento de Cirugía Plástica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en Barcelona. Se estudiaron un total de 26 colgajos de perforantes DIEP (22 colgajos) y SGAP (4 colgajos) que se realizaron en pacientes intervenidas para reconstrucción mamaria. Se evaluó si la vena del pedículo mostraba fluorescencia positiva tras la inyección intradérmica de verde de indocianina en los bordes del colgajo a intervalos de tiempo que se incrementaron gradualmente (5, 30, 45, 60 y 120 min). Para esto utilizamos imagen por fluorescencia de infrarrojos cercanos con verde de indocianina. Se hizo un análisis estadístico de los resultados con el programa SPSS 23.0.

Resultados: Se estudiaron 26 colgajos libres, 22 colgajos DIEP (84.6%) y 4 colgajos SGAP (15.4%). La fluorescencia fue positiva en la vena del pedículo de 22 de los 26 colgajos ($p=0.000$). La mediana de tiempo para la evaluación de la fluorescencia en la vena del pedículo fue de 120 minutos. El análisis estadístico de la variable tiempo entre colgajos no fue significativo ($p=0.558$).

Conclusión: La fluorescencia positiva en la vena del pedículo luego de la inyección intradérmica de verde de indocianina indica la presencia de anastomosis linfático-venosas intratisulares en los colgajos libres estudiados debido a que su sistema linfático se

interrumpe durante su disección. Además, porque el verde de indocianina no puede atravesar la pared de los vasos sanguíneos ya que se une a proteínas de gran tamaño.

Summary of papers

The first publication is an exhaustive review of lymphaticovenous anastomoses, which analyses the clinical implications of lymphedema surgery. This review forms the starting point for the research detailed in the second publication, which aims to demonstrate the existence of intratissue physiological lymphaticovenous communications.

The research model needed to achieve this goal was defined following two pilot studies. We began by investigating the presence of intratissue lymphaticovenous communications in the adipose tissue of submental, supraclavicular and inguinal flaps in a cadaveric morphological model.

FIRST PAPER

Miranda Garcés, M, Mirapeix R, Pons G, Sadri A, Masià J. *A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery.* J Surg Oncol 2016; 113(4):374-380

The prevalence of breast cancer-related lymphedema has been estimated at 21%. Reconstructive techniques for lymphedema include microsurgical lymphaticovenous anastomosis and vascularized lymph node transfer. Although these techniques do not reverse the pathophysiology of lymphedema, they can improve lymph transport, partially decompress the interstitial space, and delay the progression of structural changes. The prevalence of lymphaticovenous communications has been found to be lower in normal people than in patients with pathologies of the lymphatic system, suggesting the existence of a compensatory mechanism. Understanding the function of the different types of lymphaticovenous communications will in turn allow us to understand the mechanism of action of lymph node flaps, which drain lymph from the lymphedematous limb to the blood circulation through lymphaticovenous communications within the lymph nodes. Our review suggests that the tissue surrounding the lymph nodes in a lymph node flap is active and contains intratissue lymphaticovenous communications.

Another fundamental factor to be considered in the functioning of lymphaticovenous communications in the recipient site area is venous pressure. Venous pressure is lower in proximal than distal recipient sites, and so it must be controlled when planning and performing vascularized lymph node transfer.

In this paper, we review and discuss the physiology and pathophysiology of lymphaticovenous communications.

SECOND PAPER

Miranda Garcés M, Pons G, Mirapeix R, Masià J. *Intratissue lymphovenous communications in the mechanism of action of vascularized lymph node transfer.* J Surg Oncol 2017; 115(1):27-31

Background: Vascularized lymph node transfer has shown beneficial effects as a surgical treatment for cancer-related lymphedema. However, the mechanism of action of this procedure is not fully known.

Objectives: To investigate the existence of intratissue lymphaticovenous communications in free flaps used for breast reconstruction.

Materials and Methods: A prospective observational study determining the passage of lymph to the venous system via intratissue lymphaticovenous communications in a total of 26 free flaps (22 DIEP and four SGAP) used for breast reconstruction. The study was carried out at the Plastic Surgery Department of the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau from October 2014 to September 2015. Fluorescence positivity was assessed in the pedicle vein after increasing time intervals (5, 30, 45, 60 and 120 min) following intradermal injection of indocyanine green (ICG) dye into the flaps using near infra-red fluorescence imaging. Statistical analysis was performed using SPSS 23.0 software.

Results: Fluorescence in the pedicle vein was positive in 22 of the 26 free flaps studied ($p = 0.000$). The median time for fluorescence evaluation in the pedicle vein was 120 min. The analysis of the time between flaps did not indicate a statistically significant effect ($p=0.558$), even when only positive results were considered ($p=0.093$).

Conclusions: The fluorescence in the pedicle vein after indocyanine green intradermal injection indicates the presence of functional intratissue lymphaticovenous communications in the free flaps studied because the lymphatic system was disrupted during its dissection, and

also because indocyanine green binds to large proteins and cannot cross the walls of the blood vessels.

Abreviaciones

ALV	Anastomosis linfático-venosa
CGLV	Colgajo de ganglios linfáticos vascularizados
DIEP	Deep inferior epigastric perforator
LVC	Lymphovenous communications
SGAP	Superior gluteal artery perforator
TGLV	Transferencia de ganglios linfáticos vascularizados
VLNT	Vascularized lymph node transfer
VLNF	Vascularized lymph node flap

Anastomosis linfático-venosas naturales y su papel en la cirugía del linfedema



Índice

1. Introducción	25
1.1 Linfedema	27
1.2 Diagnóstico	28
1.2.1. Linfogramagrafía	30
1.2.2. Linfografía por resonancia magnética	30
1.2.3. Linfografía con verde de indocianina	31
1.3. Tratamiento	33
1.3.1. No quirúrgico	33
1.3.2. Quirúrgico	33
1.3.2.1. Técnicas reductivas /de resección	34
1.3.2.2. Técnicas reconstructivas	35
2. Hipótesis	45
3. Objetivos	49
4. Justificación	53
5. Materiales y métodos	57
5.1. Diseño	59
5.1.1. Diseño primera publicación	59
5.1.2. Diseño segunda publicación	59
5.2. Lugar donde se realizó la tesis	60
5.3. Población	60
5.4. Criterios de inclusión y exclusión	60
5.5. Protocolo de estudio	61
5.6. Análisis estadístico	63
6. Resultados	65
6.1. Primera publicación	67
6.2. Segunda publicación	67
7. Publicaciones	69
7.1. Primer artículo	71
7.2. Segundo artículo	81
8. Discusión e implicaciones clínicas	89
8.1. Discusión	91
8.2. Implicaciones clínicas	93
9. Conclusiones	97
10. Bibliografía	103
Anexos	109
Anexo I: Informe del estudio piloto realizado en cadáver	111
Anexo II: Presentación de los resultados preliminares en reuniones científicas internacionales	129
Anexo III: Publicación en revista no indexada	133
Anexo IV: Impacto en las redes sociales	139

1

Introducción

1.1. LINFEDEMA

El linfedema se define como un aumento anormal de linfa en los espacios intersticiales debido a una alteración del funcionamiento del sistema linfático, que se manifiesta por edema en una extremidad o región del cuerpo. Es una condición crónica y progresiva que afecta a la calidad de vida del paciente. Clásicamente, se ha descrito que el linfedema aparece clínicamente cuando el volumen acumulado de linfa en el intersticio supera aproximadamente el 20% del normal.

El linfedema puede ser primario o secundario. El primario es congénito y se caracteriza por la aplasia, hipoplasia o hiperplasia de los vasos linfáticos y/o por alteraciones de los ganglios linfáticos.

El linfedema secundario es el más frecuente y puede ser debido a infecciones (filariasis), traumatismos y postquirúrgico. En el mundo no desarrollado la principal causa de linfedema es la filariasis, mientras que en el mundo occidental es el cáncer de mama y su tratamiento (linfadenectomía, radioterapia y quimioterapia). El linfedema de miembro superior ocurre en un 16-39 % de pacientes tratadas por cáncer de mama. Desde la introducción de la biopsia del ganglio centinela para el estudio de la extensión y estadificación del cáncer de mama, la incidencia del linfedema ha disminuido. Otras neoplasias que presentan alta incidencia de linfedema como consecuencia de la propia enfermedad o de sus tratamientos, son las neoplasias de aparato genital femenino (cáncer de ovario y de útero), así como el carcinoma de próstata y el melanoma. Se han descrito prevalencias de linfedema de miembro inferior que oscilan entre 26 y 50% en pacientes sometidos a linfadenectomía inguinal radical (1, 2).

La fisiopatología del linfedema no se conoce del todo. En términos generales en el linfedema secundario, la presencia de obstrucción o destrucción de los vasos colectores linfáticos produce una acumulación de líquido linfático en los vasos linfáticos y en el intersticio. La acumulación de linfa empeora por la filtración continua de líquido intersticial

desde los capilares sanguíneos y por la continua reabsorción del mismo por parte de los vasos linfáticos. El resultado es un aumento en las presiones de los compartimentos subcutáneo e intramuscular que agrava la obstrucción del flujo linfático. Como consecuencia, los colectores linfáticos sufren insuficiencia debido al esfuerzo que tienen que realizar para drenar el tejido afectado. La insuficiencia se caracteriza por una alteración de la contracción de los linfangiones e incompetencia de las valvas, dando lugar a reflujo linfático. Los episodios de linfangitis propios del linfedema agravan la insuficiencia.

Los fluidos que se acumulan en la piel y tejido subcutáneo contienen citocinas, quimiocinas y células inmunitarias que producen un proceso inflamatorio crónico.

Secundarios a la obstrucción e inflamación aparecen infiltrados de células inflamatorias en la epidermis, dermis y tejido subcutáneo. Además, se producen cambios en la piel, hipertrofia del tejido graso, y fibrosis de los ganglios linfáticos, de los tejidos perilinfáticos y de las fascias musculares (3).

Se han identificado varios factores que incrementan el riesgo de desarrollar linfedema: número de ganglios resecaados (a mayor número mayor riesgo), radioterapia, quimioterapia, obesidad, edad (el riesgo es mayor en pacientes de edad avanzada), presencia de edema en el período postoperatorio inmediato, infección y estado general del paciente (4-6).

1.2. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de linfedema es clínico. La Sociedad Internacional de Linfología (ISL por sus siglas en inglés) ha establecido un sistema de estadiaje del linfedema que se basa en hallazgos clínicos (Tabla 1) (7). El estadio 0, linfedema latente o subclínico puede progresar a linfedema clínico de forma temprana o años después de la disrupción del sistema linfático. Las infecciones son factores desencadenantes y exacerbantes del linfedema. El linfedema

de larga evolución puede complicarse con la aparición de linfangiosarcoma que es un tumor vascular maligno infrecuente (2, 8).

Tabla 1. Estadiaje del linfedema de la International Society of Lymphology (ISL)

Estadio 0	Fase latente de linfedema. No se evidencia edema a pesar de existir un transporte linfático deteriorado. Puede existir durante meses o años antes de que el edema se haga evidente.
Estadio I	Representa el inicio precoz de la enfermedad. Se caracteriza por edema leve reversible con la elevación de la extremidad. El edema puede dejar fóvea.
Estadio II temprano	Edema no reversible con la elevación de la extremidad. Presencia de edema con fóvea.
Estadio II tardío	Edema sin fóvea debido a que la fibrosis y el depósito de grasa en los tejidos son más avanzados.
Estadio III	Presencia de linfostasis elefantíaca. Los tejidos se encuentran indurados. Se caracteriza por cambios en la piel como hiperqueratosis, hiperpigmentación, depósitos grasos y papilomatosis.

Es importante realizar el diagnóstico diferencial de linfedema con otras patologías causantes de edema como insuficiencia cardíaca, patología renal, trombosis venosa profunda, etc. También es importante diferenciar el linfedema del lipedema. El lipedema es una patología en la que existe un depósito anormal de grasa y se localiza más frecuentemente en los glúteos, caderas y miembros inferiores. Se caracteriza porque no existe la presencia de edema, no hay afectación de los pies, produce dolor y en ocasiones hematomas tras mínimos traumatismos.

En la actualidad el sistema linfático puede ser estudiado a través de varias técnicas de imagen que son poco invasivas y seguras. Estas técnicas son útiles en el diagnóstico de linfedema y necesarias para la planificación y ejecución de la cirugía del linfedema. Entre estas técnicas se encuentran la linfogammagrafía, la linfografía por resonancia magnética y linfografía con verde de indocianina (8, 9).

1.2.1. Linfogramgrafía

Es una técnica útil para valorar anomalías del sistema linfático como áreas de obstrucción, ausencia de grupos ganglionares o disminución del número de canales linfáticos. También permite valorar la función de los canales linfáticos y el drenaje linfático hacia los distintos grupos ganglionares (Figura 1). Además, permite determinar de forma semicuantitativa la gravedad del linfedema (8).

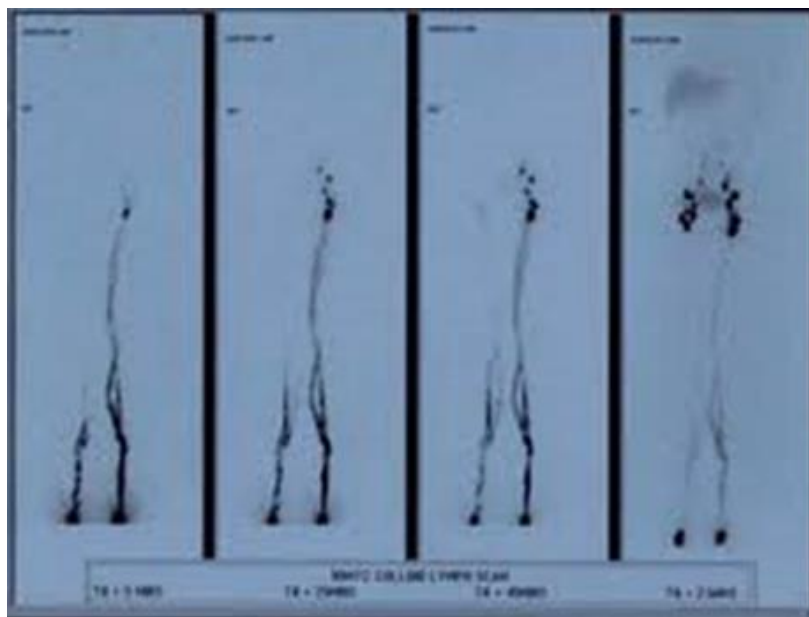


Figura 1. Linfogramgrafía de miembros inferiores

1.2.2. Linfografía por resonancia magnética

Esta técnica brinda información anatómica de alta resolución del sistema linfático. Una de las limitaciones de su uso solía ser la dificultad para diferenciar de forma precisa los vasos linfáticos de las venas. Sin embargo, existen en la actualidad métodos para diferenciar los dos tipos de vasos. Es una técnica útil de cara a la planificación de las anastomosis linfático-venosas (ALV) microquirúrgicas pues permite identificar los canales linfáticos que pueden ser utilizados para esta cirugía (Figura 2) (8, 9).

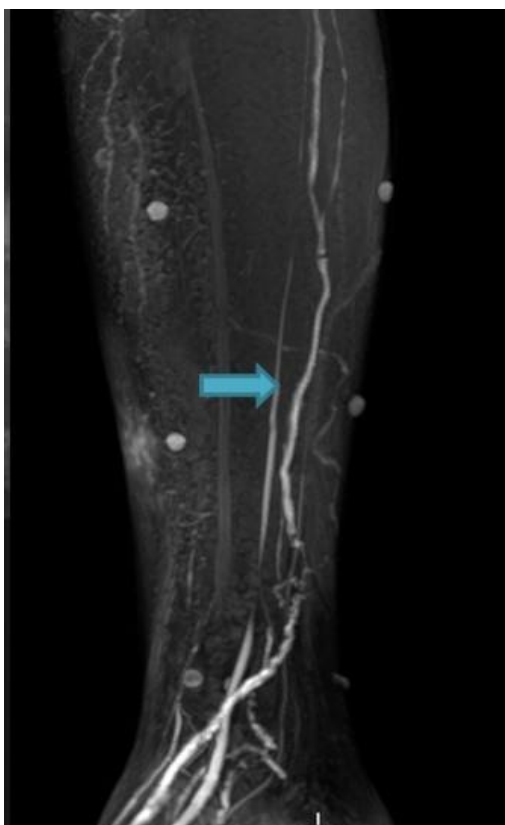


Figura 2. Linfografía por resonancia magnética de miembro superior. La flecha marca un canal linfático.

1.2.3. Linfografía con verde de indocianina

Esta técnica fue introducida en Japón en el año 2007. Permite la visualización de los canales linfáticos y la valoración de su anatomía y función. Además, muestra cambios característicos del linfedema en sus distintas fases. La linfografía con verde de indocianina es fundamental para seleccionar los canales linfáticos que se utilizarán para ALV microquirúrgicas y a diferencia de la linfografía por resonancia magnética permite observar el flujo linfático en tiempo real y se puede realizar de forma ambulatoria e intraoperatoriamente (8, 10).

El verde de indocianina es una sustancia segura y bien tolerada. Se ha utilizado en la práctica clínica por vía intravenosa durante casi 60 años, para angiografía ocular y para estudiar la función hepática y cardíaca. Más recientemente se ha utilizado por vía

subcutánea para el estudio del sistema linfático en pacientes con linfedema y para la detección del ganglio centinela (11, 12).

El verde de indocianina es una tricarbocianina que emite fluorescencia al ser estimulada por una fuente de infrarrojos cercanos (longitud de onda 780 nm). La fluorescencia es detectada por una cámara con un dispositivo de acoplamiento de carga que filtra las longitudes de onda por debajo de 820 nm. Tras su inyección, el verde de indocianina es captado por los vasos linfáticos que se observan como imágenes fluorescentes en un monitor de vídeo externo (Figura 3).

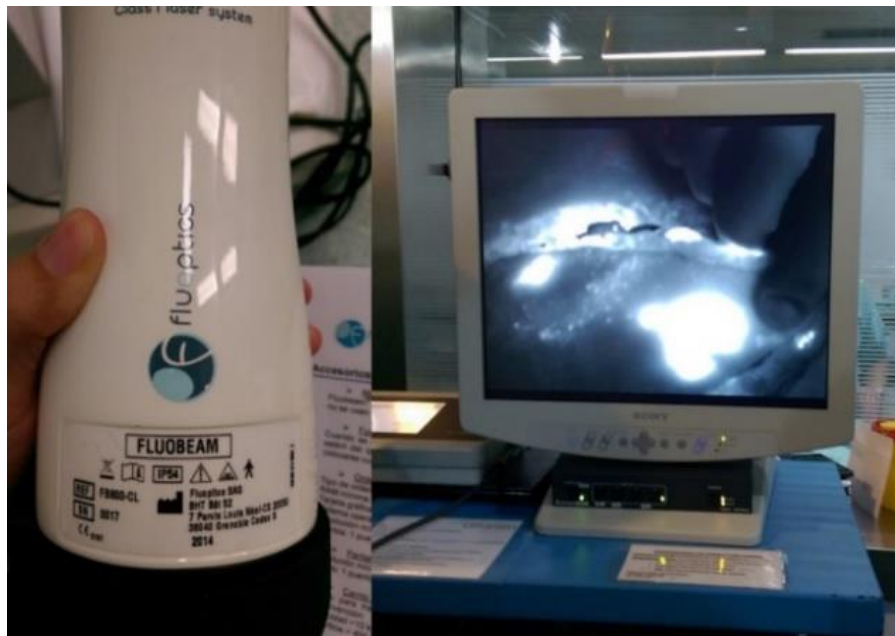


Figura 3. Dispositivo para la obtención de imagen por fluorescencia de infrarrojos cercanos con verde de indocianina. Izquierda: Cámara de infrarrojos. Derecha: Monitor de video externo.

Incluso pequeñas cantidades de verde de indocianina producen fluorescencia. El verde de indocianina se une a α -lipoproteínas (de forma fuerte a HDL y moderada a LDL), éstas son proteínas plasmáticas de gran tamaño. Debido al tamaño de las proteínas a las que se une el verde de indocianina, este permanece confinado al sistema vascular.

Es la fracción de verde de indocianina unida a proteínas la que genera una fuerte fluorescencia. La vida media del verde de indocianina es de 3 a 4 minutos, no tiene circulación enterohepática y es eliminada por el hígado (13, 14).

1.3. TRATAMIENTO

1.3.1. No quirúrgico

El tratamiento inicial del linfedema ha sido hasta hace algunos años, no quirúrgico o conservador e incluye una combinación de cuidados de la piel, compresión externa, drenaje linfático manual y ejercicio. Con estos tratamientos se consigue reducir de forma parcial el edema y disminuir el riesgo de complicaciones infecciosas mientras su uso sea continuo. Sin embargo, no se ha demostrado que los efectos del tratamiento conservador sean clínicamente significativos a largo plazo. Tampoco se ha comprobado que alguno de estos métodos tenga un mayor impacto (15, 16).

1.3.2. Quirúrgico

Los objetivos de la cirugía del linfedema son: prevenir o controlar la aparición de infecciones locales y sistémicas, reducir el volumen del miembro afectado, mejorar la función de la extremidad y la calidad de vida del paciente (2, 8). Las opciones de tratamiento quirúrgico disponibles en la actualidad se resumen en la (Figura 4) y se detallan a continuación.

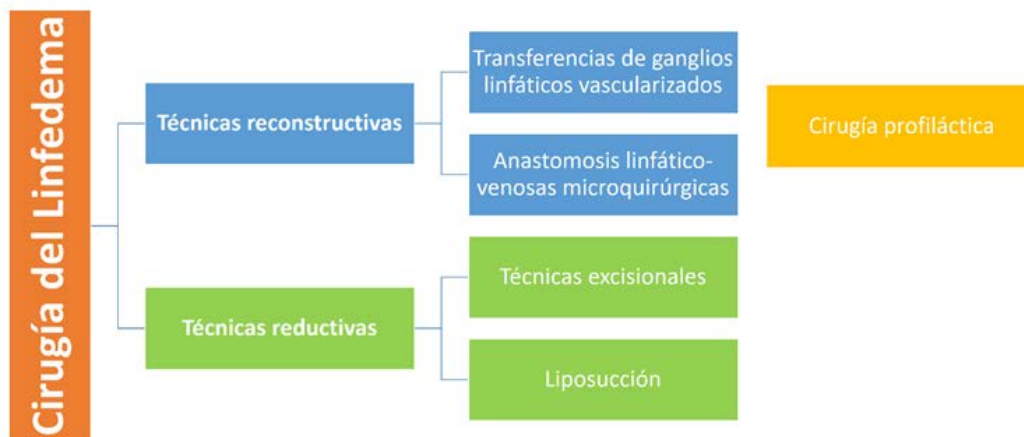


Figura 4. Opciones quirúrgicas para el tratamiento del Linfedema

1.3.2.1 Técnicas reductivas / de resección

Éstas técnicas están indicadas cuando no existen vasos linfáticos funcionales remanentes y por lo tanto no es posible realizar técnicas reconstructivas. Son técnicas utilizadas como tratamiento paliativo en etapas avanzadas. Se incluyen dentro de este grupo las resecciones totales de piel / tejido subcutáneo / fascia, las resecciones parciales de tejido subcutáneo y la liposucción (8, 17-19).

RESECCIONES TOTALES DE PIEL, TEJIDO SUBCUTÁNEO Y FASCIA

Las resecciones totales de piel, tejido subcutáneo y fascia se han realizado clásicamente. Por medio de estas técnicas se eliminan los tejidos que han sufrido cambios estructurales avanzados como consecuencia del fallo de larga evolución del sistema linfático. En la actualidad, están indicadas únicamente en pacientes con diagnóstico de linfedema grave, con cambios tisulares estructurales importantes, infecciones locales y sistémicas recurrentes, con una gran limitación funcional, en los que su calidad de vida se ve afectada

a pesar del tratamiento conservador y para evitar la degeneración neoplásica a linfangiosarcoma. Una de las desventajas de estos procedimientos es que pueden agravar el linfedema de las zonas distales en los casos en los que existe drenaje linfático superficial residual antes de la cirugía (17, 18).

RESECCIONES SUBCUTÁNEAS EN VARIOS TIEMPOS

Las resecciones subcutáneas en varios tiempos en las que se conserva la piel, han ofrecido resultados favorables para reducir el tamaño del miembro y controlar las infecciones. Sin embargo, se asocian a complicaciones como cicatrices inestables, deformidad y recidivas (17-19).

LIPOSUCCIÓN

La liposucción es una técnica útil en pacientes con linfedema avanzado y consiste en eliminar la grasa hipertrofiada que es el componente predominante en el miembro linfedematoso. Es una técnica menos invasiva y que produce menos secuelas que las técnicas resectivas (20). Sin embargo, para mantener los efectos de la liposucción los pacientes deben utilizar de forma indefinida prendas de compresión. A pesar de esto, se ha demostrado que esta técnica logra conseguir la satisfacción de los pacientes (21).

1.3.2.2. Técnicas reconstructivas

En este grupo se encuentran las ALV microquirúrgicas y las transferencias de ganglios linfáticos vascularizados (TGLV). Éstas técnicas se realizan antes de que el linfedema se vuelva irreversible. Están indicadas en pacientes con linfedema que tienen vasos linfáticos con contractilidad intrínseca conservada que permita un flujo linfático adecuado. La funcionalidad de los vasos linfáticos se determina a través de linfografía con verde de

indocianina y de la linfogammagrafía. Se recomienda realizar estas técnicas en pacientes que no hayan tenido episodios recientes de infecciones locales y en un centro especializado en linfedema. En casos de linfedema en los que coexiste una contractilidad deteriorada o ausente de los vasos linfáticos e incompetencia de las valvas, la respuesta a estas cirugías es desfavorable, porque la capacidad de transporte de los vasos linfáticos continuará siendo insuficiente. Tampoco son buenos candidatos a la cirugía reconstructiva los pacientes con aplasia o hipoplasia de los vasos linfáticos o aplasia linfaticoganglionar. Actualmente, debido a la naturaleza progresiva del linfedema a pesar del tratamiento conservador, se sugiere realizar técnicas reconstructivas de forma temprana. Si bien éstas técnicas no curan el linfedema ni pueden revertir su “componente sólido”, es decir la fibrosis tisular, hipertrofia del tejido subcutáneo, cambios en las fascias, etc.; si pueden retardar la progresión de estos cambios estructurales al mejorar el transporte de linfa, logrando una descompresión parcial del espacio intersticial del miembro afecto y ayudando a aliviar la severidad del linfedema (2, 17, 22, 23).

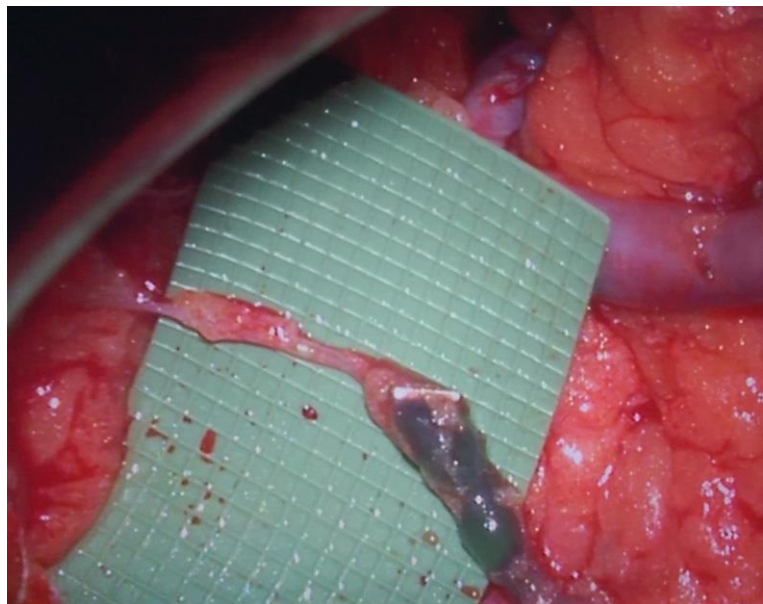
Recientemente se ha propuesto la realización de cirugía profiláctica en pacientes con factores de riesgo de linfedema. Esta cirugía consiste en realizar ALV microquirúrgicas o TGLV en la axila en el mismo tiempo quirúrgico en que se realiza la linfadenectomía axilar. El objetivo es reducir el riesgo de desarrollar linfedema. Los resultados de esta cirugía son alentadores (24).

ANASTOMOSIS LINFÁTICO-VENOSAS MICROQUIRÚRGICAS

A través de estas se busca crear “cortocircuitos artificiales” entre vénulas y vasos linfáticos que imiten las comunicaciones linfático-venosas naturales (Figura 5). Existen resultados contradictorios en cuanto a la eficacia de esta técnica. Se ha demostrado en varios estudios que produce una reducción del diámetro o volumen de la extremidad en un 35 a 50 % de pacientes en períodos de seguimiento de 1 a 3 años (8). También se ha demostrado que

disminuye los síntomas subjetivos del linfedema en más del 90% de pacientes. Otros estudios muestran resultados menos alentadores. Estas diferencias pueden deberse a que la metodología de estas investigaciones difiere en gran medida. La mayoría son estudios retrospectivos que incluyen un número reducido de pacientes. Además, difieren los criterios de selección de pacientes, las técnicas quirúrgicas utilizadas, los protocolos de cuidado post-operatorio y los métodos de valoración de los resultados. Una de las desventajas de las ALV microquirúrgicas es que son técnicas demandantes, para las que se requieren recursos humanos, tecnológicos y materiales específicos y especializados (8, 17, 25).

Figura 5. Anastomosis Linfático-venosa microquirúrgica. El vaso linfático se observa teñido de color verde.



TRANSFERENCIAS DE GANGLIOS LINFÁTICOS VASCULARIZADOS

Las primeras TGLV fueron realizadas en 1979 en un modelo animal por Shesol y fueron usados en la práctica clínica en 1982 por Clodius (2). A partir de entonces se ha acumulado una amplia experiencia clínica en el tratamiento del linfedema de miembros, principalmente a través de la TGLV inguinales (22, 26), pero también con colgajos de epiplón mayor libres y pediculados (27-29), y la TGLV submentonianos (25), supraclaviculares (30, 31) y torácicos (32-34) (Figura 6).



Figura 6. Colgajo submentoniano. La flecha amarilla señala un ganglio linfático, la flecha roja la arteria submentoniana y la flecha azul la vena submentoniana.

Los resultados del tratamiento con TGLV son alentadores. Varios estudios, retrospectivos y prospectivos, han reportado disminución de la circunferencia o volumen de las extremidades superiores e inferiores del 24 al 60 % por ciento. En el caso de estudios prospectivos los resultados se observaron durante períodos de 12 a 39 meses. También se han reportado mejoras en la calidad de vida de los pacientes tratados con estas técnicas (8, 26, 35-39). No obstante, se necesitan más estudios prospectivos y métodos estandarizados para valorar los resultados de la cirugía.

Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de estos colgajos no se conoce con exactitud. Se han descrito dos posibles mecanismos a partir de estudios en animales y clínicos (2).

Mecanismos regeneradores. Ocurren a través de la liberación de citocinas y factores de crecimiento por parte de los ganglios linfáticos y el tejido graso circundante, que promueven la linfangiogénesis y conexión entre los vasos linfáticos del colgajo con los de la zona donante.

El factor de crecimiento endotelial vascular tipo C (vascular endothelial growth factor C – VEGF C) se produce de forma natural por los ganglios. Se ha demostrado en estudios experimentales en animales que induce el crecimiento de los capilares linfáticos y mejora la formación de los vasos colectores. Además, aumenta la supervivencia de los ganglios, así como el mantenimiento de su estructura y mejora su función. El factor de crecimiento endotelial vascular tipo C podría ser utilizado en el futuro conjuntamente con la TGLV, sin embargo, tienen el riesgo potencial de producir metástasis tumorales. Este compuesto no ha pasado a fases experimentales en humanos (2).

El éxito de las TGLV basado en la linfangiogénesis depende del momento en el que se realice la cirugía. La linfangiogénesis ocurre de forma rápida y espontánea luego de la linfadenectomía, pero se ha observado en modelos animales que la disponibilidad de canales linfáticos para formar anastomosis linfático-linfáticas espontáneas disminuye con el tiempo (40). También al pasar el tiempo ocurre la degeneración de los ganglios linfáticos y son reemplazados por tejido adiposo y fibroso (2, 17).

Mecanismo de bomba. Los ganglios linfáticos transferidos absorben la linfa y la drenan a la vena del colgajo a través de ALV naturales existentes en los ganglios linfáticos. Cheng et al. (25) han demostrado el drenaje linfático a través de los ganglios de colgajos submentonianos por medio de imagen por fluorescencia de infrarrojos cercanos con verde de indocianina. En su estudio, inyectaron verde de indocianina subdérmico en el borde del colgajo luego de realizar la anastomosis del pedículo. Diez minutos después se observa la captación del verde de indocianina en la vena del colgajo. Según Cheng et al. (25), el flujo arterial provee la fuerza necesaria para que exista un retorno venoso y en consecuencia el drenaje linfático. En otro estudio, Lin y Cheng (41) señalan que aunque con ésta técnica el número de ganglios y de tejido circundante para maximizar las conexiones linfático-venosas naturales son limitados, la mejoría clínica se logra por: a) un bombeo continuo de linfa al sistema venoso, b) Un efecto que denominan de “captación” o “catchment” en el que al disminuir la presión intersticial subcutánea más linfa es drenada de los tejidos circundantes

al colgajo, c) El efecto de la gravedad ya que los autores prefieren utilizar zonas receptoras distales, d) Apertura de canales linfáticos antiguos y recuperación de la linfangiogénesis al normalizarse las presiones de los compartimentos (42).

Los mecanismos regeneradores y de bomba de las TGLV tienen como elemento principal a los ganglios linfáticos. No obstante, Becker et al. (26) reportaron en un análisis de resultados a largo plazo del tratamiento de linfedema con TGLV que en el 91.6 % de pacientes el volumen del miembro disminuyó o regresó a la normalidad 5 o + años después de la TGLV. Sin embargo, la linfogammagrafía demostró actividad de los ganglios transferidos en sólo el 31% de los pacientes. Aunque este estudio incluye un reducido número de pacientes, el hecho de que los colgajos produzcan efectos clínicos favorables a pesar de que en la mayoría de pacientes los ganglios linfáticos no sean demostrables en linfogammagrafía, hace pensar que podrían existir otros elementos en el colgajo responsables de la mejoría clínica. Poco se ha hablado, de los vasos linfáticos que rodean a los ganglios del colgajo y de las ALV naturales intratisulares. En pocos trabajos se menciona someramente que estas últimas están localizadas en el tejido graso que rodea a los ganglios (2). Sin embargo, no existen estudios que hayan demostrado su existencia en los colgajos de ganglios linfáticos vascularizados (CGLV). Tampoco se consideran como criterio de selección del tipo de CGLV.

Actualmente se sabe que, durante la respuesta inmune los vasos linfáticos no actúan solo como conductos pasivos a través de los cuales circulan los linfocitos y las células presentadoras de antígenos hacia los ganglios linfáticos. Sino que las células endoteliales linfáticas, pueden modular la respuesta inflamatoria a través de quimiocinas. También que, a través de la activación de los receptores localizados en las células endoteliales linfáticas, como el Toll-like receptor 4 – TLR 4 y el receptor del factor de crecimiento endotelial vascular tipo 3 (vascular endothelial growth factor receptor 3 – VEGFR 3) específico de vasos linfáticos, se produce la activación del proceso de linfangiogénesis. Además, cuando los vasos linfáticos transportan linfa, la presión intersticial y el flujo de los fluidos pueden

activar las células endoteliales linfáticas. Esta activación incrementa la permeabilidad y la captación de fluidos y solutos, además de regular la morfogénesis linfática in vivo e in vitro (43).

Anastomosis linfático-venosas naturales

Según el modelo de desarrollo embriológico del sistema linfático más aceptado en mamíferos, el primer precursor linfático se origina a partir de las células endoteliales derivadas de venas embrionarias. Un evento importante en el desarrollo linfático es la separación entre el flujo venoso y linfático. La tirosina quinasa Syk y la proteína adaptadora SIp-76 son críticas en esta etapa. Éstas se activan tras la agregación plaquetaria en las conexiones linfático-venosas luego de que el receptor plaquetario de lectina tipo C 2 (CLEC-2 por sus siglas en inglés) se une a su ligando podoplanina. Si hay deficiencia de Syk o SIp-76, se crean conexiones anormales entre las venas y los linfáticos que resultan en linfáticos llenos de sangre y hemorragia quilosa (43, 44).

Aunque durante el desarrollo embriológico los sistemas venoso y linfático se separan, las conexiones entre ambos son fundamentales. Hidden et al. señalaron que: “Existe una necesidad fisiológica de comunicaciones linfático-venosas en puntos diferentes de la entrada del conducto torácico en el sistema de la vena cava superior” (45).

A finales del siglo XIX se realizaron las primeras descripciones anatómicas de ALV en varios mamíferos. En 1948, se realizó la primera descripción en humanos, entre el conducto torácico y la vena ácigos. Sin embargo, se consideró que estos hallazgos constituían resultados estáticos que no brindaban información sobre la naturaleza de las anastomosis. Años después, se realizaron estudios fisiológicos. En 1960, Rusznyak et. al midieron la tasa de flujo linfático en el riñón y el hígado y demostraron que el flujo total era 2.5 - 3 veces la tasa de flujo en el conducto torácico (45). Posteriormente, múltiples estudios anatómicos y funcionales han demostrado la existencia de ALV en modelos animales y en humanos (45-

49). Estudios de linfangiogénesis y diseminación metastásica sugieren el posible paso de las células cancerígenas a través de ALV (49, 50).

Se han descrito varios tipos de ALV. Algunas se observan en condiciones fisiológicas mientras que otras aparecen cuando existe una interrupción del flujo linfático como en el caso de infiltración ganglionar maligna, secuela post-quirúrgica (a nivel de los ganglios linfáticos, vasos linfáticos o del conducto torácico), ascitis cirrótica, entre otras; las ALV suelen aparecer, distales a la obstrucción, como un mecanismo compensatorio (45, 46, 51). De hecho, los principios fisiológicos de las ALV microquirúrgicas, se basaron en la observación de comunicaciones linfático-venosas naturales en el espacio retroperitoneal (17).

La siguiente es una clasificación que he propuesto de las comunicaciones linfático-venosas descritas hasta el momento (Figura 7):



Figura 7. Clasificación de Las comunicaciones Linfático-venosas

ALV central: Es la conexión más importante entre el flujo linfático y sanguíneo y corresponde a la desembocadura del conducto torácico en la unión de la vena subclavia con la vena yugular interna.

ALV localizadas en los ganglios linfáticos: Se han descrito ALV en la paracorteza y la médula de los ganglios linfáticos.

ALV periféricas: Son las comunicaciones entre los vasos linfáticos y las venas. La presencia de ALV intratisulares funcionales se ha determinado en colgajos libres dorsales anchos y radiales.(52)

Criterios de selección del tipo de CGLV y de la zona receptora del colgajo

No existen estudios que comparen los resultados clínicos obtenidos con los diferentes tipos de CGLV y las diferentes zonas receptoras de colgajo. Tampoco existe un consenso para la selección del tipo de colgajo y de la zona receptora.

El siguiente es un resumen de los criterios que los autores de diferentes publicaciones sobre TGLV toman en cuenta al seleccionar un CGLV: (2, 22, 25, 31)

- El riesgo de linfedema secundario en la zona donante del colgajo.
- La localización y el número de ganglios linfáticos existentes en el colgajo.
- La complejidad de la anatomía de la zona donante y el riesgo que existe de lesionar estructuras anatómicas importantes al disecar el colgajo. Por ejemplo, durante la disección del colgajo submentoniano existe el riesgo de lesión de la rama mandibular del nervio facial.
- Las secuelas estéticas en la zona donante del colgajo (cicatriz) y en la zona receptora (abultamiento del colgajo).
- La experiencia del cirujano.

Por otro lado, la selección de la zona receptora suele depender de:

- Según Raju et al. del mecanismo de acción que el cirujano “considere” como responsable del funcionamiento del CGLV (2). Y especifican que:
 - Quienes consideran que el colgajo funciona a través del mecanismo de bomba utilizan zonas receptoras distales como la muñeca o el tobillo. Las secuelas estéticas propias de

colocar el colgajo en esas zonas se resuelven por medio de desepitelización para enterrar el colgajo y adelgazamiento / “debulking” del colgajo.

- Quienes creen que funciona a través de linfangiogénesis suelen escoger el área de cicatrización secundaria a la cirugía oncológica y radioterapia o zonas cercanas a ella.
- La demanda estética del paciente
- La experiencia del cirujano

Complicaciones de TGLV

El linfedema secundario iatrogénico en la zona donante del CGLV es una complicación grave, aunque poco frecuente. También se ha reportado linfedema subclínico secundario a este procedimiento. Por lo que se deben resear únicamente los ganglios linfáticos que no drenen las extremidades. Debido a que existe una gran variabilidad anatómica, para identificar los ganglios que pueden ser reseados se utiliza la técnica de mapeo linfático retrógrado. Esta técnica se realiza en dos etapas. En la primera se utiliza la linfogammagrafía para identificar los ganglios que drenan la extremidad por medio de una sonda de rayos gamma durante la cirugía de manera similar a la identificación del ganglio centinela. El radiotrazador se inyecta en las comisuras interdigitales de las manos o los pies. En la segunda etapa se identifican intraoperatoriamente los ganglios a researse a través de linfografía con verde de indocianina (8, 53, 54).

2

Hipótesis

HIPÓTESIS

Los colgajos de ganglios linfáticos vascularizados transportan linfa a la circulación sanguínea a través de anastomosis linfático-venosas intratisulares contenidas en el tejido adiposo. Estas anastomosis juegan un papel fundamental en el mecanismo de acción de las transferencias de ganglios linfáticos vascularizados.

3

Objetivos

OBJETIVOS

1. Revisar la información disponible sobre el papel de las anastomosis linfático-venosas naturales en el mecanismo de acción de las transferencias de ganglios linfáticos vascularizados.
2. Diferenciar los tipos de anastomosis linfático-venosas naturales y sus características fisiológicas.
3. Comprender el papel de la presión venosa en el funcionamiento de las transferencias de ganglios linfáticos vascularizados.
4. Investigar la existencia de anastomosis linfático-venosas intratisulares en el tejido adiposo de colgajos de perforantes DIEP.
5. Investigar la existencia de anastomosis linfático-venosas intratisulares en el tejido adiposo de colgajos de perforantes SGAP.
6. Establecer el rango de tiempo para la evaluación de la fluorescencia en la vena del pedículo de los colgajos de perforantes DIEP y SGAP.
7. Interpretar el papel fisiológico y la relevancia clínica de las anastomosis linfático-venosas intratisulares en la cirugía del linfedema.

4

Justificación

JUSTIFICACIÓN

Los tratamientos para el cáncer utilizados en la actualidad han aumentado la supervivencia de los pacientes tratados. Pero como resultado, se han incrementado las secuelas de dichos tratamientos. Tal es el caso del linfedema, que tiene una prevalencia importante, afecta a la calidad de vida del paciente y suele causar infecciones que requieren tratamiento hospitalario. Hasta hace pocos años las únicas opciones quirúrgicas disponibles para el tratamiento del linfedema eran las cirugías de resección. En la actualidad se realizan ALV microquirúrgicas y TGLV que son cirugías dirigidas a corregir de forma fisiológica el linfedema. En el caso de las TGLV el mecanismo a través del cual funcionan no se ha dilucidado del todo, pero se reconoce como actor principal al ganglio linfático. El hecho de que las TGLV han mostrado resultados clínicos favorables a largo plazo a pesar de que no se objetive la presencia de los ganglios trasferidos en linfogammagrafía (26), sugiere que el mecanismo de acción de estos colgajos, no depende solo de los ganglios.

Al transferir un CGLV, se estaría transfiriendo una “fracción del sistema linfático” que incluiría no solo ganglios linfáticos sino también vasos linfáticos y probablemente ALV periféricas contenidos en el tejido graso. El identificar y conocer el papel de esos otros elementos de los CGLV, nos ayudará a comprender de una manera más clara el mecanismo de acción de las TGLV y a “llenar vacíos” entre los elementos ya conocidos.

Este estudio intenta proporcionar información nueva sobre las TGLV, ya que no se había investigado la existencia de ALV intratisulares en este contexto. Las ALV intratisulares conjuntamente con las ALV localizadas dentro de los ganglios linfáticos serían responsables del transporte de linfa a la circulación sanguínea. La información obtenida brindará un elemento más a considerar al seleccionar el tipo de CGLV. También nos ayudará en la elección de la zona receptora, ya que ésta depende del mecanismo de acción de las TGLV.

5

Materiales y métodos

5.1. DISEÑO

Esta tesis la conforman dos trabajos, una revisión bibliográfica y un estudio prospectivo observacional.

5.1.1. Diseño de la primera publicación

METODOLOGÍA:

Se ha realizado una revisión bibliográfica narrativa. Se ha revisado la literatura en lengua inglesa predominantemente y además en castellano. Se han evaluado también puntualmente artículos en lengua francesa y alemana. Se ha revisado toda la bibliografía disponible en el momento de la redacción del artículo en Pubmed. Siendo la primera cita recogida de 1961. Se han incluido únicamente trabajos originales y/o publicados en revistas científicas. Se ha excluido el uso de literatura gris (comunicaciones a congresos, informaciones de casas farmacéuticas, literatura divulgativa, etc.).

5.1.2. Diseño de la segunda publicación

METODOLOGÍA:

Se trata de un estudio observacional prospectivo. Se llevó a cabo de octubre de 2014 a septiembre de 2015. Se realizó con el consentimiento informado escrito de las pacientes incluidas en la investigación.

5.2. LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA TESIS

Servicio de Cirugía Plástica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en Barcelona.

5.3. POBLACIÓN

Pacientes reclutados en el servicio de cirugía plástica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. La edad media fue de 49,5 años \pm 9,5.

5.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Mujeres mastectomizadas.
- Mujeres candidatas a reconstrucción mamaria con colgajos de perforantes DIEP o SGAP
- Ausencia de antecedentes de alergia a verde de indocianina.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Ausencia de consentimiento informado firmado para la intervención.
- Ausencia de consentimiento informado firmado para el estudio con verde de indocianina.
- Antecedentes de cirugía en la zona donante del colgajo.

5.5. PROTOCOLO DE ESTUDIO

Ver la sección de metodología del segundo artículo. Deseamos destacar sin embargo la siguiente información.

Para comprobar el paso de linfa al sistema venoso a través de ALV intratisulares, se estudiaron 26 colgajos DIEP y SGAP consecutivos que se realizaron en pacientes intervenidas para reconstrucción mamaria. La descripción de las técnicas de disección de los colgajos no es el propósito de este trabajo y han sido descritas en detalle en otras publicaciones. No se estudiaron CGLV porque las ALV de los ganglios también transportan líquido linfático a las venas y esto habría constituido un factor de confusión al analizar los resultados. Luego de disecar el colgajo del plano fascial profundo y antes de disecar el pedículo, se realizó la inyección intradérmica de 0,5 ml de verde de indocianina (Pulsion® 0,5%) en los bordes de todos los colgajos y además en la línea media de los colgajos DIEP (Figura 8). Posteriormente evaluamos si la vena del pedículo mostraba fluorescencia positiva (Figura 9). Para esto utilizamos imagen por fluorescencia de infrarrojos cercanos con verde de indocianina (Fluobeam®, France). La evaluación se realizó en períodos de tiempo que se incrementaron gradualmente luego de la inyección de verde de indocianina.

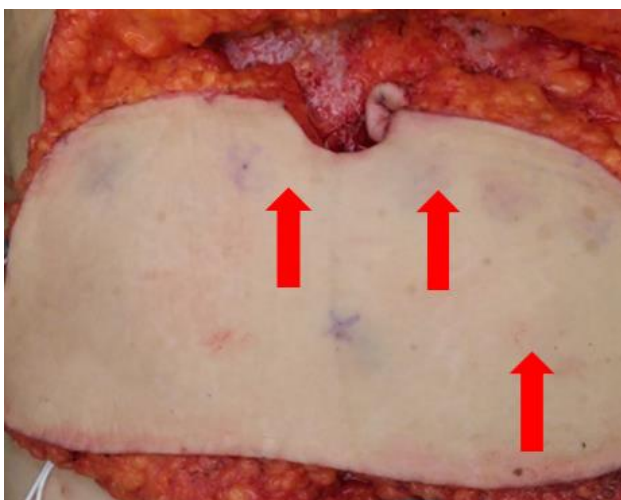


Figura 8. Las flechas rojas señalan los puntos de inyección de verde de indocianina en un colgajo DIEP



Figura 9. Izquierda: Pedículo del colgajo DIEP rodeado por círculo rojo. Derecha: Fluorescencia positiva en las venas comitantes del pedículo 120 minutos después de la inyección de verde de indocianina.

Para evitar prolongar el tiempo operatorio, cuando el intervalo de tiempo establecido para evaluar la presencia de fluorescencia era más largo que la duración de la disección del pedículo, se realizaba la simetrización mamaria contralateral en los casos en los que esta estaba indicada. Si la simetrización mamaria no estaba indicada, el intervalo de tiempo dentro del cual se evaluaba la fluorescencia era el mismo tiempo que tomaba la disección del pedículo. El seguimiento postoperatorio de las pacientes se realizó siguiendo los protocolos hospitalarios establecidos.

Este modelo de estudio se escogió tras realizar dos estudios piloto. Inicialmente, se planeó investigar la existencia de ALV intratisulares en el tejido adiposo de colgajos submentonianos, supraclaviculares e inguinales en cadáver. Sin embargo, no se pudo llevar a cabo debido a las limitaciones detalladas en el informe del estudio piloto (Anexo I).

5.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el programa informático SPSS 23.0 (IBM Co., Armonk, NY). Se obtuvieron medias y desviaciones estándar de las variables continuas. Mientras que las variables categóricas se analizaron utilizando frecuencias y proporciones. Para analizar la detección de fluorescencia se utilizó la prueba de Chi-cuadrado de dos colas y para el análisis de tiempo la prueba de Kruskal Wallis. La significancia estadística se definió como $P < 0.05$.

6

Resultados

6.1. PRIMERA PUBLICACIÓN

Los resultados se muestran en el apartado de conclusiones y perspectivas futuras.

6.2. SEGUNDA PUBLICACIÓN

Los resultados se muestran en el apartado de resultados.

7

Publicaciones

7.1. PRIMER ARTÍCULO

Miranda Garcés, M, Mirapeix R, Pons G, Sadri A, Masià J. A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery. J Surg Oncol 2016; 113 (4):374-380

Factor de Impacto: 3.151

Cuartil de la Categoría de Cirugía: Q1

Repercusión en redes sociales (Ver anexo 4)

- Altametric attention score: 4
- En el 25% superior de los “research outputs”

REVIEW

A Comprehensive Review of the Natural Lymphaticovenous Communications and Their Role in Lymphedema Surgery

MARÍA MIRANDA GARCÉS, MD,^{1*} ROSA MIRAPEIX, MD, PhD,² GEMMA PONS, MD,¹ AMIR SADRI, MD,³
AND JAUME MASIA, MD, PhD¹

¹Department of Plastic Surgery, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

²Department of Anatomy and Embriology, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, Spain

³Department of Plastic Surgery, Chelsea and Westminster Hospital, London, United Kingdom

Cancer-related lymphedema is a progressive, chronic condition that impairs quality of life. Its pathophysiology and the mechanisms of action of current reconstructive surgical treatments are not fully understood but lymphaticovenous communications may play a key role. We review the available literature on lymphaticovenous communications and their implications in lymphedema surgery, and propose a subclassification of lymphaticovenous communications.

J. Surg. Oncol. 2016;113:374–380. © 2016 Wiley Periodicals, Inc.

KEY WORDS: lymphaticovenous communications; lymphedema; pathophysiology; lymphedema surgery; cancer-related lymphedema

INTRODUCTION

Lymphedema is a chronic and progressive condition that affects quality of life. In western countries, it is mainly the consequence of lymph node dissection for cancer treatment with or without radiotherapy. The prevalence of breast cancer-related lymphedema (BCRL) has been estimated at 21% [1–6].

Surgical options for lymphedema fall into two categories: reconstruction of the lymphatic system and debulking procedures in advanced cases [1,7,8]. Reconstructive techniques include microsurgical lymphaticovenous anastomosis (LVA), lymphatic channel grafts, and vascularized lymph node transfer (VLNT) [3,9].

These techniques do not reverse the pathophysiology of lymphedema. However, they can improve lymph transport, partially decompress the interstitial space, and delay the progression of structural changes (fibrosis, fat hypertrophy, etc.) [1,9–11]. Favorable results can be achieved when distal lymphatic channels have preserved intrinsic contractility that permits adequate lymph transport. Conversely, when intrinsic contractility and valvular competence are reduced or absent in patients with severe, long-term lymphedema, post-inflammatory lymphedema, aplasia or hypoplasia of the lymphatics, the results of microsurgical reconstruction are not favorable because lymphatic channel transport remains insufficient [1,9,10].

Recently, Boccardo et al. recommended the Lymphatic Microsurgical Preventing Healing Approach for primary prevention of BCRL. They found a lower incidence of BCRL in patients who underwent LVA at the time of axillary lymph node dissection for breast cancer treatment [12].

VLNT was first performed by Shesol in 1979 in an animal model and by Clodius in 1982 in clinical practice [1,13]. Since then, limb lymphedema has been treated using isolated inguinal VLNT or combined with an abdominal flap for autologous breast reconstruction [14–16], free and pedicled omental flaps [17–19], submental [3], supraclavicular [20,21], and thoracic VLNT [1,10,22].

Recent clinical studies on VLNT have shown an improvement in the infective episodes and a significant reduction in limb volume. However, these reports lacked control groups and adequate long-term follow-up. Furthermore, in a study that included BRCL patients treated with VLNT combined with autologous breast reconstruction, one-third of the patients were able to stop using compression therapy [13].

The mechanism of action of VLNT is not well understood, but two theories have been proposed based on experimental and clinical studies [1].

Regenerative Mechanisms. Cytokines and growth factors released by the lymph nodes and adipose tissue stimulate lymphangiogenesis and may facilitate recanalization between the lymphatics located in the receptor area and in the flap. VLNT combined with VEGF-C to stimulate lymphangiogenesis shows promising results, although its safety in humans has not been established [1,10,23].

Pump Mechanism. According to Cheng et al., VLNT could progressively improve lymphedema in the limb by continually pumping lymph into the venous system through LVC within the lymph nodes [3,13,24]. The effects of gravity would thus facilitate lymph drainage when distal receptor areas are used to treat lymphedema of the lower limb [3].

Abbreviations: LVC, lymphaticovenous communications; VLNT, vascularized lymph node transfers; BCRL, breast cancer related lymphedema; VLNF, vascularized lymph node flap; HEV, high endothelial venules; ICG, indocyanine green; LLC, lymphaticolymphatic communications.

*Correspondence to: María del Carmen Miranda Garcés, MD, Department of Plastic Surgery, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Sant Antoni Maria Claret 167, Barcelona 08025, Spain. E-mail: madelcmiranda@hotmail.com

Received 14 July 2015; Accepted 21 December 2015

DOI 10.1002/jso.24158

Published online 19 January 2016 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

In a long-term analysis of results of VLNT performed by Becker et al., it was found that the limb volume was reduced 5 or more years after VLNT in 91% of patients. However, in only 31% of patients, lymph nodes showed activity on lymphoscintigraphy [10,13,15]. The finding of clinical improvement in lymphedema after VLNT, even though lymph nodes were not demonstrable on lymphoscintigraphy, might not be statistically significant due to the small number of patients studied, but it raises the question of whether there are other elements within the flap that would work to improve lymphedema in the receptor area. Peripheral LVC might be an element to consider [25].

INTERSTITIAL FLUID TRANSPORT

From Levick et al. revision of the Starling principle, we now know that fluid balance depends critically on the lymphatic system in most tissues and not on venular absorption, as it is not the main mechanism for returning the capillary ultrafiltrate and filtered plasma proteins from the interstitium to the circulation. Starling originally proposed that the interstitial fluid diffuses back into the venous end of the blood capillary. This was based on a theory that flow was dependent on the oncotic and hydrostatic pressure within the intravascular and interstitial compartments. However, Levick demonstrated the importance of a third compartment, the subglycocalyx space between the paracellular clefts within the capillary walls. For diffusion to occur back into the blood capillaries, fluids must pass through the paracellular clefts. However, it has been shown that the oncotic pressure within the subglycocalyx fluid is lower than that in the interstitium. Interstitial fluid reabsorption into the intravascular compartment is therefore unlikely, and the lymphatic system is hence responsible for transporting this fluid [26].

In free flaps the lymphatic system is disrupted. If the lymphatic system is mainly responsible for the transport of lymph fluid from the interstitial space to the blood circulation, how does the interstitial fluid leaves the flap? It has been suggested that in the case of VLNT, it may occur via LVC within the lymph nodes [3]. Additionally, intratissular LVC have been found in free flaps that do not contain lymph nodes [25].

NATURAL LVC: EMBRYONIC DEVELOPMENT, SUBCLASSIFICATION, AND MECHANISMS

The most widely accepted theory of embryonic development of the lymphatic system in mammals is Sabiñs centrifugal model. The first lymphatic precursor, the jugular lymph sac, originates from the endothelial cells derived from embryonic veins [10,27]. The separation of venous and lymphatic flow is an important event during lymphatic development and is dependent on the tyrosine kinase receptor Syk and its adapter protein SLP-76. A deficiency in Syk or SLP-76 results in abnormal connections between the blood and lymph vessels [10,27,28]. Although the lymphatic and venous system separate during embryogenesis, connections between them remain, the most important being drainage of the thoracic ducts at the union of the subclavian and the internal jugular veins.

Hidden et al. stated that "there is a physiological necessity for the existence of LVC in points other than the terminal entry of the lymphatic trunks into the superior caval system." [29] The first anatomical descriptions of the LVC were made in various species of mammals in the early 20th century. In 1948, LVC were described between the thoracic duct and azygos vein in humans. Experimental and clinical studies based on lymphography and lymphoscintigraphy have since shown that radiotracers and radiocontrasts injected in the interstitial space or elements of the lymphatic system reach the blood before passing through the thoracic duct.

When the lymphatic flow is disrupted, as in the case of malignant nodal infiltration or post-surgical intervention (lymph node dissection,

lymph collector or thoracic duct obstruction), LVC have been found distal to the disruption as a compensatory mechanism, allowing the lymph to drain directly into the veins [29–31]. However, a deleterious effect of LVC would be their capacity to spread cancer cells (metastasize) [11,25,32,33]. Three types of LVC have been described: central LVC (at the end of the thoracic ducts), LVC within the lymph nodes, and peripheral or intratissular LVC (between the lymphatic vessels and the veins) [25,29,31,34]. The two latter types have been studied in both physiological and pathological states.

LVC Within the Lymph Nodes

Physiological state. It has been estimated in humans that plasma has a volume of 3 L and a lymph fluid turnover of 8 L/day. A post-nodal lymph flow of 4 L/day drains at the end of the thoracic duct. While approximately half the fluid content of afferent lymph is absorbed by lymph node microvessels (LVC within the lymph nodes) [13,35,36]. Therefore, the 500–1,000 lymph nodes that there are in the body [37] reabsorb 4 L/day of the remaining lymphatic volume before it can reach the thoracic duct.

Pressman et al. studied several mammalian cervical, inguinal, and popliteal nodes without previous obstruction and observed LVC within the lymph nodes. After injecting air into the afferent or efferent lymph node channels they observed air in the lymph node veins. Similar findings were reported using blood serum, erythrocytes, and cancer cells of 20–40 microns. They concluded that LVC within the lymph nodes were demonstrable when the pressure inside the lymph node was greater than its basal level, but within physiological limits. It was proposed that this passage took place via pores between the endothelial cells inside the lymph nodes and that the number of pores was higher on the venous side [29,38,39].

High endothelial venules (HEV) are specialized vessels located in the paracortex of the lymph nodes. They enable direct circulation between the blood and the lymph nodes through their endothelial walls.

In a rat model, Anderson et al. suggested that HEV would provide the anatomical basis for the LVC described by Pressman. They observed that the high endothelial cells that line the HEV were linked together by discontinuous junctional complexes. Also, that the HEV were surrounded by a sheath composed of three to five layers of overlapping reticular cell plates and connective tissue. Each plate was linked to the reticular meshwork of the node and allowed individual plates to separate from or approach each other, creating a valve mechanism. Increased interstitial fluid pressure in nodes caused these plates to separate, thus opening the "valves" and facilitating movement of fluid, macromolecules and lymphocytes from the node to the venular lumen. On the other hand, when intravascular pressure exceeded interstitial pressure the gaps between the overlapping plates closed [40] (Fig. 1).

Cheng et al. demonstrated that lymph drainage occurred via LVC in the transferred lymph nodes using VLNT for lymphedema. After the completion of the pedicle anastomosis, they injected indocyanine green (ICG) subdermally at the flap edge. Minutes later, they showed the uptake of ICG in the recipient vein using ICG lymphography [3,24].

Conversely, Hidden et al. did not observe evidence of LVC within the lymph nodes in the normal rat or 1–2 days following ligation of the thoracic duct. The early postoperative period after the ligation of the thoracic duct was characterized by massive dilatation of the abdominal lymphatics with ascites, progressive edema, and in some rats death [29].

Pathological state. In a retrospective study, Stamp et al. analyzed the results of routine lymphoscintigraphy performed in 69 adults with lower limb swelling of different etiologies. From those patients, 48 had abnormal results on lymphoscintigraphy. The ratio of hepatic counts per pixel to total bilateral ilioinguinal counts at 150 min was higher in patients with abnormal results than in patients with normal lymphoscintigraphic results. This suggests that LVC were bypassing

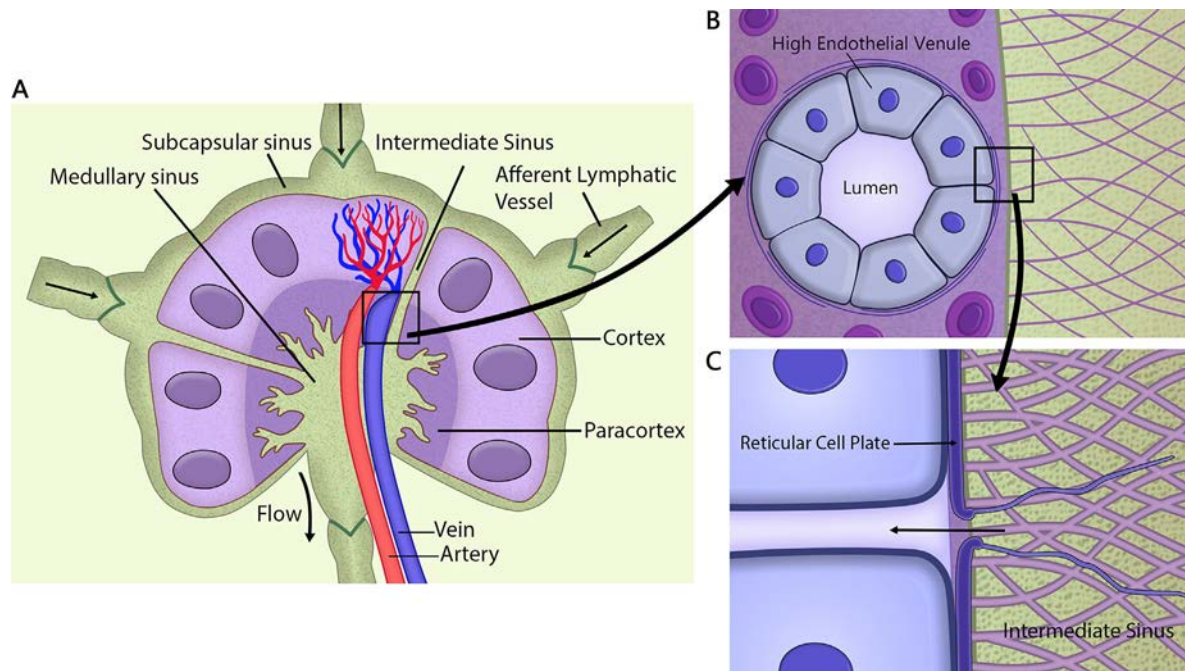


Fig. 1. Schematic representation of a lymphaticovenous communication (LVC) at the high endothelial venule (HEV) (A) HEV located in the paracortex of a normal lymph node in which the lymph flow is anterograde and the valves in the efferent lymphatic vessel are competent. (B) Magnification of the HEV, the endothelial wall and the sheath that surround it composed of 3–5 layers of overlapping reticular cell plates and connective tissue as described by Anderson et al. are shown. (C) Representation of one layer of plates linked to the reticular meshwork of the node which allows the plates to separate or approximate from each other, like valves, as interstitial and intravascular pressure vary, regulating fluid, and cellular transport in the node. Increased interstitial fluid pressure in nodes would cause these plates to separate facilitating movement of fluid, macromolecules, and lymphocytes from the node to the venular lumen as represented by the arrow [41].

the thoracic duct as a route of lymphatic entrance to the systemic circulation. The authors stated that time courses of nodal and hepatic activities suggest access occurred within the lymph nodes [31].

Hidden et al. found evidence of large LVC within the lymph nodes at 1 month, 4 months, and 2 years after thoracic duct obstruction in the rat. Following the injection of lipiodol (lymphography contrast) in reverse flow through the efferent lymph vessel the contrast was seen in the vein of the lymph node and in its termination in the vena cava. Once the LVC was established, edema almost completely disappeared and clamping the inferior vena cava produced a backflow of blood into the lymphatic channels distal to the obstruction. The effect of the increased venous pressure on the demonstration of LVC was studied by the ligation of the vena cava one month before the thoracic duct obstruction. It was observed that LVC did not open when the vena cava was ligated. The authors stated that large LVC may occur in the lymph node medullary sinuses once valvular incompetence and lymphatic failure take place and reverse lymphatic flow in the efferent channels is established. The time required for these events to occur also corresponds to the delay observed between the occurrence of proximal obstruction and the appearance of large LVC. Microscopically, they reported atrophy of the lymph node cortex and dilated medullary sinuses filled with erythrocytes. The latter finding was thought to be due to venous capillaries opening into the medullary sinuses. (Dunís hypothesis) [29].

The finding of “lymph node sinuses with blood” was investigated by Yin et al. [32] to determine their relation with skipping metastasis of gastric cancer via LVC within the lymph nodes. They sampled superficial lymph nodes in the neck, axilla, groin, and thoracic and abdominal areas in 102 post-mortem cases. Lymph sinuses containing blood were not found in the nodes taken from individuals who died for reasons unrelated to disease but were found in 809 lymph nodes from 91

patients who died of disease. From the five histological patterns of lymph node sinuses containing blood they found, the following three types have been described by other investigators. The vascular-opening sinus pattern is characterized by venules or capillaries that open into the sinuses, allowing blood to enter directly into the lymphatic system. This finding concurs with Dunís hypothesis. Figure 2 The blood-abundant sinus pattern contains erythrocytes that would pass from the venules to the sinuses when venule pressure is increased due to stasis. This may correspond to the previously described hemolymph nodes. The vascular-formative sinus pattern may correspond to the concept of vascular transformation of sinuses, a benign vasoproliferative lesion of the lymph node. The lymphatic endothelial cells of the lymph node sinuses might transform to vascular endothelial cells. The cause is unknown, but venous obstruction or the persistent presence of blood in the sinuses might stimulate vascular formation. The vascular opening of sinuses and vascular transformation of sinuses are usually accompanied by lymph node fibrosis [29,41].

Peripheral LVC

Peripheral LVC have been widely studied in relation to lymphangiographic procedures. Care is taken when they are identified or suspected because transfer of oily contrast material into the bloodstream could cause severe pulmonary or cerebral embolism. This is particularly important in obstructive cases when LVCs are larger [33,34,42,43]. Lymphoscintigraphy has been used to provide evidence of functional LVCs when they are not seen lymphangiographically. Functional evidence of LVC may be related to shunting at a microvascular level or through small LVC [44].

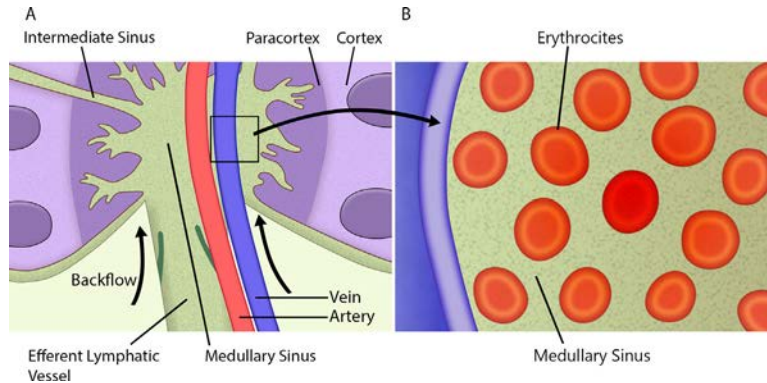


Fig. 2. (A) Diagrammatic representation of the large LVC that occur at the lymph node medullary sinuses once valvular incompetence and lymphatic failure take place and reverse lymphatic flow in the efferent channel is established (represented by the arrow on the left) or when venule pressure is increased (represented by the arrow on the right). (B) Medullary sinus filled with erythrocytes probably due to the opening of venous capillaries into the sinuses [30,33].

Physiological state. No evidence of peripheral LVC was found in anatomical studies in normal limbs [44–46]. Neither were any LVC observed in a retrospective analysis of serial radiographs in a group of 148 patients with normal lymphatic systems [33]. However, in a clinical report of two cases, peripheral LVC were found in the distal leg and foot using lymphograms; one of these patients did not have lymphatic obstruction [34].

O'Mahony et al. did not find evidence of peripheral LVC in the normal upper limbs of four patients. After intradermally injecting radiolabelled autologous erythrocytes into the hand web spaces, they did not find cell-bound activity in the ipsilateral blood sample, although radioactivity was detected in the axillary nodes in the lymphoscintigraphy. This means that the radiolabelled erythrocytes reached the lymphatic system. The fact that radioactivity was not identified in the blood samples also means that lymph nodes block erythrocyte transit [44,47]. The same technique with some modifications was used in a more recent study by Bains et al. to determine whether LVC prevent the development of BRCL. In this study they found evidence of LVC with a calculated amount of shunting of 6.6% of the total lymph flow in the contralateral blood sample of 1–5 patients with normal lymphatic systems studied before undergoing axillary node clearance surgery [48].

Pathological state. Intra-abdominal and intra-thoracic LVC have been described in experimental studies where the thoracic duct was obstructed and in clinical/post-mortem studies in humans with various pathologies affecting the lymphatic system. Furthermore, the physiological principles of the microsurgical lymphovenous anastomosis were based on the observation of natural LVC in the retroperitoneal space [10,29,30,33,49].

In humans, distal/intratissular LVC have been demonstrated lymphangiographically in the thigh, leg, and foot. In most cases, they were associated with regional obstruction of the lymphatic system [30,34,50]. Also, LVC and lymphaticovenous communications (LVC) in the deep system of the leg have been reported in patients with post-phlebotic syndrome [44].

In a dog model, LVC were not seen on lymphangiography after obstruction of the groin lymphatic vessels. Nevertheless, evidence of lymphovenous shunting of the radiotracer injected distally was found in half of the dogs and 10–65% of the total dose injected was shunted [44].

Flaps that do not contain lymph nodes were studied in 14 patients to evaluate the presence of intratissular LVC in the context of an acute disruption of the lymphatic system. In radial forearm and latissimus dorsi flaps, a tracer that due to its size could not have passed to the blood vessels before passing through the lymph channels was injected into the dermis or muscle. After the injection, radioactivity that increased

gradually over time was found in all patients in blood samples taken from the vein of the pedicle. Planar scintigraphic imaging performed 24 hr after the surgery revealed liver uptake, while regional areas of expected direct lymphatic drainage did not show increased activity. These results suggest the presence of functional intratissular LVC because the lymphatic drainage through the classical routes was disrupted [25].

On the other hand, in clinical and experimental studies, Cheng et al. did not find evidence of LVC in fasciocutaneous flaps. After anastomosing the flap pedicle, they injected ICG subdermally in the flap edge. Fluorescence was not detected in the pedicle vein minutes after the injection using ICG lymphography [24].

It has been suggested that LVC is a protective mechanism against the development of lymphedema and might be related to a favorable prognosis of lymphedema. In a woman with bilateral primary lymphedema of the lower limbs, LVC in the pelvic area to the obturator vein were found on the side of the limb that was not edematous [33]. Aboul-Enein et al. studied 10 normal controls, and 20 women that developed BRCL, and 20 that did not develop BRCL 6–24 months after breast cancer treatment by radical mastectomy. They injected labelled albumin directly into the lymphatics of the treated upper limb and measured its presence in the antecubital venous blood samples taken from the ipsilateral and contralateral arms. They found that radioactivity was higher in the venous blood samples from both arms of the women without BCRL than in those with BCRL and in the ipsilateral samples in both groups. The presence of LVC in the arms of women who did not develop BRCL suggested that LVC might reduce the risk of developing BRCL. Also, lymphangiographies in two women that did not develop BCRL showed lymph nodes presenting LVC in the forearm or around the elbow [51].

O'Mahony et al. found evidence of peripheral LVC in the only patient that did not develop BCRL from a group of four patients studied 3 months after axillary surgery. Labelled erythrocytes were found bilaterally in the venous blood samples, after the intradermal injection of radiolabelled autologous erythrocytes in the hands [47].

Bains et al. [48] studied two groups of patients to determine whether LVC prevented the development of BRCL. The first group consisted of five patients who were diagnosed with unilateral breast cancer and were going to receive axillary lymph node surgery, and the second group comprised 10 patients that underwent axillary lymph node clearance at least 3 years earlier. In the latter group, seven patients had BCRL and three did not. Radiolabelled autologous erythrocytes were injected intradermally into the second hand web space of the treated side in all patients, in the first group pre-operatively and 9 ± 6 weeks post-operatively. Bilateral antecubital venous blood samples were taken

from 5 to 180 min after the injection. It was previously determined in another study that nodes block erythrocyte transit in normal patients [47]; the presence of erythrocytes in the blood was therefore interpreted as an indicator of the existence of peripheral LVC. Evidence of LVC was detected in three of five patients from the first group; these patients did not develop BRCL during the time the study lasted (19 ± 5 months). However, none of the patients without BRCL in the second group had evidence of LVC. The upper arm or the axilla were described as the most likely location of the LVC, because the analysis of the ipsilateral blood samples did not provide convincing evidence of LVC in the distal ipsilateral arm [48].

Factors that stimulate peripheral LVC opening [33,34,44,48,49,52].

In the 60s, Threefoot studied the factors that stimulate the opening of normally non-functioning peripheral LVC. He found that obstruction of major lymph channels is the best known factor facilitating demonstration of static and functioning LVC in experimental and clinical studies.

Also, increased intralymphatic volume and pressure were found to facilitate the demonstration of LVC through stimulation of lymphatic baroreceptors and chemoreceptors that produce depressor reflexes and cause dilation of lymphatics and LVC. Cross-reflexes between the lymph vessels and blood vessels have been reported and might explain why ganglionic and pre-ganglionic agents used in the 60s (Hexamethonium, Dibenzamine) were reported to depress reflexes, release normal spasm of communicating channels, and facilitate the demonstration of LVC.

It was found that an isolated lymph volume increase during short periods of time did not produce functioning LVC. On the other hand, factors associated with a long-term increase of lymph formation and transport with or without lymphatic obstruction or stimulation of neurologic reflexes facilitate the demonstration of LVC.

Threefoot studied when functioning LVC and LLC would occur after the obstruction of the cisterna chyli in rats. LVC were demonstrated in less than 7% of rats when less than 2 days after obstruction had passed, while more than 50% of rats showed LVC 21 days after the obstruction.

In another study performed by Threefoot et al. in postmortem lymphographies in humans, the authors found that the highest prevalence of LVC to the inferior vena cava and its tributaries was related to renal disease (all the subjects who died with renal disease had LVC), liver disease and the presence of pleural effusion and/or ascites. Increased prevalence of LVC was not found in subjects with increased extracellular fluid and lymph volume (congestive heart failure and peripheral edema) or with malignancies involving lymph nodes. In contrast, Edwards and Kinmonth found the highest prevalence of LVC in patients with lymph node involvement observable in a retrospective analysis of lymphangiographies. Digitalis and vasopressors received during hospitalization before death were not related to the demonstration of LVC.

The prevalence of LVC might vary depending on the technique used to demonstrate their existence. Edwards and Kinmonth found a prevalence of 2.9% in a retrospective analysis of serial still radiographs, which might be a less reliable method than dynamic studies. Threefoot et al. demonstrated LVC in 51.5% using human postmortem lymphography, while Bains et al. reported a prevalence closer to the latter using lymphoscintigraphy and quantitative lymphoscintigraphy even though their study included fewer patients. In anatomical studies of normal cadavers peripheral LVC have not been found.

DISCUSSION

Clinical Implications: LVC and VLNT

Several studies have demonstrated the existence of LVC both in animals and in humans. However, the design, the methods, and the characteristics of the contrast materials used vary.

LVC have been found in normal people at lower prevalence rates than in patients with pathologies of the lymphatic system, implying a compensatory mechanism as stated years ago by Threefoot. To the best of our knowledge, a comprehensive review of LVC and a subclassification has not been proposed previously, and the exact type of LVC studied has not been specified in many previous investigations.

This information is important because even though all LVC constitute an alternative pathway for lymphatic drainage, each type transports different lymph and blood elements. Also, each type of LVC has its own activation time after lymphatic system disruption, possibly correlating with the clinical stage of lymphedema. For instance, LVC located at the medullary sinuses within the lymph nodes appear when the intrinsic contractility and the valve competence of the efferent channels have failed. While data obtained from rat models show that LVC located at the HEV in the paracortex of the lymph nodes are present under physiological conditions [40]. Immediately after dissection of a vascularized lymph node flap (VLNF), the latter would remain functional and would be the type of LVC found by Cheng et al. in the VLNF [3]. Also, LVC located at the medullary sinuses appear later.

The volume that each type of LVC can transport after disruption of the lymphatic system is unknown. However, LVC at the medullary sinuses could transport higher lymph volumes than LVC at the HEV. Since only after the demonstration of the former, the clinical signs of obstruction of the thoracic duct in rats disappeared [29].

Additionally, following a disruption of the lymphatic system peripheral LVC would open in shorter times than LVC at the medullary sinuses. For this reason, we think that the role of peripheral LVC should be considered when analyzing the mechanism of action of VLNT. It would be advisable to include as much fatty tissue around the lymph nodes as possible when performing VLNT because of the possible existence of peripheral LVC in this tissue. Also, flap debulking procedures often required for aesthetic reasons when the VLNF is inset distally should be avoided.

The mechanism of action of the VLNT is considered when choosing the receptor area for the VLNF. Authors that use distal receptor areas think that the VLNT functions mainly because of the pump mechanism while authors that use the lymph node dissection area as the receptor zone consider lymphangiogenesis to be the main mechanism of action of the VLNT. Both mechanisms may play an important role and could complement each other [1].

An additional and fundamental factor to consider with regard to the receptor area is *venous pressure*. From the information gathered regarding LVC, the most physiological receptor zone for the VLNF would be the lymph node dissection area (axilla or groin). Venous pressure is lower here than in distal areas and it is an essential consideration in the functioning of any LVC. As experimental studies show that if the venous pressure in the lymph node is high, the LVC within the lymph nodes do not open [29]. Moreover, increased venous pressure may cause blood to flow back into the lymph node sinuses and it is reported to be accompanied by lymph node fibrosis [29,32]. Consequently, uncontrolled venous pressure in the flap would prevent the opening of LVC and can lead to lymph node fibrosis. Furthermore, increased hydrostatic pressure in the receptor vein raises the capillary filtration rate and lymph fluid production, and if maintained chronically can exhaust the lymphatic system and cause lymph vessel damage [11,44].

Therefore, it is of paramount importance to control the venous pressure when performing VLNT. We can control the venous pressure inside the flap by choosing receptor vessels whose pressures are not expected to be higher than the flap's lymphatic system pressure. Also by choosing the appropriate receptor zone for the flap. It has been suggested that VLNF should be inset distally and this proposal is based

on the notion that gravity would stimulate lymph drainage from the lymphedematous limb through the flap [3]. But gravity would also increase venous pressure. In lymphedema, lymphatic pressure increases from subatmospheric to supra-atmospheric values [10] but it would not match or it would be higher than the levels of venous pressure reached during orthostasis. If the VLNF is inset distally (ankle, wrist) instead of in the disrupted area of the lymphatic system (the lymph node dissection area), the high venous pressure might affect the mechanism of action of the VLNF. Although the pressures in the microcirculation might compensate initially, we wonder if the beneficial effect of the flap would last as long as under lower venous pressures. We must consider how to balance the capillary filtration rate and the lymphatic drainage to maintain the homeostasis inside the flap. Adequate planning and the use of a suitable receptor area and blood vessels could extend the “longevity” of the reconstructive procedures performed to treat lymphedema.

CONCLUSIONS AND FUTURE PERSPECTIVES

As Threefoot stated in the 60s, we need to determine the factors that affect LVC function and to clarify their mechanisms in order to improve the transport of lymph to the bloodstream via alternative routes. Several questions arise when we consider the previously mentioned information regarding the types of LVC within the lymph nodes. Are both types of LVC within the lymph nodes efficient compensatory mechanisms when the lymphatic system is disrupted? What volume does a lymph node filter under physiological conditions? What is the maximum volume/flow of lymph fluid that the LVC at the HEV can handle? How long does it take to achieve the maximum limit? Can the lymph fluid from the lymphedematous limb be drained by the 1–6 nodes that a flap for a VLNT contains? This review might be useful to answer these and other questions in future research.

REFERENCES

- Raju A, Chang DW: Vascularized lymph node transfer for treatment of lymphedema: A comprehensive literature review. *Ann Surg* 2015;261:1013–1023.
- Gharb BB, Rampazzo A, Spanio di Spilimbergo S, et al.: Vascularized lymph node transfer based on the hilar perforators improves the outcome in upper limb lymphedema. *Ann Plast Surg* 2011;67:589–593.
- Cheng MH, Huang JJ, Nguyen DH, et al.: A novel approach to the treatment of lower extremity lymphedema by transferring a vascularized submental lymph node flap to the ankle. *Gynecol Oncol* 2012;126:93–98.
- Parrett BM, Sepic J, Pribaz JJ: The contralateral rectus abdominis musculocutaneous flap for treatment of lower extremity lymphedema. *Ann Plast Surg* 2009;62:75–79.
- Mortimer P: Arm lymphoedema after breast cancer. *Lancet Oncol* 2013;14:442–443.
- DiSipio T, Rye S, Newman B, et al.: Incidence of unilateral arm lymphoedema after breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 2013;14:500–515.
- Lin CH, Ali R, Chen SC, et al.: Vascularized groin lymph node transfer using the wrist as a recipient site for management of postmastectomy upper extremity lymphedema. *Plast Reconstr Surg* 2009;123:1265–1275.
- Oremus M, Dayes I, Walker K, et al.: Systematic review: Conservative treatments for secondary lymphedema. *BMC Cancer* 2012;12:6.
- Nadal-Castells MJ, Bascuñana-Ambros H, Ruber-Martín C, et al.: Tratamiento quirúrgico del linfedema. *Rehabilitación* 2010;44:68–71.
- Lee BB, Bergan J, Rockson SG: (Eds) *Lymphedema. A concise compendium of theory and practice*, 1st edition. London: Springer-Verlag; 2011. p. 621.
- Mortimer PS, Rockson SG: New developments in clinical aspects of lymphatic disease. *J Clin Invest* 2014;124:915–921.
- Boccardo F, Casabona F, DeCian F, et al.: Lymphatic microsurgical preventing healing approach (LYMPHA) for primary surgical prevention of breast cancer-related lymphedema: Over 4 years follow-up. *Microsurgery* 2014;34:421–424.
- Ito R, Suami H: Overview of lymph node transfer for lymphedema treatment. *Plast Reconstr Surg* 2014;134:548–556.
- Cheng MH, Chen SC, Henry SL, et al.: Vascularized groin lymph node flap transfer for postmastectomy upper limb lymphedema: Flap anatomy, recipient sites, and outcomes. *Plast Reconstr Surg* 2013;131:1286–1298.
- Becker C, Assouad J, Riquet M, et al.: Postmastectomy lymphedema: Long-term results following microsurgical lymph node transplantation. *Ann Surg* 2006;243:313–315.
- Saaristo AM, Niemi TS, Viitanen TP, et al.: Microvascular breast reconstruction and lymph node transfer for postmastectomy lymphedema patients. *Ann Surg* 2012;255:468–473.
- Egorov YS, Abalmasov KG, Ivanov VV, et al.: Autotransplantation of the greater omentum in the treatment of chronic lymphedema. *Lymphology* 1994;27:137–143.
- Benoit L, Boichot C, Cheynel N, et al.: Preventing lymphedema and morbidity with an omentum flap after ilioinguinal lymph node dissection. *Ann Surg Oncol* 2005;12:793–799.
- Attash SM, Al-Sheikh MY: Omental flap for treatment of long standing lymphoedema of the lower limb: Can it end the suffering? Report of four cases with review of literatures. *BMJ Case Rep* 2013;2013:1–3.
- Sapountzis S, Singhal D, Rashid A, et al.: Lymph node flap based on the right transverse cervical artery as a donor site for lymph node transfer. *Ann Plast Surg* 2014;73:398–401.
- Althubaiti GA, Crosby MA, Chang DW: Vascularized supraclavicular lymph node transfer for lower extremity lymphedema treatment. *Plast Reconstr Surg* 2013;131:133e–135e.
- Dayan E, Smith ML, Sultan M, et al.: Axillary lymph node transfer for the treatment of lymphedema: Technique and case series. *Plast Reconstr Surg* 2013;132:86.
- Buettner M, Bode U: Lymph node transplantation and its immunological significance in animal models. *Clin Dev Immunol* 2011;2011:353510.
- Cheng MH, Huang JJ, Wu CW, et al.: The mechanism of vascularized lymph node transfer for lymphedema: Natural lymphaticovenous drainage. *Plast Reconstr Surg* 2014;133:192e–198e.
- Heymans O, Fallais C, Hustinx R: Intratissular lymphaticovenous anastomoses demonstrated by perioperative intramuscular injection of 99mTC-colloids. *Lymphat Res Biol* 2006;4:29–33.
- Levick JR: Revision of the Starling principle: new views of tissue fluid balance. *J Physiol* 2004;557:704–704.
- Choi I, Lee S, Hong YK: The new era of the lymphatic system: no longer secondary to the blood vascular system. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:a006445.
- Abtahian F, Guerriero A, Sebzda E, et al.: Regulation of blood and lymphatic vascular separation by signaling proteins SLP-76 and Syk. *Science* 2003;299:247–251.
- Hidden G, Menard P, Zorn JY: Lymphaticovenous communications. Role of the lymph nodes. *Anat Clin* 1985;7:83–91.
- Kariya S, Komemushi A, Nakatani M, et al.: Intranodal lymphangiogram: Technical aspects and findings. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2014;37:1606–1610.
- Stamp GF, Peters AM: Peripheral lymphovenous communication in lymphoedema. *Nucl Med Commun* 2012;33:701–707.
- Yin T, Ji XL, Shen MS: Relationship between lymph node sinuses with blood and lymphatic metastasis of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:40–43.
- Edwards JM, Kinmonth JB: Lymphovenous shunts in man. *Br Med J* 1969;4:579–581.
- Koehler PR, Schaffer B: Peripheral lymphaticovenous anastomoses. Report of two cases. *Circulation* 1967;35:401–404.
- Levick JR, Michel CC: Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovasc Res* 2010;87:198–210.

36. Renkin EM: Some consequences of capillary permeability to macromolecules: Starling's hypothesis reconsidered. *Am J Physiol* 1986;250:H706–H710.
37. Ehrlich WE: The role of the lymphocyte in the circulation of the lymph. *Ann NY Acad Sci* 1946;46:823–857.
38. Pressman JJ, Simon MB: Experimental evidence of direct communications between lymph nodes and veins. *Surg Gynecol Obstet* 1961;113:537–541.
39. Pressman JL, Burtz MV, Shafer L: Further observations related to direct communications between lymph nodes and veins. *Surg Gynecol Obstet* 1964;119:984–990.
40. Anderson ND, Anderson AO, Wyllie RG: Specialized structure and metabolic activities of high endothelial venules in rat lymphatic tissues. *Immunology* 1976;31:455–473.
41. Dixon JB, Weiler MJ: Bridging the divide between pathogenesis and detection in lymphedema. *Semin Cell Dev Biol* 2015;38:75–82.
42. Sane DC, Massey EW, Moore J: Lipid cerebral embolization following lymphogram. *Clin Neuropharmacol* 1985;8:184–188.
43. Jay JC, Ludington LG: Neurologic complications following lymphangiography: Possible mechanisms and a case of blindness. *Arch Surg* 1973;106:863–864.
44. Stanton AW, Modi S, Mellor RH, et al.: Recent advances in breast cancer-related lymphedema of the arm: Lymphatic pump failure and predisposing factors. *Lymphat Res Biol* 2009;7:29–45.
45. Pflug JJ, Calnan JS: The normal anatomy of the lymphatic system in the human leg. *Br J Surg* 1971;58:925–930.
46. Suami H, Pan W-R, Taylor GI: Changes in the lymph structure of the upper limb after axillary dissection: radiographic and anatomical study in a human cadaver. *Plast Reconstr Surg* 2007;120:982–991.
47. O'Mahony S, Britton TB, Ballinger JR, et al.: Delivery of radiolabelled blood cells to lymphatic vessels by intradermal injection: A means of investigating lymphovenous communications in the upper limb. *Nucl Med Commun* 2010;31:121–127.
48. Bains SK, Ballinger J, Allen S, et al.: An investigation of lymphovenous communications in the upper limbs of breast cancer patients. *Eur J Surg Oncol* 2015;41:433–438.
49. Threefoot SA, Kossover MF: LYmphaticovenous communications in man. *Arch Intern Med* 1966;117:213–223.
50. Threefoot SA, Kossover MF, Kent WT, et al.: Factors stimulating function of lymphaticovenous communications. *Angiology* 1967;18:682–698.
51. Aboul-Enein A, Eshrawy I, Arafa S, et al.: The role of lymphovenous communication in the development of postmastectomy lymphedema. *Surgery* 1984;95:562–566.
52. Threefoot SA: The clinical significance of lymphaticovenous communications. *Ann Intern Med* 1970;72:957–958.

7.2. SEGUNDO ARTÍCULO

Miranda Garcés, M, Mirapeix R, Pons G, Sadri A, Masià J. A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery. J Surg Oncol 2016; 113 (4):374-380

Factor de Impacto: 3.151

Cuartil de la Categoría de Cirugía: Q1

Repercusión en redes sociales (Ver anexo 4)

- Altametric attention score: 24
- En el 5% superior de los "research outputs"

Intratissue Lymphovenous Communications in the Mechanism of Action of Vascularized Lymph Node Transfer

MARÍA MIRANDA GARCÉS, MD,^{1*} GEMMA PONS, MD, PhD,¹ ROSA MIRAPEIX, MD, PhD,²
AND JAUME MASIÀ, MD, PhD¹

¹Department of Plastic Surgery, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau/Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

²Department of Anatomy and Embriology, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Background and Objectives: Vascularized lymph node transfer (VLNT) as a surgical treatment for cancer-related lymphedema has shown beneficial effects. The mechanism of action of this procedure involves lymphangiogenesis and lymphovenous communications (LVC) within the lymph nodes. We propose intratissue LVC as an additional element responsible for drainage of lymph to blood in the flap and examine this hypothesis in the current study.

Methods: This prospective study determined the passage of lymph to the venous system via intratissue LVC in 26 free flaps used for breast reconstruction. We evaluated whether fluorescence was positive in the pedicle vein after increasing time intervals following intradermal injection of indocyanine green (ICG) dye into the flaps using near infra-red fluorescence lymphography.

Results: We studied 26 free flaps, 22 deep inferior epigastric perforator (DIEP) flaps (84.6%), and 4 superior gluteal artery perforator (SGAP) flaps (15.4%). Fluorescence in the pedicle vein was positive in 22 of the 26 flaps ($P = 0.000$). The median time for fluorescence evaluation in the pedicle vein was 120 min.

Conclusions: Fluorescence in the pedicle vein after ICG intradermal injection indicates functional intratissue LVC in free flaps. *J. Surg. Oncol.* 2017;115:27–31. © 2016 Wiley Periodicals, Inc.

KEY WORDS: lymphedema; lymphedema surgery; mechanism of action; breast cancer-related lymphedema

INTRODUCTION

Cancer-related lymphedema is the consequence of cancer treatment with lymphadenectomy and/or radiotherapy. It is a highly prevalent, chronic, and progressive condition, and affects the quality of life of cancer survivors [1]. Microsurgical lymphaticovenous anastomosis and VLNT are the most commonly used reconstructive approaches to treat lymphedema. The aim of these procedures is to prevent irreversible damage of the lymphatic system by improving lymph transport and delaying fibroadipose deposition. They are successful when the affected limb has remaining intrinsic lymphatic collector contractility [2–5]. These techniques have shown to improve function and quality of life, and to reduce limb volume and the number of infectious episodes, but studies to date are not long term or well controlled [2,3,6].

The mechanism of action of VLNT involves lymphangiogenesis and LVC within the lymph nodes. Lymphangiogenesis is a process that allows recanalization of lymphatic vessels between the recipient area and the flap. It is stimulated by cytokines and growth factors released by inflammatory cells and the transferred lymph nodes [2,3,7]. LVC within the transferred lymph nodes are located at the high endothelial venules (HEV) and pump lymph into the venous system continuously [6,8–10].

The hypothesis of this study is that intratissue LVC could be an additional element to consider in the mechanism of lymph drainage of VLNT. This hypothesis is founded, first of all, on the work of Levick and co-workers. These authors revised the Starling principle and found that the sum of all Starling forces in the venous capillaries is not an absorptive force but a slight filtration force. This finding indicates that interstitial fluid is mainly returned to the blood circulation via the lymphatic system. Before the publication of this work, the main mechanism for returning the capillary ultrafiltrate and filtered plasma proteins from the interstitium to the blood circulation was considered to be venular absorption [11]. This information raises questions about the mechanism of lymph drainage in free flaps

because their dissection involves “disconnection” of the lymphatic system. It has been demonstrated that the lymph node is a central element in the lymph draining process in vascularized lymph node flaps (VLNF) [8]. Nevertheless, in a study of outcomes 5 or more years after VLNT, Becker found that although 91% of patients improved clinically, only 31% of transferred lymph nodes showed activity in lymphoscintigraphy [2,9,12]. A possible explanation for these findings is that, using the standard technique of VLNT, the lymphatic channels of the transferred lymph nodes are not re-anastomosed and deafferentized lymph nodes undergo involution [13]. Functional lymphatic vessels are necessary to maintain the immunological and hemodynamic functions of the lymph node and its micro-architecture. Antigens, inflammatory mediators, and immunological cells transported by the afferent channels to the lymph node maintain the phenotype of the high cuboidal endothelial cells of the HEV. Because physiological lymphovenous drainage inside the lymph node occurs at the HEV, it can be affected if afferent channels are disrupted. If the transferred

Abbreviations: LVC, Lymphaticovenous communications; ICG, Indocyanine green; DIEP, Deep inferior epigastric perforator; SGAP, Superior gluteal artery perforator; VLNT, Vascularized lymph node transfer; HEV, High endothelial venules; VLNF, Vascularized lymph node flap.

Conflicts of interest: None.

*Correspondence to: María Miranda Garcés, MD, Department of Plastic Surgery, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Sant Antoni Maria Claret 167, Barcelona 08025, Spain. Fax: +0034 935565607. E-mail: madelcmiranda@hotmail.com

Received 31 July 2016; Accepted 8 August 2016

DOI 10.1002/jso.24413

Published online 25 November 2016 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

lymph nodes involute, other elements within the flap must be responsible for the clinical improvement of lymphedema reported after VLNT [4,13,14]. Indirect evidence of the existence of functional intratissue LVC has been found in radial forearm and latissimus dorsi free flaps [15]. VLNF intratissue LVC may be involved in the lymphatic drainage of free flaps. The aim of this study was to investigate the existence of intratissue LVC in free flaps used for breast reconstruction.

MATERIALS AND METHODS

This prospective observational study took place from October 2014 to September 2015 in the Plastic Surgery Department at Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. It was approved by the Institutional Review Board and informed consent was obtained from all the patients.

To determine the passage of lymph to the venous system via peripheral LVC, we studied 26 consecutive DIEP flaps and SGAP flaps performed in patients for breast reconstruction. The techniques for flap dissection have been described in detail elsewhere. We did not study lymph node flaps because LVC within the lymph nodes also transport lymph fluid to the veins, and this could have affected the analysis of the results. Patients who had previous surgery at the flap donor site were not included because of the possible variation in the anatomy and hemodynamics of the flap.

After elevating the flap and before dissecting the pedicle, we injected 0.5 ml of ICG dye (Pulsion[®] 0,5%) intradermally into the edges of all flaps and into the midline of DIEP flaps (Fig. 1). ICG dye administration is considered safe, as evidenced by its nearly 60 years of intravenous use in clinical medicine and its more recent intradermal application for lymphatic mapping [8,16].

We then evaluated whether fluorescence was positive in the pedicle vein after increasing time intervals following ICG dye injection using near infra-red fluorescence lymphography (Fluobeam[®], France). When time intervals were longer than the duration of pedicle dissection, we performed contralateral breast symmetrization when indicated to avoid increasing the operating time. If breast symmetrization was not indicated, the time interval to evaluate fluorescence was equivalent to the duration of pedicle dissection. Patients were followed up after surgery as per hospital protocols.

Statistical analysis was performed using SPSS 23.0 software (IBM Co., Armonk, NY). Means and standard deviations were used to summarize continuous variables. Frequencies and proportions were used to describe categorical variables. We used the Chi-square two-tailed test to analyze fluorescence detection and the Kruskal Wallis test for time analysis. Statistical significance was defined as $P < 0.05$.

RESULTS

Our study included 23 women with a mean age of 49.6 years \pm 9.5. No patients had adverse reactions to the ICG dye. We studied 26 free flaps that included 22 DIEP flaps (84.6%) and 4 SGAP flaps (15.4%). All flaps survived. Fluorescence was not detected in the pedicle vein of the first four DIEP flaps that we studied after 5, 30, 45, and 60 min following ICG injection. The first positive result appeared 120 min after ICG injection in a SGAP flap. From this result, we established 120 min as the minimum time to evaluate fluorescence. However, in some cases we evaluated fluorescence in a shorter time for practical reasons. Fluorescence was positive in the pedicle vein in 22 of the 26 flaps ($P = 0.000$) (Fig. 2). Table I summarizes the results of fluorescence detection in the pedicle vein for each type of flap. No statistically significant relationship was found between these variables ($P = 0.1$). Table II shows a summary of the time intervals used when fluorescence was positive. The analysis of time between flaps did not have any statistical significance ($P = 0.558$), even if only positive results were considered ($P = 0.093$).

DISCUSSION

Positive fluorescence in the pedicle vein after intradermal injection of ICG dye in free flaps is indirect evidence of the existence of intratissue LVC. Fluorescence was continuous, indicating the constant elimination of ICG dye from the interstitium to the venous circulation. It is not likely that this elimination occurred via venous capillary reabsorption. ICG dye has low vascular and tissue permeability because it binds almost completely to large plasma α -lipoproteins [16–18], but more importantly, it has been shown that the interstitial fluid is mainly returned to the blood circulation via the lymphatic system in most well-perfused vascular beds [11]. Therefore, the elimination of ICG most likely occurred via intra-flap LVC.

Evidence of intratissue LVC was first found by Heymans and co-workers in a study performed in 14 patients intraoperatively. They injected a radiotracer into the dermis or muscle of radial forearm and latissimus dorsi flaps. The radiotracer used could not pass directly to the blood vessels because of its molecular size. They found that radioactivity increased progressively over time in samples taken from the pedicle vein 10, 20, and 30 min after the injection in all patients [15]. In contrast, we did not find evidence of intratissue LVC at similar time intervals, in our study fluorescence was negative in the pedicle vein at 5, 15, and 30 min in DIEP flaps. This could be due to the fact that we used different methods to identify LVC. On the other hand, our negative findings concur with the results reported by Cheng and co-workers, using comparable methods to analyze lymphatic drainage

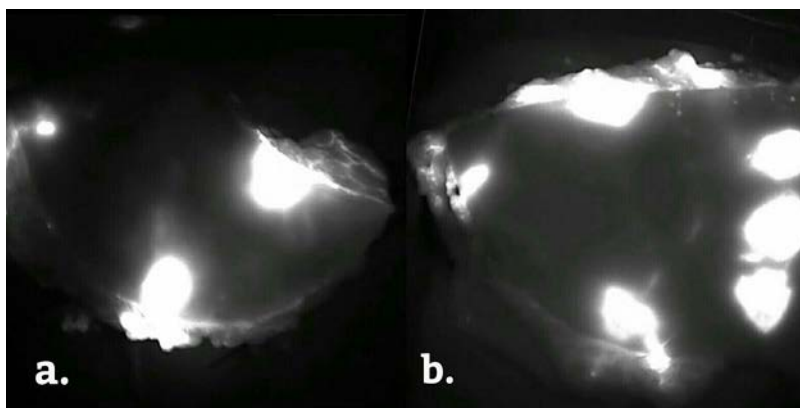


Fig. 1. (a) SGAP flap and (b) DIEP flap near-infrared fluorescence imaging after intradermal injection of ICG dye.

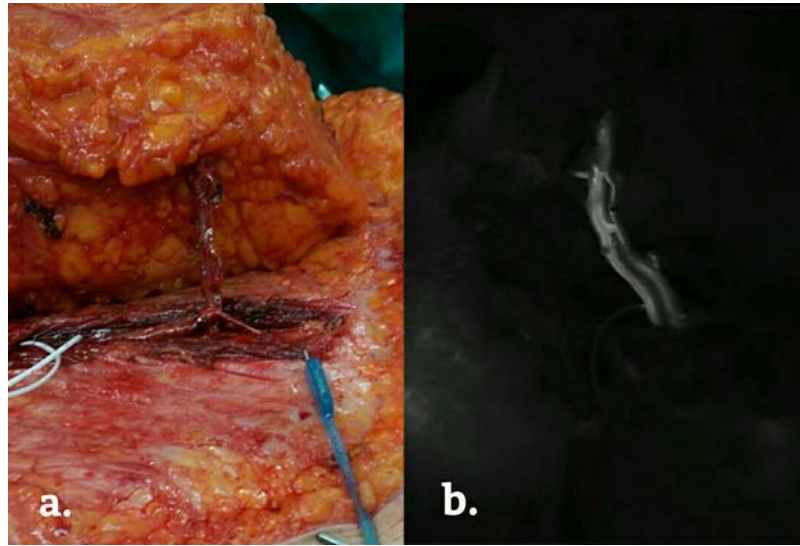


Fig. 2. Positive fluorescence in the pedicle veins of a DIEP flap 120 min after intradermal injection of ICG dye.

in free flaps. They studied six forearm flaps and six anterolateral thigh flaps in a clinical study and 12 DIEP flaps in a rat model. Following intradermal injection of ICG into the flaps edges, they monitored the vein for 30 min using near-infrared fluorescence imaging. During that time, fluorescence was negative in the vein [8].

A limitation of our study is that we did not study the latency period between the disruption of the lymphatic system and the opening of intratissue LVC determined by positive fluorescence in the pedicle vein. We used increasing time intervals to evaluate the presence of fluorescence. Nevertheless, the information we obtained can be useful to define a time frame to monitor the latency period in further studies.

We hypothesized that intratissue LVC could act as “choke vessels” between the lymphatic and venous system. They would open minutes after the disruption of the lymphatic system allowing the transport of lymph to blood (Fig. 3) [19]. Therefore, the clinical improvement reported in patients with lymphedema treated with VLNF would not only depend on the function of lymph nodes. In a VLNF, a section of the lymphatic system that includes also intratissue LVC and lymphatic vessels would be transferred. Lymphatic vessels are not simply passive conduits; lymphatic endothelial cells can directly modulate inflammatory response [4]. The interaction of lymphatic endothelial cells with the extracellular matrix also plays a key role in the maturation phase of lymphangiogenesis [20].

TABLE I. Results of Fluorescence Detection in the Pedicle Vein for All Flaps and for Each Type of Flap

Type of flap	Result		Total
	Positive	Negative	
DIEP			
Count	18	4	22
%	81.8%	18.2%	100.0%
SGAP			
Count	4	0	4
%	100.0%	0.0%	100.0%
Total			
Count	22	4	26
%	84.6%	15.4%	100.0%

DIEP, Deep inferior epigastric perforator flap; SGAP; Superior gluteal artery perforator flap.

The role of intratissue LVC in free flap lymphatic drainage has several clinical implications. When choosing a VLNF, it would be advisable to include as much lymphoadipose tissue as possible. Also, debulking procedures often required for aesthetic reasons when VLNF is inset distally should be avoided because important elements could be damaged.

Venous pressure is essential in LVC functioning. Experimental studies show that high venous pressure in the lymph node leads to fibrosis and prevents opening of LVC within the lymph nodes [19,21,22]. High venous pressure may also avoid intratissue LVC opening. In addition, increased venous pressure raises hydrostatic pressure, capillary filtration rate, and lymph fluid production and if it is maintained chronically, it can exhaust the lymphatic system of the flap and cause lymph vessel damage [4,23]. Venous pressure should, thus, be controlled when performing VLNT to balance the capillary filtration rate and the lymphatic drainage to maintain the homeostasis inside the flap. One form of control is to choose recipient vessels whose pressures are not expected to be higher than the pressure in the lymphatic system of the flap [24]. Another way is to select the appropriate recipient zone for the flap. Distal recipient areas for VLNF have been proposed based on the idea that gravity stimulates lymph drainage from the lymphedematous limb through the flap, but gravity also increases venous pressure [6]. In patients with lymphedema, lymphatic pressure increases from subatmospheric to supra-atmospheric values [2], but it will not be equal to or higher than orthostatic venous pressure. Therefore, proximal recipient areas which have lower venous pressures would be the most physiological choice.

TABLE II. Summary of Time Intervals in Flaps With Positive Fluorescence^a

Flap	Number of flaps	Median	Minimum	Maximum	Mean	Standard deviation
DIEP	18	120.00	75	120	115.27	12.02
SGAP	4	97.50	60	120	93.75	30.92
Total	22	120.00	60	120	111.36	18.26

^aTime in minutes.

DIEP, Deep inferior epigastric perforator flap; SGAP, Superior gluteal artery perforator flap.

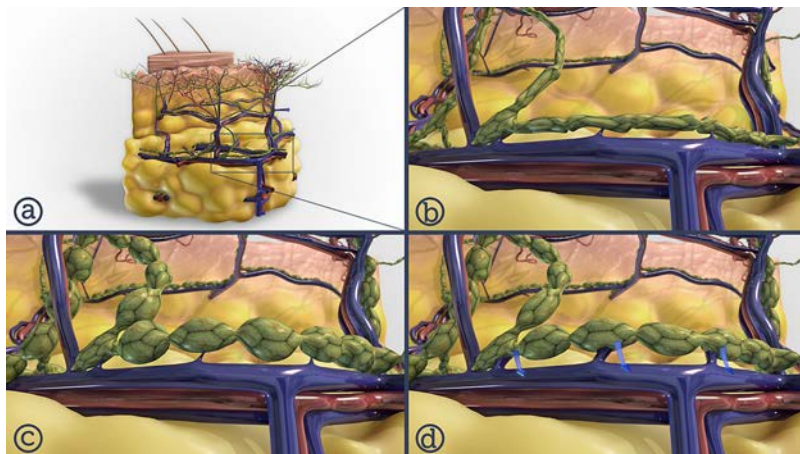


Fig. 3. Intratissue LVC could act as “choke vessels” between the lymphatic and venous systems when the lymphatic system is disrupted. (a) Perforator flap microcirculation. (b) Closed intratissue LVC under physiological conditions or soon after lymphatic system disruption. (c) Illustration of increased load in the lymphatic system that stimulates (d) opening of LVC minutes after the disruption of the lymphatic system, allowing the transport of lymph to blood.

Intratissue LVC could be the reason because non-lymph node flaps have been reported to be effective in the treatment of lymphedema [25–27]. If that is the case, they could be used instead of VLNF to treat lymphedema, which would diminish substantially the risk of secondary lymphedema in VLNF donor areas.

One deleterious effect of LVC is their possibility to spread cancer cells [4,15,21,28]. However, this is not yet well understood and the issue has not been considered in sufficient depth to evaluate the safety of VLNF.

CONCLUSIONS

Our findings indirectly demonstrate the existence of intratissue LVC that transport lymph from the interstitial space to the venous system by identifying ICG in the flap’s pedicle vein after the injection of intradermal ICG. We believe that this finding has clinical implications that can help to refine the VLNT procedure. It could also explain the clinical improvement of lymphedema shown by non-lymph node flaps and would support their use.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr. Hiroo Suami for his collaboration in the pilot study in cadavers that was conducted before this clinical study.

REFERENCES

- DiSipio T, Rye S, Newman B, et al.: Incidence of unilateral arm lymphoedema after breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 2013;14:500–515.
- Lee BB, John B, Rockson SG, editors. *Lymphedema. A concise compendium of theory and practice*, 1st edition. Vol. 1. London Springer-Verlag; 2011. p. 621.
- Raju A, Chang DW: Vascularized lymph node transfer for treatment of lymphedema: A comprehensive literature review. *Ann Surg* 2015;261:1013–1023.
- Mortimer PS, Rockson SG: New developments in clinical aspects of lymphatic disease. *J Clin Invest* 2014;124:915–921.
- Masia J, Pons G, Rodriguez-Bauza E: Barcelona lymphedema algorithm for surgical treatment in breast cancer-related lymphedema. *J Reconstr Microsurg* 2016;32:329–335.
- Cheng MH, Huang JJ, Nguyen DH, et al.: A novel approach to the treatment of lower extremity lymphedema by transferring a vascularized submental lymph node flap to the ankle. *Gynecol Oncol* 2012;126:93–98.
- Buettner M, Bode U: Lymph node transplantation and its immunological significance in animal models. *Clin Dev Immunol* 2011;2011:353510.
- Cheng MH, Huang JJ, Wu CW, et al.: The mechanism of vascularized lymph node transfer for lymphedema: Natural lymphaticovenous drainage. *Plast Reconstr Surg* 2014;133:192e–198e.
- Ito R, Suami H: Overview of lymph node transfer for lymphedema treatment. *Plast Reconstr Surg* 2014;134:548–556.
- Anderson ND, Anderson AO, Wyllie RG: Specialized structure and metabolic activities of high endothelial venules in rat lymphatic tissues. *Immunology* 1976;31:455–473.
- Levick JR: Revision of the Starling principle: New views of tissue fluid balance. *J Physiol* 2004;557:704–704.
- Becker C, Assouad J, Riquet M, et al.: Postmastectomy lymphedema: Long-term results following microsurgical lymph node transplantation. *Ann Surg* 2006;243:313–315.
- Willard-Mack CL: Normal structure, function, and histology of lymph nodes. *Toxicol Pathol* 2006;34:409–424.
- Kesler CT, Liao S, Munn LL, et al.: Lymphatic vessels in health and disease. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2013;5:111–124.
- Heymans O, Fallais C, Hustinx R: Intratissular lymphaticovenous anastomoses demonstrated by perioperative intramuscular injection of 99mTC-colloids. *Lymphat Res Biol* 2006;4:29–33.
- Yoneya S, Saito T, Komatsu Y, et al.: Binding properties of indocyanine green in human blood. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:1286–1290.
- Alander JT, Kaartinen I, Laakso A, et al.: A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging* 2012;2012:940585.
- Kusano M, Kokudo N, Toi M, et al. (editors): *ICG fluorescence imaging and navigation surgery*. Japan: Springer; 2016. p. 3.
- Miranda Garcés M, Mirapeix R, Pons G, et al.: A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery. *J Surg Oncol* 2016;113:374–380.
- Tammela T, Alitalo K: Lymphangiogenesis: Molecular mechanisms and future promise. *Cell* 2010;140:460–476.
- Yin T, Ji XL, Shen MS: Relationship between lymph node sinuses with blood and lymphatic metastasis of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:40–43.

22. Hidden G, Menard P, Zorn JY: Lymphaticovenous communications. Role of the lymph nodes. *Anat Clin* 1985;7:83–91.
23. Stanton AW, Modi S, Mellor RH, et al.: Recent advances in breast cancer-related lymphedema of the arm: Lymphatic pump failure and predisposing factors. *Lymphat Res Biol* 2009;7:29–45.
24. Heymans O, Verhelle NA, Nélissen X, et al.: Embolization of a free flap nutrient artery to reduce late postoperative edema. *Plast Reconstr Surg* 2004;113:2091–2094.
25. Card A, Crosby MA, Liu J, et al.: Reduced incidence of breast cancer-related lymphedema following mastectomy and breast reconstruction versus mastectomy alone. *Plast Reconstr Surg* 2012;130:1169–1178.
26. Lee KT, Lim SY, Pyun JK, et al.: Improvement of upper extremity lymphedema after delayed breast reconstruction with an extended latissimus dorsi myocutaneous flap. *Arch Plast Surg* 2012;39:154–157.
27. Chang DW, Kim S: Breast reconstruction and lymphedema. *Plast Reconstr Surg* 2010;125:19–23.
28. Edwards JM, Kinmonth JB: Lymphovenous shunts in man. *Br Med J* 1969;4:579–581.

8

Discusión e implicaciones clínicas

8.1. DISCUSIÓN

Desde finales del siglo XIX varios estudios clínicos y experimentales han demostrado la existencia de ALV. Sin embargo, el diseño y los métodos de estudio son altamente variables. Se han descrito ALV en condiciones fisiológicas con menor frecuencia que en casos de patología del sistema linfático. Esto implica que las ALV representan un mecanismo compensatorio tal como lo hizo notar Threefoot en los años 60. (47, 55)

Hasta la fecha, no se ha realizado una revisión sobre las ALV. Tampoco, se ha hecho notar el tipo específico de ALV que cada uno de los estudios publicados describe, ni se ha propuesto una subclasificación. Esta información es importante puesto que, aunque todas las ALV constituyen una vía alternativa de drenaje linfático a la circulación sanguínea, cada tipo de ALV transporta diferentes elementos de la linfa y de la sangre. Además, al analizar los resultados de las investigaciones sobre ALV, se observa que cada tipo y subtipo de ALV tiene un “tiempo de activación” determinado y una capacidad de transporte diferente. Esto es relevante al estudiar el mecanismo de acción de las TGLV que es una de las opciones de reconstrucción quirúrgica del sistema linfático disponibles en la actualidad.

Antes de publicar los dos trabajos en los que se basa esta tesis, se habían propuesto dos mecanismos de acción de las TGLV que son: el transporte de linfa hacia el sistema venoso a través de ALV localizadas en los ganglios linfáticos y la linfoangiogénesis.

En el estudio detallado en la segunda publicación se ha objetivado la existencia de ALV intratisulares. La fluorescencia positiva en la vena del pedículo luego de la inyección intradérmica de verde de indocianina es evidencia indirecta de la existencia de ALV intratisulares funcionales en los colgajos de perforantes estudiados. Desde que se observó

la positividad de la fluorescencia en la vena del pedículo, esta fue continua, lo que indica el paso constante de verde de indocianina del intersticio a la circulación venosa. Es poco probable que el verde de indocianina haya llegado a la circulación venosa a través de la pared de los capilares venosos por dos razones:

- El verde de indocianina tiene una baja permeabilidad tisular y se une casi por completo a alfa-lipoproteínas de gran tamaño. El tamaño de las proteínas a las que se une el verde de indocianina hace que este permanezca confinado al sistema vascular. (12-14)
- Se ha demostrado que el líquido intersticial regresa a la circulación sanguínea por medio del sistema linfático en la mayoría de tejidos bien perfundidos. (56)

Por lo tanto, la vía de eliminación de verde de indocianina desde el intersticio más probable es a través de ALV intra-colgajo. Los primeros en hallar ALV intratisulares fueron Heymans et al. en una investigación realizada en 14 pacientes. Ellos inyectaron intraoperatoriamente un radiotrazador en la dermis o el músculo de colgajos radiales y dorsales anchos respectivamente. Los radiotrazadores utilizados tenían un gran tamaño molecular y por lo tanto eran incapaces de atravesar la pared de los vasos sanguíneos. Los investigadores hallaron que la radioactividad se incrementó progresivamente en las muestras de sangre tomadas de la vena del pedículo a los 10, 20 y 30 minutos luego de la inyección del radiotrazador en todos los pacientes. (52) A diferencia de este trabajo, nosotros no hallamos evidencia de ALV intratisulares a intervalos de tiempo similares. En nuestro estudio, la fluorescencia fue negativa en la vena del pedículo de los colgajos de perforantes estudiados a los 5, 15 y 30 min. Esta diferencia entre ambos estudios puede deberse a que se usaron diferentes métodos para estudiar ALV. Por otro lado, nuestros resultados negativos a los 5, 15 y 30 min concuerdan con los hallazgos de Cheng et al. (11) quienes estudiaron el drenaje linfático de colgajos libres por métodos similares a los utilizados en nuestro estudio. Cheng et al. (11) incluyeron en su estudio clínico 6 colgajos radiales y 6 colgajos anterolaterales de muslo, y en su estudio experimental 12 colgajos DIEP en ratas. Tras la inyección intradérmica de verde de indocianina en los bordes de los colgajos, monitorizaron

la vena durante 30 minutos utilizando el método de imagen por fluorescencia de infrarrojos cercanos. Durante los 30 minutos la fluorescencia fue negativa en la vena.

Por motivos prácticos no fue posible monitorizar de forma continua el momento de aparición de la fluorescencia en la vena del pedículo. Lo que se hizo fue evaluar la positividad de la fluorescencia a intervalos de tiempo determinados que se fueron incrementando. Por lo tanto, una limitación de este estudio es que no se estudiaron los **periodos de latencia** entre la disrupción del sistema linfático (que ocurrió al momento de disecar el colgajo) y el inicio de la función de las ALV (determinado por la presencia de fluorescencia positiva en la vena del pedículo). A pesar de esto, la información obtenida es útil para definir un rango de tiempo para monitorizar ese período de latencia en investigaciones futuras.

8.2. IMPLICACIONES CLÍNICAS

La determinación de ALV intratisulares y su papel en el drenaje linfático de los colgajos libres tiene varias implicaciones clínicas en la cirugía del linfedema.

- Sería recomendable incluir en el CGLV la mayor cantidad de tejido adiposo posible, ya que se ha establecido en este estudio que se trata en realidad de un tejido linfoadiposo funcionalmente activo.
- Por la misma razón, se deberían evitar los procedimientos de adelgazamiento o “debulking” de los colgajos para evitar el daño de estructuras linfáticas importantes. Cabe recordar que los procedimientos de adelgazamiento suelen ser necesarios por razones estéticas cuando los CGLV se colocan distalmente.
- La regulación de la presión venosa es esencial en el funcionamiento de las ALV. Estudios experimentales muestran que una presión venosa elevada en el ganglio linfático produce fibrosis y evita que las ALV se abran. (45, 50) En consecuencia, se deduce que una presión venosa elevada también impediría que las ALV intratisulares

empiecen a funcionar. Además, una presión venosa elevada incrementa la presión hidrostática, la filtración capilar y la producción de linfa, y si estos cambios se mantienen de forma crónica, la función del sistema linfático del colgajo podría “agotarse”. (3, 57) Por lo tanto, la presión venosa debe ser controlada al realizar una TGLV para equilibrar la filtración capilar y el drenaje linfático con el objetivo de mantener la homeostasis del colgajo. Además, cabe preguntarse si los efectos beneficiosos del colgajo tendrían una duración similar a presiones venosas elevadas como a bajas presiones. Una forma de mejorar ese equilibrio, sería por medio de la selección de vasos receptores cuya presión no sea mayor que la presión en el sistema linfático del colgajo. (58) Otro método sería la selección de una zona receptora del colgajo adecuada. Cheng et al. han propuesto el uso de zonas receptoras distales basándose en la idea de que la gravedad podría estimular el drenaje linfático desde el miembro linfedematoso hacia el colgajo, pero la gravedad también incrementaría la presión venosa (25, 41). En pacientes con linfedema, la presión linfática subatmosférica llega a ser supra-atmosférica, pero no se iguala ni supera a la presión venosa en ortostatismo (17). Las áreas receptoras proximales (axilas e ingles) serían la opción más fisiológica y adecuada para mantener la “longevidad” del CGLV al ser la presión venosa más baja que en zonas distales.

- El drenaje de linfa a la sangre a través de las ALV intratisulares podría explicar porque colgajos que no contienen ganglios linfáticos han demostrado resultados favorables en algunos estudios.(59-61) El utilizar este tipo de colgajos en lugar de CGLV para tratar el linfedema disminuiría el riesgo de linfedema secundario iatrogénico en la zona donante del colgajo.
- A partir de los resultados obtenidos en este estudio se puede plantear como hipótesis que las ALV intratisulares actúan como vasos comunicantes (choke vessels) entre el sistema linfático y venoso. Y que estas se abrirían minutos luego de la disrupción del sistema linfático, lo que permitiría el transporte de líquido linfático a la circulación sanguínea. [19] Por lo tanto, la mejoría clínica observada en pacientes con linfedema tratados con TGLV no dependería únicamente de la función de los ganglios linfáticos.

En un CGLV se transferiría una sección del sistema linfático que incluiría además ALV intratisulares y vasos linfáticos. Cabe recalcar, que los vasos linfáticos no son conductos pasivos, sino que las células endoteliales linfáticas pueden modular la respuesta inflamatoria directamente. (57) Se ha observado que la interacción de las células endoteliales linfáticas con la matriz extracelular juega un papel fundamental en la fase de maduración de la linfangiogénesis. (62)

9

Conclusiones

CONCLUSIONES

1. Las anastomosis linfático-venosas naturales juegan un papel fundamental en el mecanismo de acción de las transferencias de ganglios linfáticos vascularizados.
2. Existen tres tipos de anastomosis linfático-venosas naturales: central, periféricas y las localizadas en el interior de los ganglios linfáticos.
3. La presión venosa es un factor imprescindible a considerar en el funcionamiento de las transferencias de ganglios linfáticos vascularizados.
4. Existen anastomosis linfático-venosas intratisulares en el tejido adiposo de colgajos de perforantes DIEP.
5. Existen anastomosis linfático-venosas intratisulares en el tejido adiposo de colgajos de perforantes SGAP.
6. La mediana de tiempo para la evaluación de la fluorescencia en la vena del pedículo de los colgajos de perforantes DIEP y SGAP fue de 120 minutos.
7. Las anastomosis linfático-venosas intratisulares juegan un papel fundamental tanto fisiológica como clínicamente en la cirugía del linfedema.

CONCLUSIONS

1. Natural lymphovenous communications play a key role in the mechanism of action of vascularized lymph node transfer.
2. There are three types of natural lymphovenous communications: central, peripheral and within the lymph nodes.
3. Venous pressure is an essential factor to consider in the functioning of vascularized lymph node transfer.
4. We found evidence of intratissue lymphovenous communications in the adipose tissue of DIEP flaps.
5. We found evidence of intratissue lymphovenous communications in the adipose tissue of SGAP flaps.
6. The median time for evaluating the fluorescence in the pedicle vein of DIEP and SGAP flaps was 120 minutes.
7. Intratissue lymphovenous communications play a key role both physiologically and clinically in lymphedema surgery.

10

Bibliografía

1. DiSipio T, Rye S, Newman B, Hayes S. Incidence of unilateral arm lymphoedema after breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2013;14(6):500-15.
2. Raju A, Chang DW. Vascularized lymph node transfer for treatment of lymphedema: a comprehensive literature review. *Ann Surg.* 2015;261(5):1013-23.
3. Stanton AW, Modi S, Mellor RH, Levick JR, Mortimer PS. Recent advances in breast cancer-related lymphedema of the arm: lymphatic pump failure and predisposing factors. *Lymphat Res Biol.* 2009;7(1):29-45.
4. Kwan ML, Darbinian J, Schmitz KH, et al. Risk factors for lymphedema in a prospective breast cancer survivorship study: The pathways study. *Arch Surg.* 2010;145(11):1055-63.
5. Ahmed RL, Schmitz KH, Prizment AE, Folsom AR. Risk factors for lymphedema in breast cancer survivors, the Iowa Women's Health Study. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;130(3):981-91.
6. Paskett ED, Naughton MJ, McCoy TP, Case LD, Abbott JM. The epidemiology of arm and hand swelling in premenopausal breast cancer survivors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(4):775-82.
7. International Society of Lymphology. The diagnosis and treatment of peripheral lymphedema. 2009 Consensus Document of the International Society of Lymphology. *Lymphology.* 2009;42(2):51-60.
8. Kung TA, Champaneria MC, Maki JH, Neligan PC. Current Concepts in the Surgical Management of Lymphedema. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139(4):1003e-13e.
9. O'Donnell TF, Jr., Rasmussen JC, Sevick-Muraca EM. New diagnostic modalities in the evaluation of lymphedema. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.* 2017;5(2):261-73.
10. Unno N, Inuzuka K, Suzuki M, Yamamoto N, Sagara D, Nishiyama M, et al. Preliminary experience with a novel fluorescence lymphography using indocyanine green in patients with secondary lymphedema. *J Vasc Surg.* 45(5):1016-21.
11. Cheng MH, Huang JJ, Wu CW, Yang CY, Lin CY, Henry SL, et al. The mechanism of vascularized lymph node transfer for lymphedema: natural lymphaticovenous drainage. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133(2):192e-8e.
12. Yoneya S, Saito T, Komatsu Y, Koyama I, Takahashi K, Duvoll-Young J. Binding properties of indocyanine green in human blood. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(7):1286-90.
13. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A, Patila T, Spillmann T, Tuchin VV, et al. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging.* 2012;2012:940585.
14. Kusano M, Kokudo N, Toi M, Kaibori M. *ICG Fluorescence Imaging and Navigation Surgery*: Springer Japan; 2016.p. 3-27
15. Ezzo J, Manheimer E, McNeely ML, Howell DM, Weiss R, Johansson KI, et al. Manual lymphatic drainage for lymphedema following breast cancer treatment. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015(5):Cd003475.
16. Oremus M, Dayes I, Walker K, Raina P. Systematic review: conservative treatments for secondary lymphedema. *BMC Cancer.* 2012;12:6.
17. Lee B-BB, John; Rockson, Stanley G. (Eds.). *Lymphedema. A Concise Compendium of Theory and Practice.* First ed. London Springer-Verlag; 2011 2011. 621 p.507-511
18. Cormier JN, Rourke L, Crosby M, Chang D, Armer J. The surgical treatment of lymphedema: a systematic review of the contemporary literature (2004-2010). *Ann Surg Oncol.* 2012;19(2):642-51.
19. Miller TA. Charles procedure for lymphedema: a warning. *Am J Surg.* 1980;139(2):290-2.
20. Brorson H. From lymph to fat: liposuction as a treatment for complete reduction of lymphedema. *Int J Low Extrem Wounds.* 2012;11(1):10-9.
21. Boyages J, Kastanias K, Koelmeyer LA, Winch CJ, Lam TC, Sherman KA, et al. Liposuction for Advanced Lymphedema: A Multidisciplinary Approach for Complete Reduction of Arm and Leg Swelling. *Ann Surg Oncol.* 2015;22:1263-70.
22. Cheng MH, Chen SC, Henry SL, Tan BK, Lin MC, Huang JJ. Vascularized groin lymph node flap transfer for postmastectomy upper limb lymphedema: flap anatomy, recipient sites, and outcomes. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131(6):1286-98.
23. Masia J, Miranda Garces M, Pons G. Barcelona Lymphedema Algorithm for Surgical Treatment (BLAST). *LymphLink.* 2015;28(4):14-5.

24. Boccardo F, Casabona F, DeCian F, Friedman D, Murelli F, Puglisi M, et al. Lymphatic microsurgical preventing healing approach (LYMPHA) for primary surgical prevention of breast cancer-related lymphedema: over 4 years follow-up. *Microsurg.* 2014;34(6):421-4.
25. Cheng MH, Huang JJ, Nguyen DH, Saint-Cyr M, Zenn MR, Tan BK, et al. A novel approach to the treatment of lower extremity lymphedema by transferring a vascularized submental lymph node flap to the ankle. *Gynecol Oncol.* 2012;126(1):93-8.
26. Becker C, Assouad J, Riquet M, Hidden G. Postmastectomy lymphedema: long-term results following microsurgical lymph node transplantation. *Ann Surg.* 2006;243(3):313-5.
27. Egorov Y, Abalmasov K, Ivanov V, Abramov Y, Gainulin R, Chatterjee S, et al. Autotransplantation of the greater omentum in the treatment of chronic lymphedema. *Lymphology.* 1994;27(3):137-43.
28. Benoit L, Boichot C, Cheynel N, Arnould L, Chauffert B, Cuisenier J, et al. Preventing lymphedema and morbidity with an omentum flap after ilioinguinal lymph node dissection. *Ann Surg Oncol.* 2005;12(10):793-9.
29. Attash SM, Al-Sheikh MY. Omental flap for treatment of long standing lymphoedema of the lower limb: can it end the suffering? Report of four cases with review of literatures. *BMJ Case Rep.* 2013. doi:10.1136/bcr-2012-008463
30. Sapountzis S, Singhal D, Rashid A, Ciudad P, Meo D, Chen HC. Lymph Node Flap Based on the Right Transverse Cervical Artery as a Donor Site for Lymph Node Transfer. *Ann Plast Surg.* 2014; Oct;73(4):398-401.
31. Althubaiti GA, Crosby MA, Chang DW. Vascularized supraclavicular lymph node transfer for lower extremity lymphedema treatment. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131(1):133e-5e.
32. Raju A, Chang DW. Vascularized Lymph Node Transfer for Treatment of Lymphedema: A Comprehensive Literature Review. *Ann Surg.* 2015; May;261(5):1013-23.
33. Gerety PA, Pannucci CJ, Basta MN, Wang AR, Zhang P, Mies C, et al. Lymph node content of supraclavicular and thoracodorsal-based axillary flaps for vascularized lymph node transfer. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.* 2016;4(1):80-7.
34. Inbal A, Teven CM, Chang DW. Latissimus dorsi flap with vascularized lymph node transfer for lymphedema treatment: Technique, outcomes, indications and review of literature. *J Surg Oncol.* 2017;115(1):72-7.
35. Chen WF, Zhao H, Yamamoto T, Hara H, Ding J. Indocyanine Green Lymphographic Evidence of Surgical Efficacy Following Microsurgical and Supermicrosurgical Lymphedema Reconstructions. *J Reconstr Microsurg.* 2016;32(9):688-98.
36. Gratzon A, Schultz J, Secretst K, Lee K, Feiner J, Klein RD. Clinical and Psychosocial Outcomes of Vascularized Lymph Node Transfer for the Treatment of Upper Extremity Lymphedema After Breast Cancer Therapy. *Ann Surg Oncol.* 2017;24(6):1475-81.
37. Scaglioni MF, Arvanitakis M, Chen Y-C, Giovanoli P, Chia-Shen Yang J, Chang EI. Comprehensive review of vascularized lymph node transfers for lymphedema: Outcomes and complications. *Microsurg.* 2016:n/a-n/a.
38. De Brucker B, Zeltzer A, Seidenstuecker K, Hendrickx B, Adriaenssens N, Hamdi M. Breast Cancer-Related Lymphedema: Quality of Life after Lymph Node Transfer. *Plast Reconstr Surg.* 2016;137(6):1673-80.
39. Dionyssiou D, Demiri E, Tsimponis A, Sarafis A, Mpalaris V, Tatsidou G, et al. A randomized control study of treating secondary stage II breast cancer-related lymphoedema with free lymph node transfer. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;156(1):73-9.
40. Buettner M, Bode U. Lymph Node Transplantation and Its Immunological Significance in Animal Models. *Clin and Dev Immunol.* 2011;2011:353510.
41. Lin CH, Ali R, Chen SC, Wallace C, Chang YC, Chen HC, et al. Vascularized groin lymph node transfer using the wrist as a recipient site for management of postmastectomy upper extremity lymphedema. *Plast Reconstr Surg.* 2009;123(4):1265-75.
42. Mellor RH, Stanton AWB, Menadue L, Levick JR, Mortimer PS. Evidence for Dermal Angiogenesis in Breast Cancer Related Lymphedema Demonstrated Using Dual-Site Fluorescence Angiography. *Microcirculation.* 2002;9(3):207-19.
43. Choi I, Lee S, Hong YK. The new era of the lymphatic system: no longer secondary to the blood vascular system. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(4):a006445.

44. Abtahian F, Guerriero A, Sebzda E, Lu MM, Zhou R, Mocsai A, et al. Regulation of blood and lymphatic vascular separation by signaling proteins SLP-76 and Syk. *Science*. 2003;299(5604):247-51.
45. Hidden G, Menard P, Zorn JY. Lymphaticovenous communications. Role of the lymph nodes. *Anat Clin*. 1985;7(2):83-91.
46. Stamp GF, Peters AM. Peripheral lymphovenous communication in lymphoedema. *Nucl Med Commun*. 2012;33(7):701-7.
47. Threefoot SA, Kossover MF. LYmphaticovenous communications in man. *Arch Intern Med*. 1966;117(2):213-23.
48. Pressman JJ, Simon MB. Experimental evidence of direct communications between lymph nodes and veins. *Surg Gynecol Obstet*. 1961;113:537-41.
49. Takeda K, Mori S, Kodama T. Study of fluid dynamics reveals direct communications between lymphatic vessels and venous blood vessels at lymph nodes of mice. *J Immunol Methods*. 2017;445:1-9.
50. Yin T, Ji XL, Shen MS. Relationship between lymph node sinuses with blood and lymphatic metastasis of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2003;9(1):40-3.
51. Edwards JM, Kinmonth JB. Lymphovenous shunts in man. *Br Med J*. 1969;4(5683):579-81.
52. Heymans O, Fallais C, Hustinx R. Intratissular lymphaticovenous anastomoses demonstrated by perioperative intramuscular injection of 99mTC-colloids. *Lymphat Res Biol*. 2006;4(1):29-33.
53. Dayan JH, Dayan E, Smith ML. Reverse lymphatic mapping: a new technique for maximizing safety in vascularized lymph node transfer. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(1):277-85.
54. Vignes S, Blanchard M, Yannoutsos A, Arrault M. Complications of autologous lymph-node transplantation for limb lymphoedema. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2013;45(5):516-20.
55. Threefoot SA. The clinical significance of lymphaticovenous communications. *Ann Intern Med*. 1970;72(6):957-8.
56. Levick JR, Michel CC. Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovasc Res*. 2010;87(2):198-210.
57. Mortimer PS, Rockson SG. New developments in clinical aspects of lymphatic disease. *J Clin Invest*. 2014;124(3):915-21.
58. Heymans O, Verhelle NA, Nelissen X, Dondelinger RF. Embolization of a free flap nutrient artery to reduce late postoperative edema. *Plast Reconstr Surg*. 2004;113(7):2091-4.
59. Card A, Crosby MA, Liu J, Lindstrom WA, Lucci A, Chang DW. Reduced incidence of breast cancer-related lymphedema following mastectomy and breast reconstruction versus mastectomy alone. *Plast Reconstr Surg*. 2012;130(6):1169-78.
60. Lee KT, Lim SY, Pyun JK, Mun GH, Oh KS, Bang SI. Improvement of upper extremity lymphedema after delayed breast reconstruction with an extended latissimus dorsi myocutaneous flap. *Arch Plast Surg*. 2012;39(2):154-7.
61. Chang DW, Kim S. Breast reconstruction and lymphedema. *Plast Reconstr Surg*. 2010;125(1):19-23.
62. Tammela T, Alitalo K. Lymphangiogenesis: Molecular mechanisms and future promise. *Cell*. 2010;140(4):460-76.

Anexos

Anexo I. Informe del estudio piloto realizado en cadáver



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

ESTUDIO PILOTO

MARÍA DEL CARMEN MIRANDA GARCÉS

TÍTULO DEL PROYECTO

Investigación de la anatomía de los vasos linfáticos y la existencia de anastomosis linfático-venosas periféricas intracolgado de ganglios linfáticos vascularizados submentonianos, supraclaviculares e inguinales.

Programa de Doctorado

Cirugía y Ciencias Morfológicas

Directores

Dra. Rosa M^a Mirapeix Lucas

Dr. Jaume Masià Ayala

INVESTIGADORES COLABORADORES

Dr. Hiroo Suami, MD Anderson Cancer Center, University of Texas

Barcelona, 2014

Introducción

Este estudio piloto se realizó para evaluar la viabilidad del estudio, la disponibilidad de recursos, ajustar el tamaño de la muestra y optimizar el diseño del proyecto de investigación presentado en el plan de tesis.

Hipótesis

- La técnica de inyección de linfáticos en cadáver de Suami es el método adecuado para estudiar la anatomía de los vasos linfáticos y la existencia de anastomosis linfático-venosas en los CGLV submentoniano, supraclavicular e inguinal.

Objetivos

- Describir la anatomía de los vasos linfáticos de los CGLV submentoniano, supraclavicular e inguinal utilizando la técnica de inyección de linfáticos.

- Investigar la existencia de ALV periféricas localizadas en los CGLV

submentoniano, supraclavicular e inguinal utilizando la técnica de inyección de linfáticos.

Materiales y métodos

Este estudio piloto, descriptivo, anatómico se realizó de Septiembre a Diciembre de 2014. Se analizaron 5 colgajos submentonianos de 4 x 10 cm tomados de:

- Un cadáver embalsamado en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB) (1º muestra).
- Dos cadáveres frescos, en el Hospital de Bellvitge (2º y 3º muestra) y en la Facultad de Medicina de la UAB (4º y 5º muestras).

Las muestras fueron transportadas en una nevera portátil y analizadas en el laboratorio de la Facultad de Medicina de la UAB con un microscopio estereoscópico Leica EZ4 con magnificación de 8x a 35x y en el laboratorio del Institut Català de Ciències Cardiovasculars (ICCC) / Hospital de la Santa Creu i Sant Pau con

un Microscopio Quirúrgico Zeiss con magnificación de 25x. El estudio se llevó a cabo bajo las leyes vigentes en España sobre la Investigación en Cadáveres Humanos y con el mayor cuidado y respeto hacia los cadáveres. Los cadáveres que formaron parte del estudio cumplían con los protocolos de control de enfermedades infecciosas.

Criterios de inclusión

Cadáveres humanos adultos frescos (menos de una semana post-mortem), de bajo peso o caquéticos.

Criterios de exclusión

Cadáveres con evidencia de disrupción anatómica en la zona donante del colgajo o con antecedentes de haber recibido radioterapia.

Variables a estudiar

Independiente

- Tipo de colgajo (submentoniano / supraclavicular / inguinal)

Dependientes

- Anatomía de los vasos linfáticos intracolgajo. Tipo de vaso linfático (aferente / eferente/contiguo pero que no desembo-

ca en un ganglio del colgajo), distribución, longitud, diámetro.

- Existencia de ALV intracolgajo (Si/No).
- Número de ALV intracolgajo.
- Localización de las ALV en cada colgajo.

La información obtenida se registrará en una base de datos previamente diseñada.

Técnica

Con el objetivo de facilitar la identificación de los vasos linfáticos, antes de disecar los colgajos, se realizó la inyección intradérmica y subcutánea de Azul de Metileno al 1% (2º y 3º muestras) y Patent Blue V (4º y 5º muestras) en el labio inferior, mejilla y región cervical anterior (zonas de drenaje de ganglios submentonianos). Los colgajos submentonianos se disecaron según las técnicas habituales descritas (1).

Se realizó la técnica de Suami (2) para identificar los vasos linfáticos. Se inyectó peróxido de hidrógeno al 10% con Patent Blue V intradérmico. Se pretendía identificar los vasos linfáticos inflados por efecto del peróxido de hidrógeno y teñidos con el Patent Blue V, para

posteriormente disecarlos, canularlos (con una aguja 30 G) y rellenarlos con Sulfato de Bario (radiocontraste) teñido con pintura acrílica. El procedimiento debía realizarse en cada vaso linfático encontrado.

Se identificaron y rellenaron las venas faciales con la mezcla de Sulfato de Bario teñido con tinta acrílica de otro color, para diferenciarlo del contraste inyectado en los canales linfáticos.

El colgajo debía ser radiografiado y fotografiado en dos ocasiones. Después de rellenar los vasos linfáticos y después de rellenar las venas con el radiocontraste.

Se pretendía finalmente realizar la disección de los vasos linfáticos y de las venas con el propósito de estudiar los sitios de unión de los linfáticos y las venas.

Resultados

A continuación se detalla el resumen cronológico de las actividades realizadas, los resultados y los hallazgos obtenidos.

Así como las modificaciones efectuadas a lo largo del estudio piloto.

Septiembre/2014. Intenté reproducir la técnica de identificación de linfáticos en un colgajo submentoniano tomado de un cadáver embalsamado (1º muestra) (Figura 1).



FIGURA 1. Arriba: Disección de colgajo submentoniano. Abajo: Colgajo submentoniano.

Tras varios intentos no pude identificar ningún vaso linfático, por lo que contacté con el Dr. Suami (MD Anderson Texas), quien me asesoró sobre varios detalles de su técnica y me ofreció la posibilidad

de visitar su centro para aprender su técnica.

10-17/Octubre/2014. Realicé el *Workshop of Lymphatic Injection* en el MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas.

Aprendí a realizar la técnica de inyección de linfáticos en el miembro inferior de cadáveres frescos de varias especies (rata, conejo, cerdo y humano). Luego de la inyección intradérmica de H_2O_2 y tinta acrílica, realicé la identificación de los canales linfáticos desde las zonas distales del miembro estudiado. Los canales linfáticos identificados fueron inyectados con el radiocontraste teñido.

En el cadáver humano estudiado se había inyectado verde de indocianina en los espacios interdigitales del miembro inferior años antes del estudio, por lo que algunos canales linfáticos se identificaron a través de linfografía con verde de indocianina y otros luego de inyectar H_2O_2 y tinta acrílica intradérmica.

En las especies estudiadas, la identificación de los vasos linfáticos fue exitosa cuando esta se inició en las zonas distales de los miembros (Figura 2).



FIGURA 2. Canales Linfáticos del miembro inferior de conejo (arriba), cerdo (medio) y rata (abajo).

Sin embargo, al realizar la técnica en un colgajo inguinal humano de 15 x 8 cm, no logramos reproducir la técnica, ni encontrar ningún vaso linfático. Concluimos que esto podía deberse a que:

- En los especímenes muertos la captación de las tinciones por los canales linfáticos sólo se produce si estos se inyectan en zonas distales (manos, pies) y en el complejo areola-pezones.

- La muestra se tomó de un cadáver fresco congelado hace 5 años que fue congelado y descongelado varias veces. Lo que podía haber afectado el estado de los vasos linfáticos. Sin embargo, en el mismo cadáver si fue posible observar vasos linfáticos cuando su identificación se inició en zonas distales (Figura 3).

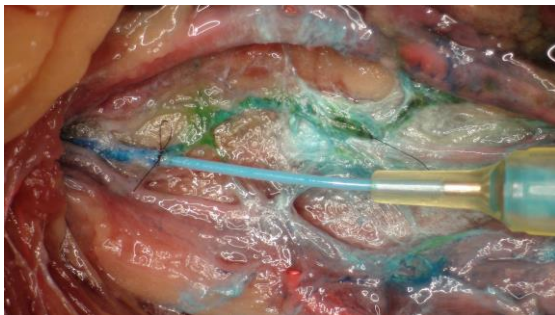


FIGURA 3. Canal Linfático (canulado) del miembro inferior de un cadáver humano.

- El tejido subcutáneo del colgajo tenía un espesor de aproximadamente 3 cm, por lo que debía analizarse un gran volumen de tejido.

22/Octubre/2014. Al volver a Barcelona decidimos sustituir la tinta acrílica por Blue Patent V para la identificación de los vasos linfáticos. Blue Patent V es una sustancia de origen azoico sintético que se caracteriza por su linfotropismo, ya que es absorbido selectivamente por los

vasos linfáticos unido a la albúmina. Decidimos utilizarlo en cadáveres muy frescos (menos de 48-72 horas de fallecidos), debido a que según algunos reportes (bibliografía no disponible) los vasos linfáticos mantendrían su contractilidad durante las primeras horas post-mortem.

24/Octubre/2014. Durante un curso de disección en cadáver en Alicante, intentamos identificar canales linfáticos luego de la inyección de Blue Patent V. Sin embargo no fue posible disponer de un cadáver fresco.

28/Octubre/2014. Realicé mi primera visita al laboratorio del ICCC. Evalúe los recursos técnicos, el centro dispone de un microscopio quirúrgico y la posibilidad de realizar radiografías.

06/Noviembre/2014. Aunque establecimos que la fecha de inicio del estudio piloto sería el 10/11/14 esta tuvo que posponerse porque en el laboratorio del ICCC se realizó un Curso de Microcirugía.

13/Noviembre/2014. Acudí con la Dra. Mirapeix al Hospital de Bellvitge, donde

tomé dos colgajos submentonianos (2º y 3º muestras) tras la inyección intradérmica de Azul de Metileno al 1% (por falta de disponibilidad de Blue Patent V y porque se usa en el diagnóstico de ganglio centinela) en las zonas de drenaje de los ganglios linfáticos submentonianos (labio inferior - 3 puntos, mentón - 1 punto, mejilla - 3 puntos en cada lado, zona cervical anterior - 2 puntos en cada lado, línea media cervical anterior - 1 punto) (Figura 4).



FIGURA 4. Puntos de inyección de azul de metileno en la zona de drenaje linfático de los ganglios submentonianos.

Los colgajos se tomaron de un cadáver fresco (5 días post-mortem aprox.), varón de 57 años, con panículo adiposo de aprox. 0.5 cm de grosor.

13 y 17/Noviembre/2014. Transporté las muestras del Hospital de Bellvitge al laboratorio del ICCC, donde realicé el análisis microscópico de éstas.

A continuación detallo mis observaciones:

- La inyección de azul de metileno no funcionó debido a que dejó residuos de color negro. Además, el azul de metileno se inyectó en cantidad excesiva, en demasiados puntos y algunos, por error, en planos subcutáneos, por lo que otros tejidos también se tiñeron de azul (grasa, músculo, etc.) (Figura 5). El colgajo se transportó en suero fisiológico. El azul de metileno se diluyó en el suero fisiológico y por capilaridad se tiñeron los bulbos pilosos lo que dificultó aún más el estudio de las piezas.

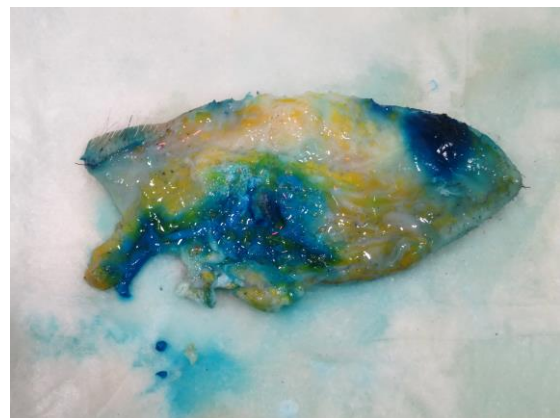


FIGURA 5. Se observa que no solo los tejidos linfáticos están teñidos con azul de metileno

Los ganglios linfáticos se distinguían claramente al estar pintados de azul, no así los vasos linfáticos que no se podían distinguir del resto de tejidos.

- Hallazgos:

En el tejido subcutáneo localicé 1 vaso linfático en el extremo medial del colgajo. El canal linfático estaba cortado y solo pude identificarlo en un trayecto de menos de 1 cm.

Pude identificar algunos linfáticos eferentes teñidos luego de inyectar azul de metileno con H_2O_2 en un ganglio. Alrededor de los ganglios observé algo similar a un “ovillo” de vasos y tejido adiposo, en los que observé arterias, venas y algunos vasos linfáticos. Para distinguirlos, tuve que disecarlos lo que causó la disrupción de algunos de los tejidos circundantes a pesar de que fui muy cuidadosa. La canalización con la aguja de 30G (0,3112 mm) fue posible solo en un canal linfático, porque era más grande que el resto de canales linfáticos periganglionares que pude localizar. El Dr. Suami canaliza los vasos de menor tamaño con tubos capilares de vidrio, que el funde para darle el diámetro necesario.

Encontré 2 canales linfáticos aferentes en el tejido graso periganglionar (Figura 6). Canulé el linfático A, de mayor tamaño con la aguja de 30G, pero luego de un trayecto corto llegaba al ganglio. El linfático B, tenía un diámetro de menos de 0.1 mm y no pude canularlo, además al disecarlo hacia el lado opuesto al ganglio el diámetro iba disminuyendo hasta perderse en el tejido adiposo.

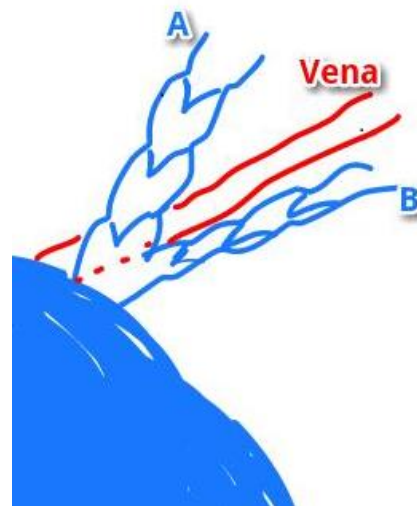


FIGURA 6. Linfáticos aferentes que desembocan en ganglio Linfático (25x)

La canalización fue difícil pues el tejido de los colgajos era móvil y no disponía de un microinyector (soporte para colocar la aguja y jeringa) (Figura 7).

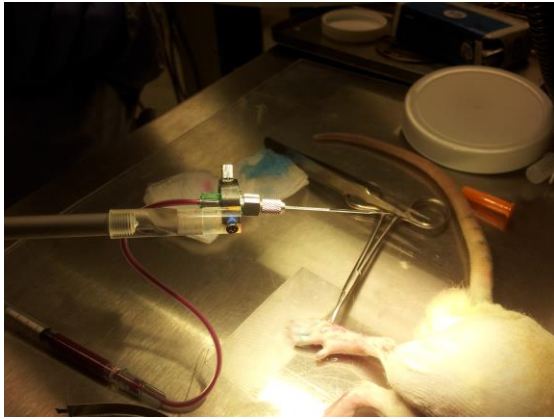


FIGURA 7. Microinyector con el que se rellenan los canales linfáticos (Foto tomada en el Laboratorio del Dr. Suami en el MD Anderson Cancer Center)

Las características morfológicas de la pared de la vena del ganglio son similares a las de la pared de los canales linfáticos. Intenté realizar la inyección venosa retrógrada de las venas del colgajo con tinta acrílica y Sulfato de Bario partiendo de la vena facial.

No fue posible rellenar todas las venas del colgajo porque el líquido inyectado se derramaba por los extremos de las venas seccionadas durante la disección del colgajo, tiñendo las estructuras circundantes, lo que posteriormente dificultó el estudio (Figura 8).



FIGURA 8. Varias estructuras vasculares teñidas (25x)

19/Noviembre/2014. Decidimos inyectar el Patent Blue V en menos puntos (0,1ml por punto) y tras la inyección realizar un masaje en la zona de inyección. Además, decidimos realizar el estudio de colgajos inguinales debido a que los canales linfáticos tienen un mayor tamaño en esta zona.

20/Noviembre/2014. Obtuvimos algunos de los materiales necesarios para la canalización de linfáticos en la Facultad de Medicina de la UAB (microtubos capilares de cristal y un microinyector que se utilizaba previamente para la inyección peritoneal de fetos de roedores).

21/Noviembre/2014. Establecimos que la inyección intradérmica de Patent Blue V debía realizarse tan pronto como se disponga de un cadáver. Esa tarde, se

inyectó Patent Blue V en un cadáver que había fallecido hace menos de 12 horas. La inyección se realizó en las zonas de drenaje de los ganglios linfáticos submentonianos (labio inferior - 1 punto, mejilla - 1 punto en cada lado, zona cervical anterior - 1 punto en cada lado). Luego de la inyección se realizó un masaje.

24/Noviembre/2014. Acudí al laboratorio de la UAB para disecar dos colgajos submentonianos (4^o y 5^o muestras) del cadáver al que previamente se le inyectó Patent Blue V. Se trataba de un varón de 98 años, la disección se realizó a los 3 días post-mortem, tenía un panículo adiposo de aprox. 1 cm de grosor.

25/Noviembre/2014. Analicé el colgajo derecho (4^o muestra). Tras la inyección intradérmica de Patent Blue V diluido en H₂O₂ en los bordes del colgajo. Siguiendo la técnica de identificación de linfáticos, y empezando por los bordes del colgajo en el tejido subcutáneo. No encontré ningún vaso linfático. Los tejidos se encontraban atroficos (grasa y ganglios linfáticos). Daba la impresión de

que el agua oxigenada no “reaccionaba/burbujeaba” con la misma intensidad que en la 2^o y 3^o muestras.

Después de analizar todo el colgajo incluyendo los tejidos periganglionares, durante aprox. 8 horas solo encontré un canal linfático saliendo del ganglio de aprox. 0,1mm de diámetro, seccionado.

Intenté realizar la canalización del linfático identificado con los microtubos de cristal y el microinyector disponible en la UAB (Figura 9), pero no fue posible lograr el ángulo necesario para la canulación (paralelo al eje del vaso), debido a que el microinyector fue diseñado para ser usado en ejes oblicuos.



FIGURA 9. Microinyector disponible en la UAB.

26 y 28/Noviembre/2014. Realicé el análisis del colgajo submentoniano izquierdo (5º muestra) en el laboratorio del ICCC, los hallazgos fueron similares a los de la 4º muestra y no logré encontrar ningún vaso linfático.

30/Noviembre/2014. Contacté con el Dr. Suami para comentarle mis hallazgos. El señaló que cree que el estudio de los colgajos submentonianos es un área complicada y que no tiene experiencia en esta. Además, citó uno de los artículos en los que se estudian los linfáticos de la cabeza y el cuello, en el que se demostraron solo 1 -2 vasos en la región submentoniana (3), lo que podría implicar que los canales son escasos en esa zona o de un tamaño "no canulable". Sugirió que utilice linfografía con verde de indocianina para identificar los vasos linfáticos, ya que al contar con cadáveres frescos esta podría ser útil.

01/Diciembre/2014. A la UAB, llegó un cadáver que no fue incluido en el estudio debido a que no cumplía con los criterios de inclusión en cuanto al peso.

10/Diciembre/2014. Asistí al International Lymphoedema Symposium, organizado por la Dra. Corinne Becker en el American Hospital, Paris, donde obtuve información relevante para redireccionar el estudio.

Discusión

A través de la técnica de inyección de linfáticos en cadáver descrita por el Dr. Suami se ha obtenido importante información sobre la anatomía del sistema linfático. Por lo que luego de realizar una amplia revisión bibliográfica, parecía ser la técnica más adecuada para realizar este estudio. Sin embargo, descubrimos que esta técnica es útil en cadáveres en los que la sección del sistema linfático estudiada, se encuentra integra. Por ejemplo, se ha estudiado miembro superior, inferior, región mamaria, cabeza y cuello, etc. y la identificación se inicia desde zonas distales (espacios interdigitales de manos y pies y complejo areola -pezón). Durante mi entrenamiento en Houston fui capaz de identificar e inyectar los vasos

linfáticos del miembro inferior de animales y humanos.

Por otro lado, en los colgajos disecados de cadáveres la identificación de los vasos linfáticos es más compleja, debido a que los vasos no se tiñen al no encontrarse en zonas distales. Además, al disecar los colgajos de su zona donante, los vasos se acortan y se pierden las referencias y soporte anatómico, como señala el Dr. Suami que ha realizado esta técnica durante aproximadamente 15 años y como he podido comprobar en este estudio piloto.

Existen estudios anatómicos del sistema linfático de la cabeza y el cuello, en el que se demostraron solo 1 -2 vasos en la región submentoniana (3), lo que podría implicar que los canales son escasos en esa zona o de un diámetro muy pequeño y eso dificulta su estudio. Un diámetro muy reducido dificultaría la canulación de los canales linfáticos de esa zona. Esta última es un paso fundamental para identificar todo el trayecto del vaso.

Asimismo, a pesar de realizar un trabajo cuidadoso, existe la posibilidad de romper

los canales linfáticos durante su inyección con radiocontraste y tintas acrílicas. Esto tiñe los tejidos circundantes y dificulta la identificación de estructuras vasculares venosas / arteriales / linfáticas. Esto último puede no ser importante en estudios que tienen como objetivo describir la anatomía de los vasos linfáticos, pero es una limitación muy importante para este estudio en el que además de identificar los canales linfáticos se busca estudiar su relación con las venas. Por otro lado, al disecar un colgajo se seccionan venas y linfáticos. A través de los extremos seccionados de esos vasos también se derraman las tinciones inyectadas.

Por otro lado, para obtener resultados fiables a partir de esta técnica deben encontrarse todos los vasos linfáticos existentes en la zona estudiada. Factores como el diámetro de los canales linfáticos o el grosor del tejido adiposo afectarían los resultados obtenidos con esta técnica. Esto hace que los resultados no sean reproducibles de una forma consistente y la reproducibilidad es uno de los principios esenciales del método científico-

co, al ser un punto de referencia a partir del cual se puede probar la fiabilidad de un estudio.

Uno de los pasos de la técnica de inyección de linfáticos en cadáver consiste en que una vez que se haya inyectado un linfático con el radiocontraste coloreado, para comprobar que su trayecto ha sido identificado del todo, este debe ser disecado en todo su recorrido. Durante esa disección se pueden destruir conexiones presentes entre los canales linfáticos y los tejidos circundantes. Lo que afectaría los resultados el estudio que he propuesto, porque investigar la presencia de conexiones entre vasos linfáticos y venas es uno de los principales objetivos de este estudio. Además, es difícil diferenciar morfológicamente algunas venas de los vasos linfáticos periganglionares porque las paredes venosas son muy finas y de apariencia similar a la de las paredes de los vasos linfáticos. En ese caso, serían necesarios análisis histológicos o genéticos para diferenciar ambos tipos de vasos.

Otro asunto de gran importancia que no se consideró previamente, es que de existir conexiones linfático-venosas en el colgajo, estas podrían ser de un tamaño tan pequeño que impida su identificación con los microscopios de los que disponemos. El Dr.

Jean Claude Guimberteau señaló que “es difícil distinguir a nivel microscópico entre vasos arteriales y venosos” durante su presentación titulada *Microanatomy of the lymphatic system confronted to in vivo intratissular endoscopy at high magnification* durante el International Lymphoedema Symposium, American Hospital, Paris, France el 10/12/2014. Él se refirió a esta dificultad in vivo, la dificultad es aún mayor en cadáveres. Para este estudio la diferenciación entre vasos linfáticos y venas es fundamental.

Por todo lo explicado previamente, no fue posible recoger la información necesaria para realizar este estudio. Existen además limitaciones secundarias: tiempo de espera para conseguir las muestras que cumplan los criterios de inclusión y exclusión, disponibilidad parcial del

laboratorio de ICCC, el hecho de que el Patent Blue V se destiñe fácilmente con la luz y es pH dependiente [4], la no disponibilidad de un microinyector. Se consideran limitaciones secundarias porque de ser solucionadas no influirán de forma positiva en el estudio por las limitaciones principales se han discutido previamente.

Conclusiones

- La técnica de inyección de linfáticos en cadáver no es el modelo adecuado para estudiar la existencia de ALV periféricas y la anatomía de los vasos linfáticos localizados en los CGLV submentoniano, supraclavicular e inguinal.
- Para estudiar la hipótesis de investigación, el modelo cadavérico deberá ser sustituido por un modelo funcional, como por ejemplo el estudio de las ALV en colgajos DIEP.

Bibliografía

1. Cheng MH, Huang JJ, Nguyen DH, Saint-Cyr M, Zenn MR, Tan BK, et al. A novel approach to the treatment of lower extremity lymphedema by transferring a vascularized submental lymph node flap to the ankle. *Gynecol Oncol.* 2012;126(1):93-8.
2. Suami H, Taylor GI, Pan WR. A new radiographic cadaver injection technique for investigating the lymphatic system. *Plastic and reconstructive surgery.* 2005; 115 (7):2007-13.
3. Pan WR, Le Roux CM, Briggs CA. Variations in the lymphatic drainage pattern of the head and neck: further anatomic studies and clinical implications. *Plastic and reconstructive surgery.* 2011;127(2):611-20.
4. Sabnis RW. Patent blue V. *Handbook of Acid-Base Indicators*, Boca Raton, CRC Press; 2007. p. 295-328.

Anexo II. Presentación de resultados preliminares en reuniones científicas internacionales



1. **Intratissue Lymphovenous Communications and Lymphedema Surgery**, *Invited Speaker, Plastic Surgery Department, Tokyo University Hospital, Tokyo, Japan, May 2016*



2. **Investigation of the Existence of Intra-Flap Peripheral Physiological Lymphovenous Communications and Their Significance in Vascularized Lymph Node Transfer – Preliminary results**, María Miranda, *Speaker, 25th World Congress of Lymphology, San Francisco, California, USA, September 2015*

Anexo III. Publicación en revista no indexada

Managing Editor:
SASKIA R.J. THIADENS, RN

Graphics:
ALPHAGRAPHICS
San Francisco, CA

Editorial Committee:
JANE ARMER, PhD, RN, FAAN
MARCIA BECK, APRN, BC, CLT-LANA
KATHLEEN FRANCIS, MD
MEI R. FU, PhD, RN, ACNS-BC, FAAN, Chair
BONNIE B. LASINSKI, MA, PT, CLT-LANA
BETTY SMOOT, PT, DPTSc
CATHERINE M. TUPPO, PT, CLT-LANA

NATIONAL LYMPHEDEMA NETWORK, INC.
225 Bush Street, Suite 357
San Francisco, CA 94104
Telephone 415-908-3661
Website www.lymphnet.org
E-mail nln@lymphnet.org

Mission Statement:

The mission of the National Lymphedema Network is to create awareness of lymphedema through education and to promote and support the availability of quality medical treatment for all individuals at risk for or affected by lymphedema.

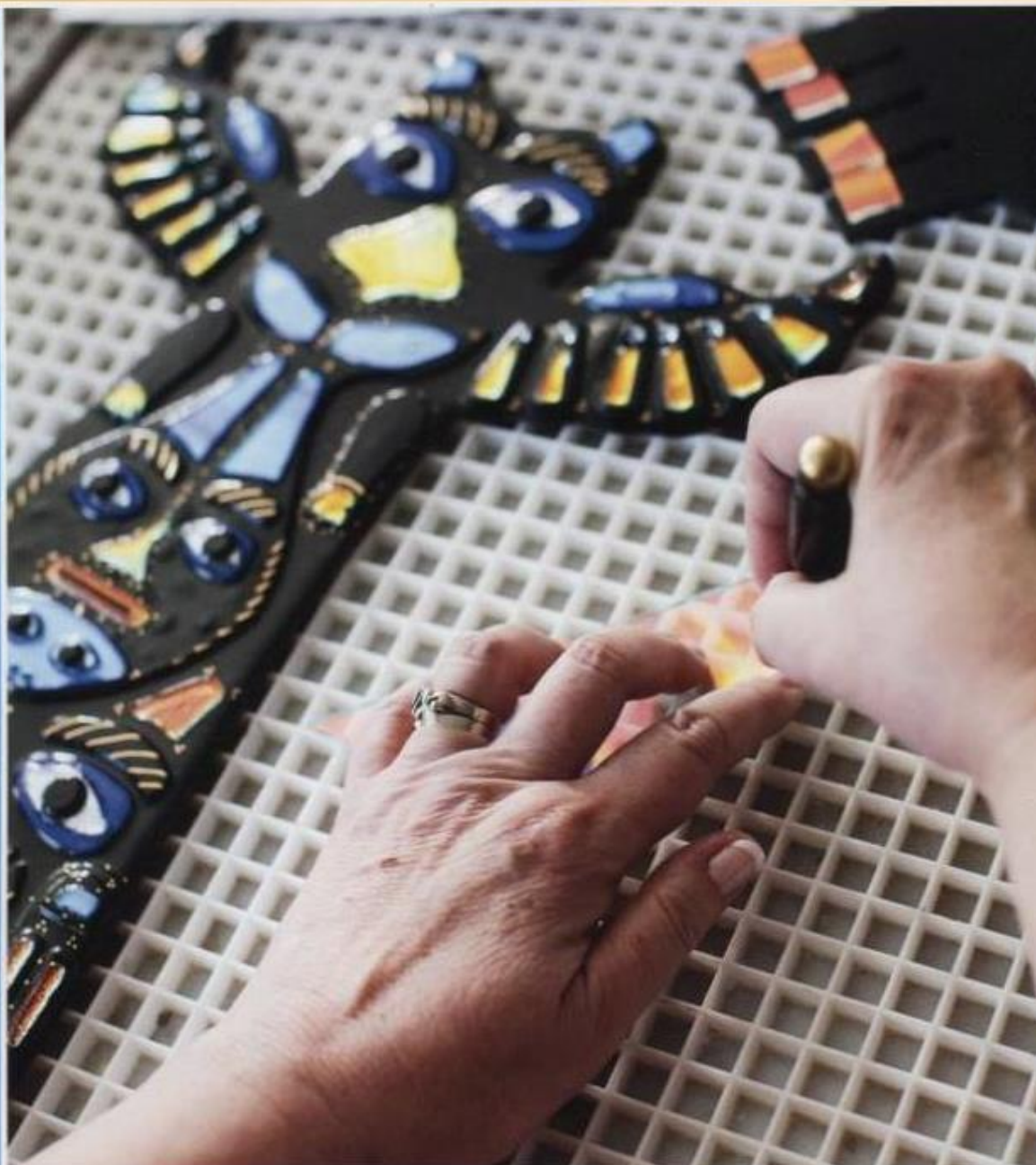
The NLN is dedicated to:

- * promoting research into the causes, prevention, and treatment of lymphedema;
- * securing adequate insurance coverage for medically necessary, safe, and effective treatment;
- * expanding the number and geographical distribution of lymphedema treatment facilities and certified therapists.

To achieve these goals, the NLN disseminates information about lymphedema to healthcare professionals so they can appropriately counsel their patients on its avoidance, and prescribe safe, effective treatment for those affected by this condition. The NLN also provides this information to the general public.



*Give Voice*TM



In This Issue

PRESIDENT'S MESSAGE	2	THERAPIST PERSPECTIVE	25
SURGERY FOR LYMPHEDEMA	3	NUTRITION	27
SURGICAL TECHNIQUES	7	ASK AN EXPERT	29
CASE STUDY 1	10	PATIENT PERSPECTIVE	30
CASE STUDY 2	12	NEWS & NOTES	32
RESEARCH PERSPECTIVE	14	SUPPORT GROUP SCHEDULE	34
RESOURCE GUIDE	17	MESSAGE FROM NLN BOARD CHAIR	35
		NLN EDUCATIONAL MATERIALS	36

Barcelona Lymphedema Algorithm for Surgical Treatment (BLAST)

By: Jaume Masia, MD, PhD, Maria Miranda, MD, Gemma Pons, MD

Department of Plastic Surgery, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Universitat Autònoma de Barcelona), Barcelona, Spain.

Breast cancer related lymphedema (BCRL) is a chronic condition that affects quality of life, a prevalence of 21% has been reported to occur on breast cancer patients^[1]. Currently, there are several conservative and surgical options of treatment for lymphedema, the latter include reconstructive and palliative (liposuction) procedures. The indications for each procedure are the cornerstone to achieve positive outcomes. We will review in this paper the indications included in the Barcelona Lymphedema Algorithm for Surgical Treatment (BLAST) that we have established for liposuction and for the reconstructive procedures (vascularized lymph node transfers (VLNT)^[2] and lymphatico-venular anastomosis (LVA)^[3] that we perform in our center.

A detailed medical history and clinical examination are essential to determine the lymphedema stage according to the International Society of Lymphedema (ISL) which is an indicator of the severity of the disease^[4]. Following an accurate clinical evaluation, the main information required to individualize the surgical treatment is to evaluate the remaining functionality and the morphology of the lymphatic system of each patient. For that purpose we perform a preoperative assessment using imaging techniques.

Indocyanine green (ICG) fluorescence lymphography is of paramount importance since it allows us to evaluate the function of the lymphatic system^[5]. Immediately after injection of the ICG dye we can observe the contrast ascending towards the axilla that is an indicator of a preserved contractility, and few minutes later we can determine the presence of dermal back flow. This information is of crucial importance

during the preoperative assessment because only a patient with functioning lymphatic channels can be considered a potential candidate for reconstructive lymphedema surgery. ICG lymphography is also used to evaluate the anatomical distribution of the lymph channels and the existence of superficial collateral pathways, that information is highly variable between patients and the presence of collateral lymphatic circulation would be a protective factor against lymphedema^[6]. ICG lymphography is performed in the outpatient clinic during the first consultation and depending on the results lymphoscintigraphy (LS), magnetic resonance lymphography (MRL) and computed tomography (CT) angiography might be required.

ICG lymphography permits a maximum depth of study of 1 cm from the surface and for that reason in advanced cases with important fat hypertrophy, diffuse dermal backflow or in obese patients in which we need to study the deeper tissues, MRL complements the information provided by ICG lymphography. MRL is performed using a gadolinium-based contrast. At predetermined points along a reference line marked from the acromion to the nail of the thumb, passing through the central point of the cubital fossa, hyperintense markers are placed on the skin surface to map the lymphatic channels. Mapping is facilitated by 3D MRL. The combination of ICG lymphography and MRL provide information to identify the lymphatic channels with adequate anatomical and functional characteristics for successful LVA. MRL also allows imaging of the deep lymphatic system.^[7]

Lymphoscintigraphy is used to support the indication of VLNT to the axilla when absence of axillary tracer

uptake is found. When remaining lymph node functionality is found in the axilla the cubital fossa or the wrist can be used as receptor areas for VLNT. CT scan is obtained when a VLNT is indicated and it is used to evaluate the lymph nodes at inguinal donor area. We select the most cranial and lateral inguinal nodes to diminish the risk of secondary donor site morbidity and because this area has rich vascularization from the superficial epigastric system or the superficial circumflex iliac system.

When the lymphatic channels are still functioning, we perform the Combined Surgical Treatment (CST), which includes LVA and VLNT or LVA only. When the patient requires breast reconstruction and a reconstructive surgical treatment for lymphedema we use a combined DIEP/SIEA flap with groin VLNT with double vascularization. We anastomose the inferior epigastric vessels to the internal mammary vessels according to our standard breast reconstruction protocol. To provide an adequate vascularization for the transferred lymph nodes in all the patients receiving a VLNT, we anastomose the superficial epigastric system or the superficial circumflex iliac system from the groin VLNT to axillary vessels other than the thoracodorsal vessels.

We have found that patients with medial predominant drainage without collateral dorsal vessels or with less than 6 lymphatic channels after mastectomy and axillary dissection are more likely to develop lymphedema. In these patients we propose the concept of Total Breast Anatomy Restoration (TBAR) as a preventive procedure. For TBAR, we perform immediate breast reconstruction accompanied by lymph-lymphatic anastomosis between the stumps of the upper limb lymphatic vessels

remaining after lymph node dissection and the afferent vessels from transplanted lymph nodes.

In later stages of lymphedema, when no remaining lymph channel function is observed, we opt for lympho-liposuction to reduce hypertrophic adipose and fibrous tissue using a technique similar to that previously described by Brorson.^[6]

Reverse lymphatic mapping

In order to reduce the risk of causing a lower limb lymphedema at the donor site, ICG-lymphography is used for the reverse mapping of the lymph node drainage of the donor lower limb when performing groin lymph node transfers isolated or in combination with breast reconstruction with an abdominal flap. It helps us to differentiate intraoperatively the lymph nodes that drain the donor lower limb from the superficial lymph nodes that we can harvest. Also, before raising the vascularized lymph node flap, before incising the skin, we inject patent blue V dye intradermally above and below the inguinal fold in the potential drainage area to visualize better the superficial lymphatic vessels during dissection.

Our Results

The management of lymphedema in our department can be divided in two periods of time depending on the indications for reconstructive lymphedema surgery we used. The outcomes clearly improved in the

second period of time as described below.

From June 2007 to December 2011, the indication for lymphedema surgery was clinical and all the 106 patients with stage I and II BCRL according to the ISL criteria that we treated in our department received a reconstructive surgical treatment. Fifty nine patients were treated with LVA, 7 patients with VLNT, and 40 patients with both. Preoperative versus postoperative excess circumference was reduced between 12% and 86.7% (average 39.72%) while the arm circumference decreased between 0.9 and 6.1 cm (average 2.75 cm). Ninety-eight patients had a perceived improvement, while 8 patients did not report any significant changes^[6]. If we assess these results carefully looking for an objective improvement, we realize that an excess circumference reduction of less than 20% or the perceived improvement that the patients report of their quality of life (less heaviness, pain relief) are not always a consequence of the surgery. It could be due to an increased awareness of the patients of the disease and the general care that postoperative period under the control of the surgeon requires, because similar outcomes have been reported when only conservative treatments are provided. From our first group, in only 46 patients we could find a perimeter reduction over 20%, which might be attributed to the surgery.

From June 2012 until June 2014, we started to use reconstructive

surgical procedures only in patients who had a remaining functionality of the lymphatic system determined by ICG lymphography. From the 94 patients who received a surgical treatment for lymphedema in that period of time only 44.7 % of the patients received reconstructive techniques, 22 patients underwent LVA, 16 patients TBAR and 4 patients a CST. Finally 52 patients underwent lymph-liposuction. The rate of preoperative versus postoperative excess circumference decreased between 42 and 89.6% (average 64.2%), while the circumference of the arm diminished from 2.9 – 6.1 cm (average 3.85 cm). All patients reported a perceived objective improvement.

Summary

The BLAST has been proposed based on the results we have obtained after years of experience treating patients with lymphedema and its main purpose is to individualize the treatment of the patients with lymphedema. Detailed clinical and imaging preoperative assessment should be performed to determine the most suitable surgery depending on the functionality of the lymphatic system. Only the patients with a residual lymphatic functionality would benefit from reconstructive options while for patients with advanced lymphedema and failure of the lymphatic system a reductive technique is more appropriate.

jmasia@santpau.es

References available in online version

Anexo IV. Impacto en las redes sociales

Intratissue lymphovenous communications in the mechanism of action of vascularized lymph node transfer

Overview of attention for article published in Journal of Surgical Oncology, November 2016



SUMMARY

Twitter

Title Intratissue lymphovenous communications in the mechanism of action of vascularized lymph node transfer
Published in Journal of Surgical Oncology, November 2016
DOI 10.1002/jso.24413
Pubmed ID 27885675
Authors Miranda Garcés, María, Pons, Gemma, Mirapeix, Rosa, Masia, Jaume
Abstract Vascularized lymph node transfer (VLNT) as a surgical treatment for cancer-related lymphedema has... [show]

[View on publisher site](#)

[Alert me about new mentions](#)

TWITTER DEMOGRAPHICS

MENDELEY READERS

ATTENTION SCORE IN CONTEXT

About this Attention Score

- In the top 5% of all research outputs scored by Altmetric
- One of the highest-scoring outputs from this source (#6 of 993)
- High Attention Score compared to outputs of the same age (91st percentile)
- High Attention Score compared to outputs of the same age and source (95th percentile)

Mentioned by

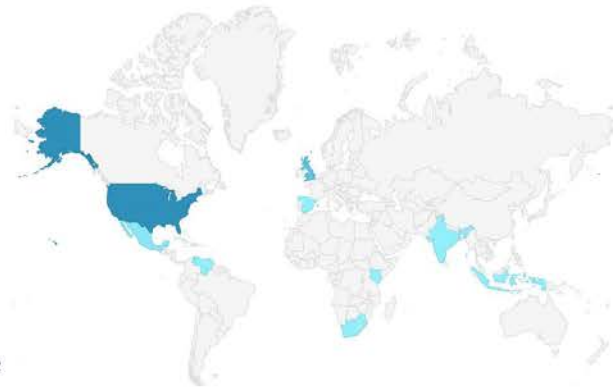
37 tweeters

Readers on

11 Mendeley

What is this page?

The data shown below were collected from the profiles of 37 tweeters who shared this research output. [Click here to find out more about how the information was compiled.](#)



Geographical breakdown

Country	Count	As %
United States	12	32%
United Kingdom	6	16%
Mexico	2	5%
Kenya	1	3%
Indonesia	1	3%
India	1	3%
South Africa	1	3%
Venezuela, Bolivarian Republic of	1	3%
Spain	1	3%
Other	0	0%
Unknown	11	30%

Demographic breakdown

Type	Count	As %
Members of the public	27	73%
Practitioners (doctors, other healthcare professionals)	9	24%
Science communicators (journalists, bloggers, editors)	1	3%

Intratissue lymphovenous communications in the mechanism of action of vascularized lymph node transfer

Overview of attention for article published in Journal of Surgical Oncology, November 2016



SUMMARY

Twitter

Title	Intratissue lymphovenous communications in the mechanism of action of vascularized lymph node transfer
Published in	Journal of Surgical Oncology, November 2016
DOI	10.1002/jso.24413 ↗
Pubmed ID	27885675 ↗
Authors	Miranda Garcés, María, Pons, Gemma, Mirapeix, Rosa, Masià, Jaume
Abstract	Vascularized lymph node transfer (VLNT) as a surgical treatment for cancer-related lymphedema has... [show]

[View on publisher site](#)

[Alert me about new mentions](#)

TWITTER DEMOGRAPHICS

MENDELEY READERS

ATTENTION SCORE IN CONTEXT

About this Attention Score

- In the top 5% of all research outputs scored by Altmetric
- One of the highest-scoring outputs from this source (#6 of 993)
- High Attention Score compared to outputs of the same age (91st percentile)
- High Attention Score compared to outputs of the same age and source (95th percentile)

This research output has an **Altmetric Attention Score** of 24. This is our high-level measure of the quality and quantity of online attention that it has received. This Attention Score, as well as the ranking and number of research outputs shown below, was calculated when the research output was last mentioned on **04 April 2017**.

<p>ALL RESEARCH OUTPUTS</p> <p>#320,436</p> <p>of 7,651,252 outputs</p>	<p>OUTPUTS FROM JOURNAL OF SURGICAL ONCOLOGY</p> <p>#6</p> <p>of 993 outputs</p>	<p>OUTPUTS OF SIMILAR AGE</p> <p>#18,189</p> <p>of 215,681 outputs</p>	<p>OUTPUTS OF SIMILAR AGE FROM JOURNAL OF SURGICAL ONCOLOGY</p> <p>#1</p> <p>of 21 outputs</p>
---	--	--	--

Altmetric has tracked 7,651,252 research outputs across all sources so far. Compared to these this one has done particularly well and is in the 95th percentile: it's **in the top 5% of all research outputs ever tracked** by Altmetric.

Intratisssue lymphovenous communications in the mechanism of action of vascularized lymph node transfer

Overview of attention for article published in Journal of Surgical Oncology, November 2016



SUMMARY Twitter

So far, Altmetric has seen 49 tweets from 37 users, with an upper bound of 286,345 followers.

About this Attention Score

- In the top 5% of all research outputs scored by Altmetric
- One of the highest-scoring outputs from this source (#6 of 993)
- High Attention Score compared to outputs of the same age (91st percentile)
- High Attention Score compared to outputs of the same age and source (95th percentile)

Mentioned by **37** tweeters

Readers on **11** Mendeley

(((ObsessedAbroad)))
@Obsessedabroad

RT @DrMariaMiranda: Myinput on #WorldLymphedemaDay #LymphAware #lymphoedema #lymphedema #VLNT #ILookLikeASurgeon #plasticsurgery #womeninsu...

04 Apr 2017

pmfa news PMFA News
@PMFANews

RT @DrMariaMiranda: I would like to share the results of my #lymphoedema #lymphedema research #plasticsurgery #womeninsurgery #ILookLikeASu...

15 Mar 2017

Anne Dancey
@DrAnneDancey

RT @DrMariaMiranda: I would like to share the results of my #lymphoedema #lymphedema research #plasticsurgery #womeninsurgery #ILookLikeASu...

15 Mar 2017

Dra. Natalia Jiménez
@dra_njimenez

RT @DrMariaMiranda: I would like to share the results of my #lymphoedema #lymphedema research #plasticsurgery #womeninsurgery #ILookLikeASu...

14 Mar 2017

Maria Miranda
@DrMariaMiranda

I would like to share the results of my #lymphoedema #lymphedema research #plasticsurgery #womeninsurgery #ILookLikeASurgeon #VLNT <https://t.co/BCZW64L8om>

14 Mar 2017

LymphSurgery
@LymphSurgery

RT @DrMariaMiranda: "This work will change #lymphedema surgery" Prof. Isao Koshima pioneer of perforator surgery and supermicrosurgery htt...

13 Mar 2017

Michael Safari
@michaellsafari

@PeterMunya @KenyaGovernors Try this Doctor as an expatriate and see if your salary will not be dwarfed. Doctor comrade will teach you well <https://t.co/RWkhwKhIoT>

09 Mar 2017

Olivier Branford
@OlivierBranford

RT @DrMariaMiranda: "This work will change #lymphedema surgery" Prof. Isao Koshima pioneer of perforator surgery and supermicrosurgery htt...

09 Mar 2017

A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery

Overview of attention for article published in Journal of Surgical Oncology, January 2016



About this Attention Score

- In the top 25% of all research outputs scored by Altmetric
- Good Attention Score compared to outputs of the same age (73rd percentile)
- High Attention Score compared to outputs of the same age and source (91st percentile)

LESS...

Mentioned by
6 tweeters

Readers on
4 Mendeley

What is this page?

SUMMARY

Twitter

Title A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery

Published in Journal of Surgical Oncology, January 2016

DOI 10.1002/jso.24158

Pubmed ID 26780968

Authors Miranda Garcés, Maria, Mirapeix, Rosa, Pons, Gemma, Sadri, Amir, Masià, Jaume

Abstract Cancer-related lymphedema is a progressive, chronic condition that impairs quality of life. Its... [show]

View on publisher site

Alert me about new mentions

TWITTER DEMOGRAPHICS

MENDELEY READERS

ATTENTION SCORE IN CONTEXT

The data shown below were collected from the profiles of 6 tweeters who shared this research output. [Click here to find out more about how the information was compiled.](#)



Geographical breakdown

Country	Count	As %
Chile	1	17%
Sweden	1	17%
United Kingdom	1	17%
Unknown	3	50%

Demographic breakdown

Type	Count	As %
Practitioners (doctors, other healthcare professionals)	3	50%
Members of the public	2	33%
Science communicators (journalists, bloggers, editors)	1	17%

A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery

Overview of attention for article published in Journal of Surgical Oncology, January 2016



SUMMARY

Twitter

Title	A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery
Published in	Journal of Surgical Oncology, January 2016
DOI	10.1002/jso.24158
Pubmed ID	26780968
Authors	Miranda Garcés, María, Mirapeix, Rosa, Pons, Gemma, Sadri, Amir, Masià, Jaume
Abstract	Cancer-related lymphedema is a progressive, chronic condition that impairs quality of life. Its... [show]

View on publisher site

Alert me about new mentions

TWITTER DEMOGRAPHICS

MENDELEY READERS

ATTENTION SCORE IN CONTEXT

About this Attention Score

In the top 25% of all research outputs scored by Altmetric

MORE...

Mentioned by

6 tweeters

Readers on

4 Mendeley

What is this page?

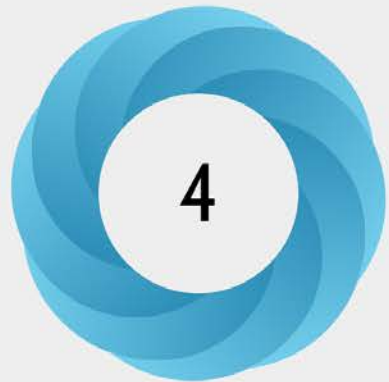
This research output has an **Altmetric Attention Score of 4**. This is our high-level measure of the quality and quantity of online attention that it has received. This Attention Score, as well as the ranking and number of research outputs shown below, was calculated when the research output was last mentioned on **29 March 2017**.

<p>ALL RESEARCH OUTPUTS</p> <p>#1,674,947</p> <p>of 7,621,460 outputs</p>	<p>OUTPUTS FROM JOURNAL OF SURGICAL ONCOLOGY</p> <p>#73</p> <p>of 993 outputs</p>	<p>OUTPUTS OF SIMILAR AGE</p> <p>#85,132</p> <p>of 322,820 outputs</p>	<p>OUTPUTS OF SIMILAR AGE FROM JOURNAL OF SURGICAL ONCOLOGY</p> <p>#7</p> <p>of 82 outputs</p>
---	---	--	--

Altmetric has tracked 7,621,460 research outputs across all sources so far. Compared to these this one has done well and is in the 77th percentile: it's **in the top 25% of all research outputs ever tracked** by Altmetric.

A comprehensive review of the natural lymphaticovenous communications and their role in lymphedema surgery

Overview of attention for article published in Journal of Surgical Oncology, January 2016



About this Attention Score

In the top 25% of all research outputs scored by Altmetric

Good Attention Score compared to outputs of the same age (73rd percentile)

SUMMARY

Twitter

So far, Altmetric has seen 10 tweets from 6 users, with an upper bound of 16,928 followers.



Carla Espinosa Parra

@carlitaespinosa

RT @DrMariaMiranda: @DocFico Los sistemas linfático y venoso no sólo se unen en la desembocadura del conducto torácico Aquí una revisión qu...

29 Mar 2017



Doc Fico

@DocFico

RT @DrMariaMiranda: @DocFico Los sistemas linfático y venoso no sólo se unen en la desembocadura del conducto torácico Aquí una revisión qu...

28 Mar 2017



Doc Fico

@DocFico

12,236

FOLLOWERS



Lymph Therapy Malmö

@MLDse

RT @DrMariaMiranda: Lymphatics originate from veins Later they separate Connections remain throughout the body #lymphedema #lymphoedema htt...

28 Mar 2017

Reply Retweet Favourite

RT @DrMariaMiranda: Lymphatics originate from veins Later they separate Connections remain throughout the body #lymphedema #lymphoedema htt...

28 Mar 2017



Universitat Autònoma
de Barcelona