



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Evaluación de nuevos trazadores y dispositivos para la detección híbrida del ganglio centinela en el cáncer ginecológico

Nuria Sánchez Izquierdo

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Programa de Doctorado en Medicina e Investigación Traslacional

Departamento de Fonaments Clínic

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud

Universidad de Barcelona

EVALUACIÓN DE NUEVOS TRAZADORES Y DISPOSITIVOS PARA LA DETECCIÓN HÍBRIDA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL CÁNCER GINECOLÓGICO

Memoria de Tesis Doctoral presentada por

NURIA SÁNCHEZ IZQUIERDO

para optar al grado de Doctor en Medicina por la Universitat de Barcelona

Barcelona 2022

DIRECTORES:

Pilar Paredes Barranco

Sergi Vidal-Sicart

TUTORA:

Francesca Pons Pons



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Profesora María Pilar Paredes Barranco

Médico adjunto. Consultor
Servicio de Medicina Nuclear
Centro de Diagnóstico por la Imagen
Hospital Clínic de Barcelona
Profesora asociada de Radiología y Medicina Física de la Universitat de Barcelona

Doctor Sergi Vidal-Sicart

Médico adjunto. Consultor Senior
Servicio de Medicina Nuclear
Centro de Diagnóstico por la Imagen
Hospital Clínic de Barcelona

Profesora Francesca Pons Pons

Directora de docencia
Médico. Consultor Senior
Servicio de Medicina Nuclear
Centro de Diagnóstico por la Imagen
Hospital Clínic de Barcelona
Catedrática de Radiología y Medicina Física de la Universitat de Barcelona

CERTIFICAN:

Que **Nuria Sánchez Izquierdo**, Licenciada en Medicina y Especialista en Medicina Nuclear, ha realizado bajo nuestra supervisión, la presente Tesis Doctoral titulada **“EVALUACIÓN DE NUEVOS TRAZADORES Y DISPOSITIVOS PARA LA DETECCIÓN HÍBRIDA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL CÁNCER GINECOLÓGICO”**.

Esta tesis ha sido estructurada siguiendo la normativa de presentación como compendio de publicaciones para obtener el título de **Doctor en Medicina** y reúne las condiciones para la lectura y defensa pública de la misma.

María del Pilar Paredes Barranco
Directora de Tesis

Sergi Vidal-Sicart
Director de Tesis

FRANCISCA
EUGENIA PONS
PONS - DNI
41732865D

Firmado digitalmente
por FRANCISCA
EUGENIA PONS PONS
- DNI 41732865D
Fecha: 2022.07.05
08:39:26 +02'00'

Francesca Pons Pons
Tutora de Tesis

Barcelona, 05 de Julio de 2022

AGRADECIMIENTOS

Sin ninguna duda, la realización de este trabajo nunca hubiera sido posible sin el apoyo de muchísima gente, a los que me gustaría expresarles mi más sincero agradecimiento.

En primer lugar, agradecer a la **Dra. Pilar Paredes y al Dr. Sergi Vidal-Sicart**, directores de esta Tesis, por su tiempo, su esfuerzo, dedicación, motivación y su constante apoyo para la elaboración de este proyecto. Sin vuestra ayuda este trabajo no habría sido posible. Gracias Pilar, por iniciarme en este increíble mundo de la investigación, por animarme a comenzar esta tesis juntas, por toda tu generosidad y por enseñarme todo lo que sé ahora, poco a poco has sembrado en mí las bases y la curiosidad investigadora y sin perder nunca el lado más humano, esto es lo que nunca se olvida. Gracias Sergi, mi “maestro centinelo” por compartir conmigo todos tus conocimientos durante todos estos años y permitirme trabajar juntos. Eres un profesional admirable. Gracias por tu entrega y paciencia inagotable y por confiar siempre en mí y en mi trabajo.

A la **Prof. Francesca Pons**, por ser nuestra guía en los momentos de desorientación, gracias por tu apoyo y disponibilidad constante porque, a pesar de la distancia, permites que te podamos sentir siempre cerca.

Al **Dr. David Fuster**, mi tutor de residencia, mi jefe, mi “psicólogo nuclear”... Gracias por todas tus enseñanzas dentro y fuera de la Medicina Nuclear. Gracias por creer en mi potencial desde el primer día, por la confianza depositada en mí para formar parte de tu equipo, por tu constante estímulo para investigar y por ayudarme a recorrer este largo camino. Todas las palabras son pocas para expresarte tanto agradecimiento.

A todos mis compañeros del Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Clínic de Barcelona (administrativos, auxiliares, técnicos, enfermeros y médicos), con quienes comparto la mayor parte de mis días y a quienes considero mi segunda familia. Especialmente a la **Dra. África Muxí, el Dr. Xavier Setoain, Dr. Andrés Perissinotti y a la Dra. Aida Niñerola**, por compartir conmigo vuestra sabiduría durante toda mi residencia y por vuestra ayuda constante a lo largo de estos años, sois mi inspiración. A mis compañeras la **Dra. Maria Mayoral, la Dra. Amparo Cobo, a mi “enfermero centinelo” Jordi y a mis “resis”** pequeños, porque siempre me han alentado a seguir adelante y sus palabras de ánimo siempre han estado presentes en los momentos más difíciles.

Esta tesis tampoco existiría sin el incondicional apoyo de **mi familia**, principalmente mis padres y mi hermano, porque nunca han dejado de creer en mí y me han apoyado siempre en todas mis decisiones, levantándome cuando me caía y celebrando conmigo cada pequeño avance.

Y sobre todo, gracias a ti **Miguel**, porque has sufrido y bailado conmigo cada página de este trabajo y has estado a mi lado en todas y cada una de las largas horas dedicadas a esta tesis. Sin tu enorme paciencia, tu comprensión, tus risas y apoyo infinito, no podría haber logrado esta meta. A ti especialmente, gracias.

“Haz lo necesario para lograr tu más ardiente deseo y acabarás lográndolo”

(Ludwig van Beethoven)

ÍNDICE

PRESENTACIÓN	10
INTRODUCCIÓN	12
1. Tumores ginecológicos: Cáncer de cérvix y endometrio	13
1.1 Conceptos generales: epidemiología, clasificación y tratamiento	13
1.1.1 Cáncer de cérvix	13
1.1.2 Cáncer de endometrio	15
1.2 Drenaje linfático de los tumores ginecológicos	17
1.2.1 Anatomía y fisiología del sistema linfático	17
1.2.2 El drenaje linfático del útero	19
2. Cirugía radioguiada	20
2.1. El ganglio centinela	20
2.1.1 Concepto de ganglio centinela. Recuerdo histórico	20
2.1.2 Justificación de la técnica de detección del ganglio centinela en cáncer ginecológico	23
2.2. Técnicas de detección del ganglio centinela	25
2.2.1 Trazadores: colorantes vitales, fluorescentes, radiotrazadores y trazador híbrido	25
2.2.2 Vías de administración de los trazadores	29
2.2.3 Linfogammagrafía	31
2.2.4 Experiencia del equipo quirúrgico	33
2.2.5 Dispositivos detectores del ganglio centinela	34
2.2.5.1 Sondas gammadectoras	34
2.2.5.2 Detectores de fluorescencia	35
3. Aplicación de la cirugía radioguiada en el cáncer ginecológico	37
3.1 Indicaciones actuales y perspectivas futuras	37
3.1.1 Cáncer de cérvix	37
3.1.2 Cáncer de endometrio	38
3.1.3 Trazador híbrido	39
HIPÓTESIS DE TRABAJO	41
OBJETIVOS	43
MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS	45
DISCUSIÓN	53

CONCLUSIONES	61
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

PRESENTACIÓN

La presente tesis ha sido estructurada, siguiendo la normativa de Tesis Doctoral, como compendio de publicaciones para obtener el título de **Doctor en Medicina**, siendo aprobada por la “Comissió de Doctorat de la Facultat de Medicina”. Los proyectos de investigación incluidos en esta tesis pertenecen a una misma línea de investigación, lo que permitió la publicación de tres artículos en revistas internacionales.

Artículo 1

Paredes P, Vidal-Sicart S, Campos F, Tapias A, **Sánchez-Izquierdo N**, Martínez S, et al. Role of ICG-99mTc-nanocolloid for sentinel lymph node detection in cervical cancer: a pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017;44:1853-61.

Factor de impacto de la revista (2017): 7,704 - Cuartil 1

Artículo 2

Vidal-Sicart S, Seva A, Campos F, **Sánchez-Izquierdo N**, Alonso I, Pahisa J, et al. Clinical use of an opto-nuclear probe for hybrid sentinel node biopsy guidance: first results. *Int J Comput Assist Radiol Surg*. 2019;14:409-16.

Factor de impacto de la revista (2018): 2,155 - Cuartil 2

Artículo 3

Sánchez-Izquierdo N, Vidal-Sicart S, Campos F, Torné A, Angeles MA, Migliorelli F, et al. Detection of the sentinel lymph node with hybrid tracer (ICG [99m Tc] Tc [albumin nanocolloid) in intermediate [] and high [] risk endometrial cancer : a feasibility study. *EJNMMI Res*. 2021;11:123.

Factor de impacto de la revista (2020): 3,138 - Cuartil 2

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. TUMORES GINECOLÓGICOS: CÁNCER DE CÉRVIX Y DE ENDOMETRIO

1.1 Conceptos generales: epidemiología, clasificación y tratamiento

1.1.1 Cáncer de cérvix

El cáncer de cérvix es la cuarta neoplasia ginecológica más común a nivel mundial. Se han diagnosticado aproximadamente 604.127 casos nuevos en el último año y se produjeron 341.831 muertes en todo el mundo debido a esta neoplasia maligna, aunque la incidencia y la mortalidad varían ampliamente según la ubicación geográfica. En los países desarrollados, la incidencia y la mortalidad por cáncer cervical han disminuido a más de la mitad en los últimos 30 años gracias a la introducción de los programas de detección precoz¹.

La mayoría de los casos de cáncer de cuello uterino están compuestos por carcinoma de células escamosas, aunque el adenocarcinoma puede alcanzar el 25% de los casos.

El virus del papiloma humano (VPH) es un virus de ADN de transmisión sexual, responsable de casi todos los cánceres cervicales. Se han identificado más de 200 subtipos de VPH y solo hay 18 subtipos oncogénicos. Entre estos subtipos oncogénicos, los serotipos 16 y 18 son responsables de casi el 70-90% de los casos. Las vacunas contra el VPH, han demostrado una clara reducción en el desarrollo de lesiones preinvasivas. Sin embargo, la tasa de implementación es variable en todo el mundo e incluso dentro del mismo país, por lo que la detección precoz del VPH, con o sin Papanicolaou, todavía es necesaria.

Otros factores de riesgo a los que se asocia son el tabaquismo, la inmunosupresión, los antecedentes de infecciones de transmisión sexual, múltiples parejas sexuales o una pareja sexual de alto riesgo, un inicio temprano de las relaciones sexuales, la multiparidad y el uso prolongado de anticonceptivos orales, aunque se desconoce si por sí solos son causa directa de cáncer de cérvix.

La diseminación de esta neoplasia es por contigüidad hacia los órganos pelvianos, por vía linfática y, aunque raramente y de aparición muy tardía, por vía sanguínea hacia el pulmón, el hígado, el hueso y, ocasionalmente, el cerebro.

El factor pronóstico más importante es la infiltración ganglionar locorregional, que incluye los ganglios pelvianos y los paraaórticos.

Por ello, el tratamiento quirúrgico inicial del cáncer de cérvix en estadios precoces IA1 con invasión linfovascular o IA2 es la histerectomía radical o traquelectomía radical (para pacientes que desean preservar su fertilidad) y disección de los ganglios linfáticos pelvianos, considerando la biopsia selectiva del ganglio centinela. La disección de los ganglios paraaórticos está indicada para pacientes con enfermedad ganglionar pelviana conocida o sospechada.

Para los pacientes con enfermedad en estadio IB1, IB2 o IIA1, el enfoque quirúrgico es la elección, realizando histerectomía radical y disección bilateral de los ganglios linfáticos pelvianos, considerando la biopsia selectiva del ganglio centinela. La linfadenectomía paraaórtica está indicada para pacientes con tumores grandes y enfermedad ganglionar pelviana conocida o sospechada².

Si se tiene en cuenta que más del 90% de los ganglios linfáticos extirpados no presentan afectación metastásica³, el número de pacientes que no se benefician de la linfadenectomía resulta muy elevado. En estos casos, la biopsia selectiva del ganglio centinela es una alternativa

a la linfadenectomía pelviana, que puede reducir la morbilidad asociada a esta técnica e identificar ganglios centinela en ubicaciones inesperadas. Se han informado casos de falsos negativos en menos del 1% en series retrospectivas. Sin embargo, se desconoce el pronóstico a largo plazo de las pacientes con ganglio centinela negativo y el papel de la detección del ganglio centinela en mujeres con cáncer de cuello uterino en estadio precoz. Este aspecto se está investigando en el ensayo SENTICOL III, un estudio aleatorizado de fase 3 que compara la biopsia selectiva del ganglio centinela con linfadenectomía completa. Los criterios de valoración del estudio son, la supervivencia libre de enfermedad y la calidad de vida relacionada con la salud⁴.

Tras la cirugía inicial, el cáncer de cérvix se estadifica bajo el criterio de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) 2018. No obstante, la inclusión de pacientes en nuestro trabajo fue anterior a su publicación, por ello, en nuestros estudios se utilizó la clasificación FIGO 2009 vigente anteriormente, que se muestra a continuación (Tabla 1).

Tabla 1. Estadificación del cáncer de cérvix según la FIGO 2009

TNM	FIGO	DEFINICIÓN
T - Tumor primario		
TX		No se puede evaluar el tumor primario
T0		Sin evidencia de tumor primario
Tis		Carcinoma in situ (preinvasivo)
T1	I	Carcinoma confinado al cuello uterino
T1a	IA	Carcinoma invasivo diagnosticado solo por microscopía. Invasión del estroma con una profundidad máxima de 5,0 mm medida desde la base del epitelio y extensión horizontal de 7,0 mm o menos. La afectación del espacio vascular, venoso o linfático, no afecta la clasificación
T1a1	IA1	Invasión estromal medida no mayor de 3,0 mm de profundidad y extensión lateral no mayor de 7,0 mm
T1a2	IA2	Invasión estromal medida mayor de 3,0 mm y no mayor de 5,0 mm de profundidad y extensión lateral no mayor de 7,0 mm
T1b	IB	Lesión clínicamente visible confinada al cuello uterino o lesión microscópica mayor que T1a/IA2
T1b1	IB1	Lesión clínicamente visible no mayor de 4,0 cm en su mayor dimensión
T1b2	IB2	Lesión clínicamente visible mayor de 4,0 cm en su mayor dimensión
T2	II	El carcinoma de cuello uterino invade más allá del útero, pero no la pared pelviana o el tercio inferior de la vagina
T2a	IIA	Tumor sin invasión parametrial
T2a1	IIA1	Lesión clínicamente visible no mayor de 4,0 cm en su mayor dimensión
T2a2	IIA2	Lesión clínicamente visible mayor de 4,0 cm en su mayor dimensión
T2b	IIB	Tumor con invasión parametrial
T3	III	El tumor se extiende a la pared pelviana, o afecta al tercio inferior de la vagina, o causa hidronefrosis o insuficiencia renal
T3a	IIIA	El tumor afecta al tercio inferior de la vagina
T3b	IIIB	El tumor se extiende a la pared pelviana o causa hidronefrosis o insuficiencia renal
T4	IVA	El tumor invade la mucosa de la vejiga o del recto, o se extiende más allá de la verdadera pelvis
N - Ganglios linfáticos regionales		
NX		La infiltración de los ganglios linfáticos no puede ser valorada
N0		No hay metástasis linfáticas regionales

N1		<i>Metástasis de ganglios linfáticos regionales</i>
M - Metástasis a distancia		
M0		<i>No hay metástasis a distancia</i>
M1		<i>Metástasis a distancia</i>

1.1.2 Cáncer de endometrio

El cáncer de endometrio es el cáncer ginecológico más frecuente en el mundo desarrollado. En el último año, se han diagnosticado aproximadamente 417.367 casos nuevos y se produjeron 97.370 muertes en todo el mundo debido a esta neoplasia maligna¹.

El carcinoma de endometrio se origina en el revestimiento del útero y se puede dividir en dos tipos: endometriode, que afecta aproximadamente al 80% de los pacientes, y no endometriode, afectando aproximadamente al 20% de los pacientes.

Existen múltiples factores de riesgo asociados a los tumores endometrioides, como la edad, el exceso de estrógenos asociado con la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión arterial, el síndrome metabólico, la infertilidad, el síndrome de ovario poliquístico, la nuliparidad, la menarquia temprana, la menopausia tardía, el tratamiento con tamoxifeno para el cáncer de mama (especialmente en mujeres postmenopáusicas), un aporte exógeno de estrógenos sin oposición progestágena, tumores productores de estrógenos y el riesgo genético como el síndrome de Lynch, entre otros⁵.

Los tumores no endometrioides, por el contrario, tienen una patogenia independiente de hormonas y no se conocen lesiones precursoras. Ellos surgen típicamente en pacientes posmenopáusicas mayores. Los carcinomas no endometrioides incluyen el carcinoma seroso de endometrio, carcinoma de células claras y carcinosarcoma, entre otros.

La cirugía es el tratamiento inicial del cáncer de endometrio y la estadificación está basada en la evaluación patológica después de la cirugía. Para la mayoría de las mujeres con cáncer de endometrio, el abordaje quirúrgico actual mediante laparoscopia o cirugía robótica, incluye una histerectomía total con resección completa del cuello uterino y una anexectomía bilateral. Además, en función del riesgo de afectación ganglionar prequirúrgico, la cirugía debe incluir la estadificación ganglionar, con el objetivo de conocer el estado de los ganglios linfáticos, ya que es la principal vía de diseminación del cáncer de endometrio, a través de las dos vías linfáticas conocidas que presenta el cuerpo uterino.

La incidencia global de afectación ganglionar en los estadios clínicos iniciales -estadios I y II- está alrededor del 9% para los ganglios pelvianos y del 6% para los aórticos. Esta incidencia varía en función de diferentes factores como el tipo y grado histológico, el tamaño tumoral, la infiltración miometrial y la invasión vasculolinfática, entre otros. Por ejemplo, en tumores bien diferenciados en estadio inicial, el riesgo de afectación ganglionar es alrededor del 3% y si el tumor está confinado al endometrio esta prevalencia disminuye hasta el 1%. Sin embargo, la afectación linfática se incrementa hasta el 20% cuando se trata de neoplasias de alto grado histológico. En caso de existir afectación ganglionar, el 33% de las mujeres presentan enfermedad linfática en el área pelviana, el 16% en el área aórtica de forma exclusiva y el 51% en las áreas pelvianas y aórtica simultáneamente.

Múltiples estudios reportan la incidencia de invasión ganglionar según las tres categorías de riesgo preoperatorio (Tabla 2): en el cáncer de endometrio de bajo riesgo, la prevalencia de afectación ganglionar es del 6% (siendo del 1% en caso de ausencia de invasión miometrial); en el cáncer de endometrio de riesgo intermedio y alto riesgo, el riesgo de invasión ganglionar es

del 20% y puede llegar al 30% en algunas series incluyendo únicamente pacientes de alto riesgo⁶⁻⁹.

Tabla 2. Clasificación preoperatoria de riesgo de invasión ganglionar (ESMO-ESGO-ESTRO 2014)*

Estadio FIGO en la RM	Tipo y grado histológico en la biopsia preoperatoria		
	Grado 1 o 2	Grado 3	No endometrioides
Estadio IA (Invasión miometrial <50%)	Bajo	Intermedio	Alto
Estadio IB (Invasión miometrial ≥50%)	Intermedio	Alto	Alto
Estadio II	Alto	Alto	Alto

*European Society of Medical Oncology (ESMO), la European Society of Gynaecological Oncology (ESGO) y la European Society for Radiotherapy & Oncology (ESTRO)

Recientemente, la ESGO, la ESTRO y la European Society of Pathology (ESP) han realizado conjuntamente una actualización de las guías europeas del cáncer de endometrio con una amplia revisión de la literatura disponible desde 2014 hasta 2019. En esta actualización se ha incluido la determinación molecular en la clasificación de riesgo, sin embargo, no se tendrá en cuenta en este trabajo, ya que las pacientes en nuestro estudio fueron incluidas previamente a esta clasificación (ESGO-ESTRO-ESP 2021)¹⁰.

Las recomendaciones europeas establecidas en 2014, basándose en la clasificación de riesgo preoperatorio de invasión ganglionar (Tabla 2), establecen las siguientes indicaciones de la linfadenectomía sistemática pelviana y paraaórtica en pacientes con cáncer de endometrio⁵: en pacientes de bajo riesgo no está recomendada la linfadenectomía sistemática, dado el reducido riesgo de afectación ganglionar en estas mujeres. En pacientes de riesgo intermedio la linfadenectomía sistemática se considera una opción. En pacientes de alto riesgo se recomienda la realización sistemática de una linfadenectomía pelviana bilateral y paraaórtica.

Tras la cirugía inicial, el cáncer de endometrio se estadifica según el sistema FIGO 2018. No obstante, la inclusión de pacientes en nuestro trabajo fue anterior a su publicación, por ello, en nuestros estudios se utilizó la clasificación FIGO 2009 vigente anteriormente, que se muestra a continuación (Tabla 3).

Tabla 3. Estadificación del cáncer de endometrio según la FIGO 2009

TNM	FIGO	DEFINICIÓN
T - Tumor primario		
TX		No se puede evaluar el tumor primario
T0		Sin evidencia de tumor primario
T1	I	Tumor confinado al cuerpo uterino, incluyendo afectación glandular endocervical
T1a	IA	Tumor limitado al endometrio o que invade menos de la mitad del miometrio
T1b	IB	Tumor que invade la mitad o más del miometrio

T2	II	<i>Tumor que invade el tejido conjuntivo estromal del cuello uterino pero no se extiende más allá del útero. No incluye afectación glandular endocervical</i>
T3	III	<i>Tumor que afecta serosa, anexos, vagina o parametrio</i>
T3a	IIIA	<i>Tumor que afecta la serosa, los anexos o ambos (extensión directa o metástasis)</i>
T3b	IIIB	<i>Afectación vaginal (extensión directa o metástasis) o afectación parametrial</i>
T4	IVA	<i>Tumor que invade la mucosa de la vejiga, mucosa intestinal, o ambos. El edema buloso no es suficiente para clasificar un tumor como T4</i>
N - Ganglios linfáticos regionales		
NX		<i>No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales</i>
N0		<i>Sin metástasis en los ganglios linfáticos regionales</i>
N0(i+)		<i>Células tumorales aisladas en ganglios linfáticos regionales ≤ 0,2 mm de diámetro</i>
N1mi	IIIC1	<i>Micrometástasis en los ganglios linfáticos regionales (> 0,2 mm a 2,0 mm de diámetro) de los ganglios linfáticos pelvianos</i>
N1	IIIC1	<i>Macrometástasis en ganglios linfáticos regionales (> 2,0 mm en diámetro) de los ganglios linfáticos pelvianos</i>
N2mi	IIIC2	<i>Micrometástasis en los ganglios linfáticos regionales (> 0,2 mm a 2,0 mm de diámetro) de los ganglios linfáticos paraaórticos, con o sin ganglios linfáticos pelvianos positivos</i>
N2	IIIC2	<i>Macrometástasis en ganglios linfáticos regionales (> 2,0 mm en diámetro) de los ganglios linfáticos paraaórticos, con o sin ganglios linfáticos pelvianos positivos</i>
M - Metástasis a distancia		
cM0		<i>Sin metástasis a distancia en la evaluación clínica (c)</i>
cM1	IVB	<i>Metástasis a distancia (incluye metástasis en ganglios linfáticos inguinales, pulmón, hígado, hueso o enfermedad intraperitoneal) También incluye metástasis en los ganglios linfáticos pelvianos o paraaórticos, vagina, serosa uterina o anexos</i>
pM1	IVB	<i>Metástasis a distancia (incluye metástasis en ganglios linfáticos inguinales, hígado, huesos o enfermedad intraperitoneal) confirmado microscópicamente por evaluación patológica (p) Excluye metástasis de ganglios linfáticos pelvianos o paraaórticos, vagina, serosa uterina o anexos</i>

1.2. Drenaje linfático de los tumores ginecológicos

1.2.1. Anatomía y fisiología del sistema linfático

El sistema linfático fue descrito por primera vez en el siglo XVII por T. Bartholin. En la actualidad conocemos que el sistema linfático está constituido por los vasos linfáticos, los ganglios y la linfa circulante.

Los vasos linfáticos, se disponen en cuatro niveles desde su origen:

- 1) Plexo capilar linfático: Se encuentra dentro de la sustancia fundamental del tejido conectivo. Los capilares únicamente poseen una capa de células endoteliales, con espacios entre ellas que permiten el paso de moléculas.
- 2) Conductos precolectores: Constituidos por la unión de varios capilares linfáticos.

- 3) Conductos colectores: Se disponen entre los ganglios, por lo que pueden ser preganglionares (aférentes) o postganglionares (eferentes) y poseen una capa de células musculares lisas con disposición espiral.
- 4) Troncos linfáticos: En ellos desembocan los conductores colectores, transportan la linfa al sistema venoso y disponen de válvulas para facilitar la progresión de la misma. Destacan el conducto torácico, que recoge el drenaje de la mitad inferior del cuerpo y de la mitad izquierda del tórax, y el conducto linfático derecho.

Anatomía de los ganglios linfáticos:

Los ganglios linfáticos son estructuras formadas por tejido linforreticular rodeado de una cápsula de tejido conectivo, que pueden medir desde milímetros hasta 2-3 centímetros. Presentan una morfología redondeada u ovalada, en los que se distingue una parte convexa y otra cóncava donde está el hilio. En su interior se diferencian dos regiones, una cortical y una medular, que comprende el centro del ganglio y el hilio, a través del cual salen los vasos linfáticos eferentes (Figura 1). Por su región convexa llegan los vasos linfáticos aférentes atravesando la cápsula hasta entrar en el parénquima ganglionar. A su vez, la cápsula se adentra en el parénquima ganglionar y tabica su interior formando lobulaciones que no están completamente cerradas. Esta distribución anatómica permite que el ganglio linfático actúe como un filtro de partículas extrañas.

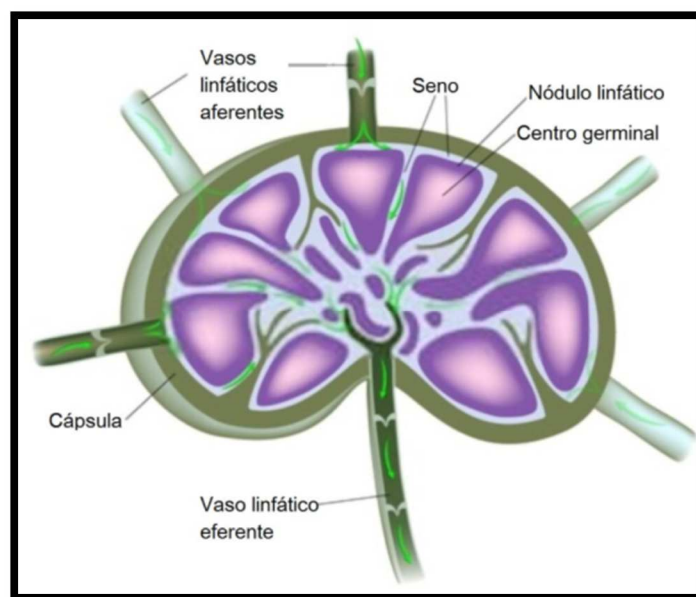


Figura 1. Anatomía de un ganglio linfático normal.

Fisiología:

Los ganglios linfáticos filtran la linfa antes de que ésta llegue a la circulación sistémica venosa. La linfa se origina a partir del plasma procedente de los capilares y se acumula entre las células formando el líquido intersticial. El plasma entra y sale de los capilares debido a la interacción entre la presión hidrostática (que favorece la entrada en los capilares) y la presión oncótica (que favorece la salida de los mismos). Más del 90% del plasma volverá a entrar en la circulación sistémica, el resto es recogido por el sistema linfático por difusión (Figura 2). La linfa es transportada por los vasos linfáticos aférentes a la parte convexa del ganglio linfático, allí se distribuye por los sinusoides de la corteza y luego por la médula, saliendo del ganglio por los linfáticos eferentes.

Una de las funciones del sistema linfático es drenar el exceso de líquidos tisulares. Cuando se acumula líquido en el espacio intersticial se abren los espacios intercelulares ya existentes entre

las células endoteliales de los vasos linfáticos, lo que permite el paso a la corriente linfática de macromoléculas, bacterias o células neoplásicas¹¹.

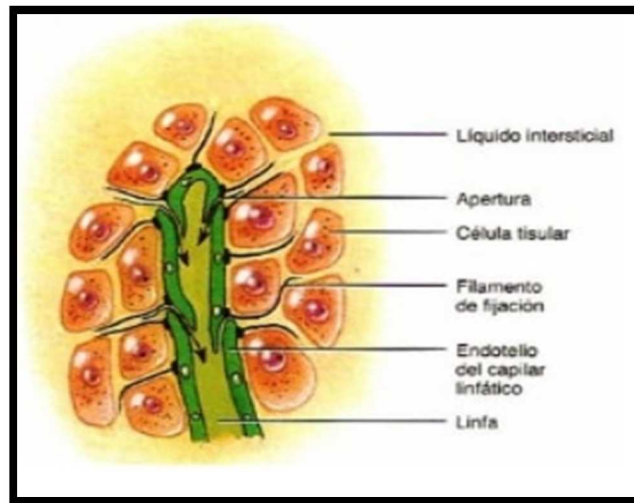


Figura 2. Esquema de la entrada del líquido intersticial a través del endotelio vascular linfático.

1.2.2. El drenaje linfático del útero

DRENAJE LINFÁTICO DEL CUELLO UTERINO:

Las vías de extensión linfática del cérvix, presentan un patrón de drenaje extremadamente ordenado. Serían en primer lugar hacia la fosa obturadora, cadena ilíaca externa, cadena ilíaca interna y ganglios presacros (Figura 3). Los ganglios de la cadena ilíaca común, paraaórtica e inguinales constituyen el grupo ganglionar de drenaje secundario. En la región parametrial y paracervical pueden encontrarse algunos ganglios linfáticos que podrían infiltrarse por contigüidad.

Los vasos linfáticos del cuello uterino proceden del segmento ínfero-posterior de éste, en una red formada en el estroma alrededor de las glándulas endocervicales, que confluyen en canales subserosos, los cuales se pueden dividir en tres grupos:

- a) Superiores y medios: Se hallan cruzando el uréter anteriormente y drenan en los ganglios de la cadena ilíaca externa y fosa obturadora.
- b) Inferiores: Siguen los vasos uterinos y drenan a la cadena hipogástrica, en la bifurcación de la arteria ilíaca común.
- a) Posteriores: Siguen el ligamento úterosacro y drenan en los ganglios presacros y de la bifurcación aórtica.

DRENAJE LINFÁTICO DEL CUERPO UTERINO:

El cuerpo uterino tiene dos vías simultáneas de drenaje linfático¹² (Figura 3):

- a) Un drenaje pelviano, que procede de los dos tercios inferiores del útero y va a través de los canales linfáticos que acompañan a los vasos uterinos (localizados en la parte lateral del parametrio y/o debajo de la vena ilíaca externa). De manera escalonada y por vía ascendente paralela a los grandes vasos, estos ganglios linfáticos pelviano drenan a los ganglios del área paraaórtica.

- b) Y otro drenaje paraaórtico directo, que procede del tercio superior del útero y va a través de los vasos linfáticos que acompañan a los vasos gonadales en el infundíbulo pelviano.

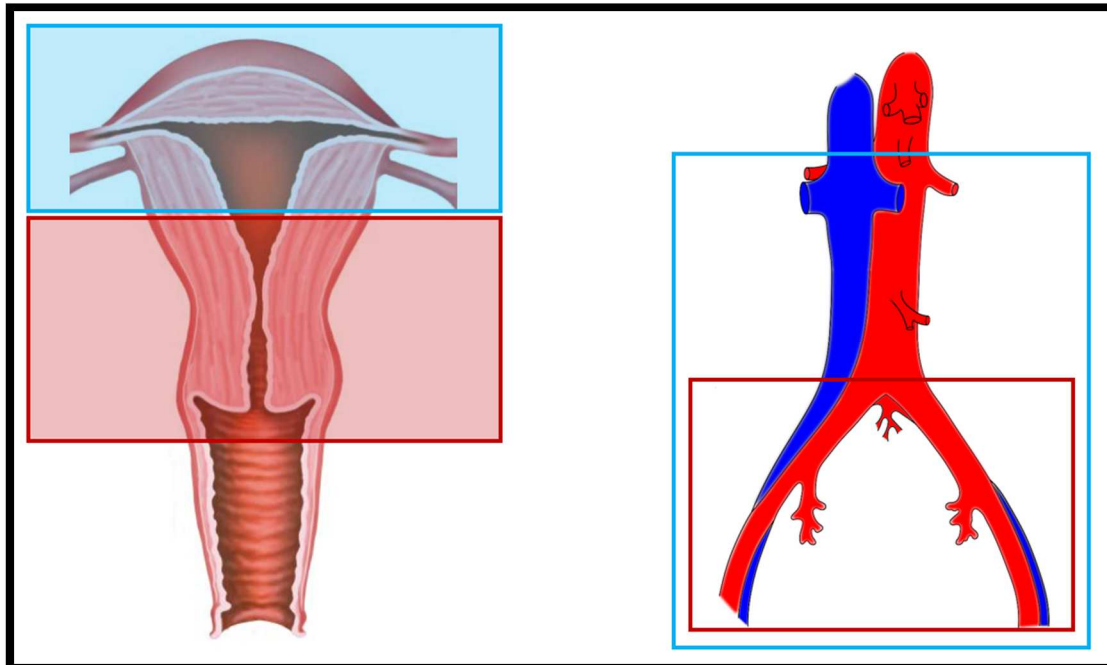


Figura 3. Esquema que muestra las dos vías de drenaje linfático del cuerpo uterino, así como la vía de drenaje linfático del cuello uterino.

2. CIRUGÍA RADIOGUIADA

2.1. El ganglio centinela

2.1.1. Concepto de ganglio centinela. Recuerdo histórico

Conceptualmente el ganglio centinela es el primer ganglio que recibe el drenaje linfático aferente de una lesión tumoral. Basándonos en la hipótesis de que la progresión linfática tumoral es un proceso ordenado, el ganglio centinela sería el ganglio infiltrado en primer lugar en caso de diseminación linfática de un tumor y tendría un valor predictivo sobre el resto de la cadena linfática regional (Figura 4). De este modo, si el ganglio centinela está libre de enfermedad, también lo estarán el resto de ganglios regionales, por lo que se podría evitar la linfadenectomía completa para la estadificación linfática de un tumor.

Desde la introducción de la biopsia selectiva del ganglio centinela es posible detectar los ganglios linfáticos con metástasis ocultas, mediante un procedimiento de mínima invasión. El estudio del estado de los ganglios linfáticos es, por tanto, de gran importancia para determinar la mejor estrategia terapéutica de un tumor y es uno de los factores pronósticos de supervivencia más importantes. La biopsia selectiva del ganglio centinela es un método preciso para la evaluación de la afectación de los ganglios linfáticos y se ha sugerido su inclusión en los algoritmos diagnósticos en lugar de la linfadenectomía, por sus excelentes tasas de detección.

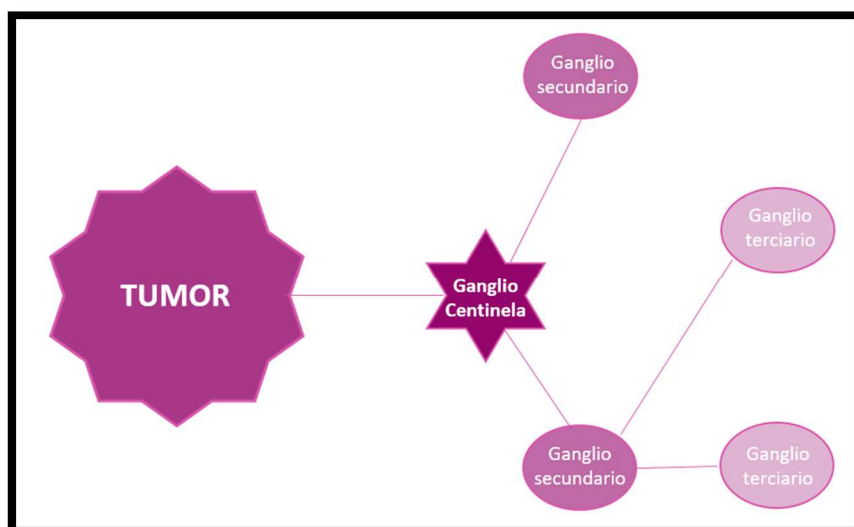


Figura 4. Esquema de la diseminación ordenada de las células tumorales hacia el ganglio centinela en primer lugar y luego hacia ganglios linfáticos secundarios y terciarios. (Esquema modificado de Nieweg OE, *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 169-173)¹³.

El término de ganglio centinela fue descrito por primera vez por Gould en 1960, basándose en la posición anatómica de un ganglio linfático encontrado en una disección ganglionar cervical durante una parotidectomía en un paciente con cáncer de parótida¹⁴. En 1977, Cabañas, utilizando linfoangiografías de pene, comprobó que el ganglio linfático al que migraba el contraste radiológico tenía una localización anatómica precisa. Observó además que la supervivencia a los 5 años disminuía si el ganglio centinela era positivo para metástasis. Por lo tanto, asoció el pronóstico de la patología al estado tumoral del ganglio linfático y propuso un nuevo planteamiento del tratamiento del cáncer de pene, que incluía la detección del ganglio centinela como herramienta para decidir el manejo terapéutico posterior¹⁵.

Años más tarde (1992), Morton y Cochran¹⁶ popularizaron y desarrollaron el concepto actual de ganglio centinela mediante la utilización de los colorantes vitales en el acto quirúrgico de los pacientes con melanoma maligno, para poder realizar una localización intraoperatoria del ganglio centinela.

Posteriormente, en 1993, Alex y Krag^{17,18} introdujeron el empleo de radiotrazadores con inyección intradérmica de [^{99m}Tc]Tc-sulfuro coloidal, como procedimiento radioguiado mínimamente invasivo para la estadificación linfática del cáncer de mama en estadios iniciales. Esta técnica con radiotrazador demostró una rentabilidad diagnóstica superior a los colorantes vitales, gracias a la realización de una linfogammagrafía prequirúrgica y localización intraoperatoria del ganglio centinela con una sonda de detección externa¹⁹.

Desde entonces, se han desarrollado técnicas de detección del ganglio centinela para otras neoplasias malignas sólidas, incluidos los cánceres ginecológicos de vulva²⁰, cuello uterino²¹ y endometrio²².

Aunque los conceptos son similares, el camino hacia la estandarización de la técnica ha sido variable debido a las diferencias en la incidencia de la enfermedad, las tasas de metástasis linfáticas y el impacto en el pronóstico o en el tratamiento según el estado de los ganglios linfáticos para cada tipo de cáncer.

El melanoma cutáneo fue la primera neoplasia en la que se aceptó la detección del ganglio centinela de forma generalizada. Las técnicas de detección del ganglio centinela con radiotrazador y colorante azul se perfeccionaron en instituciones individuales y se publicaron posteriormente a principios de la década de 1990^{16,23}. Estos estudios incluyeron a un gran número de pacientes a los que se les realizó detección del ganglio centinela seguido de una linfadenectomía completa para poder establecer las tasas reales de falsos negativos. Dos ensayos aleatorizados no lograron demostrar un beneficio de la linfadenectomía en pacientes con melanomas cutáneos^{24,25}. Es por ello que la detección del ganglio centinela surgió como una alternativa válida para la estadificación regional del melanoma, con menor morbilidad que la linfadenectomía.

De manera similar al melanoma, a principios de la década de 1990 se publicaron informes iniciales sobre la detección del ganglio centinela para el cáncer de mama mediante linfogammagrafías en instituciones individuales. El perfeccionamiento de la técnica se vio favorecido por el gran número de pacientes con cáncer de mama y la alta participación en los ensayos clínicos. El ensayo NSABP B-32 aleatorizó a las pacientes sometidas a la biopsia selectiva del ganglio centinela para completar la linfadenectomía axilar frente a ninguna evaluación adicional y determinó que ambos tenían una tasa aceptable de falsos negativos (9,8%) y ninguna diferencia en la supervivencia entre los grupos²⁶.

En oncología ginecológica, la detección del ganglio centinela fue descrita por primera vez para el tratamiento del cáncer de vulva. A diferencia del cáncer de mama y el melanoma, la linfadenectomía mejora la supervivencia en pacientes con cáncer vulvar con ganglios clínicamente negativos²⁷. Ensayos aleatorizados como el GOG 173 se centraron en definir la capacidad diagnóstica de la biopsia selectiva del ganglio centinela para identificar metástasis ganglionares, obteniendo una sensibilidad del 91,7% y un valor predictivo negativo del 96,3%²⁸. El ensayo prospectivo GROINSS-V permitió establecer la biopsia selectiva del ganglio centinela como un método eficaz en el manejo del cáncer vulvar T1-T2 (≤ 4 cm) con ganglios clínicamente negativos²⁹.

La aplicación del ganglio centinela en el cáncer de cérvix, fue descrita por primera vez por Echt et al.³⁰ en 1999, quienes realizaron un estudio conjunto del ganglio centinela con azul de isosulfán en cáncer de vulva, cáncer de endometrio y cáncer de cérvix, con tasas de detección del 75%, 0% y 15,4% respectivamente. El uso exclusivo de un colorante vital como trazador, unido a un número de pacientes muy reducido y a la baja experiencia, explica la escasa tasa de detección. Como en otros tumores, la primera aplicación de la detección del ganglio centinela en cérvix fue con el uso de colorantes y a continuación se añadieron los radiotrazadores³¹. Posteriormente, el verde de indocianina (ICG) se ha identificado como un trazador de gran utilidad en este grupo de tumores³², las guías ESGO recomiendan que la detección del ganglio centinela se realice mediante una técnica combinada de colorante azul con radiotrazador o con ICG solo³³.

Múltiples estudios han demostrado que se trata de una técnica factible y, actualmente, se ha sugerido realizar la biopsia selectiva del ganglio centinela en el estadio precoz del cáncer de cérvix, en lugar de la linfadenectomía pelviana, por sus excelentes tasas de detección y sensibilidad³⁴. No obstante, aunque las guías internacionales consideran la biopsia selectiva del ganglio centinela como una alternativa a la disección sistemática de los ganglios linfáticos pelvianos, no es todavía el patrón oro debido a la falta de evidencia prospectiva sobre la supervivencia a largo plazo de los pacientes con ganglio centinela negativo bilateral que se consideran libres de afectación ganglionar y que no recibieron tratamiento adyuvante.

La aplicación del ganglio centinela en el cáncer de endometrio fue descrita por primera vez por Burke et al., en 1996. En este estudio piloto se incluyeron 15 pacientes con diagnóstico de cáncer de endometrio de alto riesgo, a las que se realizó la inyección subserosa de azul de isosulfán y posteriormente se abrían los espacios retroperitoneales y se disecaban los canales y los ganglios linfáticos pelvianos y paraaórticos teñidos de azul²².

Más tarde, se describió la utilización de radiotrazadores con realización de linfogammagrafías, así como el uso de ICG como trazador, para la detección del ganglio centinela en estos tumores.

Si bien la información actual de los estudios de detección del ganglio centinela en el cáncer de endometrio parece bastante prometedora y se recomienda en las pacientes con bajo riesgo de invasión ganglionar, todavía existen muchas controversias en las pacientes de alto riesgo, por lo que serán necesarios estudios futuros que comparen los patrones de recurrencia de la enfermedad en pacientes sometidas a biopsia selectiva del ganglio centinela versus linfadenectomía completa, para confirmar la eficacia de la técnica.

Estos resultados demuestran los diversos enfoques que se han adoptado para establecer la biopsia selectiva del ganglio centinela como una estrategia de evaluación linfática aceptable en neoplasias ginecológicas, que tienden a reflejar los desafíos únicos de cada órgano donde se desarrolla la enfermedad.

2.1.2. Justificación de la técnica de detección del ganglio centinela en cáncer ginecológico de cérvix y endometrio

Como se ha indicado en apartados anteriores, la linfadenectomía pelviana se añade a la histerectomía en el cáncer de cérvix en estadio precoz y en el cáncer de endometrio confinado al útero con riesgo alto y opcionalmente, intermedio con o sin linfadenectomía paraaórtica. Sin embargo, la linfadenectomía se asocia frecuentemente con comorbilidades que incluyen linfocele, linfedema y celulitis, disminuyendo la calidad de vida de la paciente³⁵. Se ha observado linfedema en el 20% de las pacientes que se sometieron a la linfadenectomía, por cáncer ginecológico³⁶.

La incidencia de metástasis en los ganglios linfáticos en pacientes con carcinoma de cérvix en estadio clínico IB es de aproximadamente 15-20%^{37,38}, mientras que en pacientes con cáncer de endometrio en estadio clínico I o II es de aproximadamente 10%³⁹, lo que sugiere que la linfadenectomía puede ser innecesaria en la mayoría de los pacientes con cáncer de cérvix o de endometrio en estadio precoz. Además, algunos trabajos más recientes, cuestionan la necesidad de la linfadenectomía sistemática, ya que no tiene impacto en la supervivencia global de las pacientes⁴⁰.

Ante la falta de evidencia del beneficio terapéutico de la linfadenectomía en estos tumores, técnicas menos invasivas como la biopsia selectiva del ganglio centinela, han ido emergiendo como alternativas prometedoras, con el objetivo de evitar la linfadenectomía sistemática y reducir las complicaciones asociadas. Este aspecto es de especial importancia en el grupo de las pacientes jóvenes con cáncer de cérvix, las cuales deben vivir con las secuelas asociadas al tratamiento durante períodos prolongados.

En un estudio con pacientes con cáncer de endometrio, la biopsia selectiva del ganglio centinela tuvo una menor incidencia de linfedema de extremidades inferiores en comparación con la linfadenectomía paraaórtica infrarrenal y pelviana (1,3% versus 18,1%, respectivamente)⁴¹.

Además, en comparación con la linfadenectomía de rutina, la biopsia selectiva del ganglio centinela se asocia a un menor coste en términos económicos y a una supervivencia ajustada

por calidad de vida más alta, lo que la convierte en la estrategia más rentable en el manejo de pacientes con carcinoma de endometrio de bajo riesgo⁴².

Otro beneficio de la biopsia selectiva del ganglio centinela, es su capacidad para aumentar la tasa de detección de los ganglios linfáticos metastásicos, ya que permite la detección de los ganglios potencialmente infiltrados fuera de los límites de la disección linfática regional habitual evaluados durante la linfadenectomía pelviana completa convencional (como las áreas presacra y paraaórtica) en cáncer de cérvix. En un análisis de 3.012 ganglios centinela, se identificaron ganglios centinela a lo largo de los vasos ilíacos comunes (6,6%), la región paraaórtica (2%), la región presacra (1,26%) y la región inguinal (0,07%)⁴³.

En el cáncer de endometrio, también se ha observado mediante la realización del ganglio centinela la detección de metástasis en sitios inesperados. En un estudio, se observaron ganglios centinela en área parametrial (1,2%) y en área presacra (3,2%) encontrándose tres ganglios centinela con metástasis positiva en la porción medial del área de la vena hipogástrica o el área presacra que hubiesen sido obviados con la realización de una linfadenectomía de rutina⁴⁴.

Por otro lado, la biopsia selectiva del ganglio centinela permite la realización de la ultraestadificación, la cual aumenta la tasa de detección de micrometástasis en los ganglios linfáticos extirpados.

Esta técnica se basa en la realización de secciones histológicas seriadas a distancias menores, sobre las que se aplica, además del análisis convencional con hematoxilina/eosina (H&E), un estudio inmunohistoquímico (citoqueratina AE1/AE3). La ultraestadificación incrementa la detección de micrometástasis (> 0,2 mm y/o > 200 células, pero < 2 mm) y de células tumorales aisladas (< 0,2 mm y < 200 células), que no se identificarían con el análisis con H&E.

Se han publicado trabajos que detectaron metástasis en los ganglios linfáticos en, aproximadamente, el 30% de las pacientes con cáncer de cérvix en estadio IA1-IIA1 que se sometieron a la biopsia selectiva del ganglio centinela⁴⁵. Otro estudio demostró que se detectó un 10% más de metástasis en los ganglios linfáticos de las pacientes a las que se les realizó la biopsia selectiva del ganglio centinela en comparación con las que se practicó una linfadenectomía sistemática⁴⁶.

Algunos trabajos en cáncer de endometrio también demuestran que el estudio del ganglio centinela mediante ultraestadificación, incrementa la capacidad diagnóstica de metástasis ganglionares respecto a la linfadenectomía estándar^{47,48}.

Así pues, la biopsia selectiva del ganglio centinela ha supuesto un gran avance en el pronóstico de las pacientes con cáncer ginecológico gracias a su capacidad para modificar la planificación terapéutica y detectar metástasis en los ganglios linfáticos en comparación con la linfadenectomía sistemática en pacientes con cáncer de cérvix en estadios precoces o de endometrio de bajo riesgo, siendo todavía controvertido su aplicación en las de riesgo intermedio-alto. En resumen, la no inferioridad del pronóstico a largo plazo a través de la omisión de la linfadenectomía sistemática no ha sido probada por un ensayo aleatorizado, pero la biopsia selectiva del ganglio centinela disminuye las complicaciones linfáticas relacionadas con la linfadenectomía sistemática y aumenta la tasa de detección gracias a la ultraestadificación y la detección de metástasis en sitios de drenaje inhabituales.

2.2. Técnicas de detección del ganglio centinela en tumores uterinos

2.2.1. Trazadores: colorantes vitales, fluorescentes, radiotrazadores y trazador híbrido

COLORANTES VITALES

La detección mediante métodos utilizando colorantes vitales permite la detección visual directa de los canales y ganglios linfáticos (Figura 5). Esta técnica es sencilla, ya que no requiere de ningún equipo de detección y es aplicable en abordajes quirúrgicos abiertos, laparoscópicos y robóticos.

Existen varios colorantes vitales descritos en la literatura; el azul patente, el azul de isosulfán y azul de metileno, son los más utilizados.

Generalmente, se inyectan 2-5 ml de una solución al 1% en el cuello uterino, y tras 10-20 minutos, se observa una distribución del colorante por los canales linfáticos y en los ganglios linfáticos. La inyección debe ser superficial (< 10 mm) para minimizar la absorción del colorante en tejidos más profundos.

Las partículas de estos colorantes tienen un tamaño inferior a 1 nm y migran rápidamente a través del sistema linfático, por tanto su principal inconveniente es su rápida difusión, ya que no se acumula activamente en los primeros ganglios. Otro inconveniente es el riesgo de reacción alérgica y anafilaxia (1,1%), particularmente relacionado con el azul de isosulfán, por lo que los pacientes deben ser monitorizados durante 60 minutos tras su administración⁴⁹. El azul de isosulfán está aprobado por la FDA para la detección linfática, pero tiene menor uso porque su disponibilidad es limitada, su coste elevado y por las reacciones alérgicas mencionadas.

El azul de metileno es una alternativa menos costosa que el azul de isosulfán. Sin embargo, la detección linfática no es un uso incluido en la ficha técnica del colorante. Se han descrito también, riesgos de metahemoglobinemia paradójica y síndrome serotoninérgico en pacientes que toman medicamentos psiquiátricos serotoninérgicos.

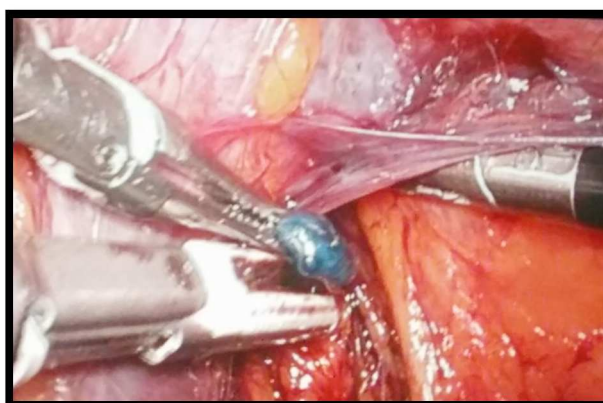


Figura 5. Visualización laparoscópica in vivo, de un ganglio centinela pelviano, teñido de azul de metileno tras la inyección cervical, en una paciente con cáncer de cérvix.

COLORANTE FLUORESCENTE

El ICG es un colorante de tricarbocianina soluble en agua que tras ser excitado con una determinada longitud de onda, emite una señal de fluorescencia en el rango del espectro

electromagnético próximo al infrarrojo (NIR) (750-1000 nm) que es detectada por un equipo óptico especializado (Figura 6).

Se ha utilizado durante décadas en medicina y actualmente está autorizado por la FDA para la obtención de imágenes vasculares y hepatobiliares. La detección linfática, no es un uso incluido en la ficha técnica del trazador.

La detección óptima de los ganglios centinela se consigue diluyendo el colorante con agua estéril a una concentración de 0,5 - 1,25 mg/ml y utilizando un volumen de 2 - 4 ml.

Los dispositivos generadores de imágenes NIR contienen filtros para recibir la longitud de onda de 830 nm emitida por el ICG y poder visualizarlo. Los lectores de imágenes NIR están diseñados para poder utilizarse en abordajes quirúrgicos por laparotomía, laparoscopia y cirugía robótica. La señal de fluorescencia penetra en los tejidos con una profundidad de 0,5 - 1,5 cm y permiten la visualización en tiempo real durante la disección. Además también se pueden combinar con los trazadores radiactivos. Se ha demostrado que el ICG es superior a los colorantes azules para la detección del ganglio centinela, sobre todo en cirugías de pacientes obesos⁵⁰.

La principal desventaja de este colorante es el requisito del uso de un equipo de imágenes NIR especializado, ya que la fluorescencia no se detecta a simple vista.

Además, al inicio de la curva de aprendizaje del procedimiento de la detección del ganglio centinela con este colorante, se ha asociado a una mayor tasa de *empty packets*, que son acúmulos de tejido adiposo identificados durante la cirugía que presentan trazador pero que no contienen ganglios linfáticos en su interior, tras el estudio anatomopatológico definitivo, probablemente debidos a la alta difusión del trazador⁵¹. Se han descrito con el uso de ICG, hasta en el 8% de los casos y en proporciones superiores cuando no existe experiencia del equipo quirúrgico.

El riesgo de eventos adversos es extremadamente bajo (1/42.000 de anafilaxia); sin embargo, debe evitarse en pacientes con alergia grave al yodo o insuficiencia hepática, ya que es excretado completamente por esta vía.

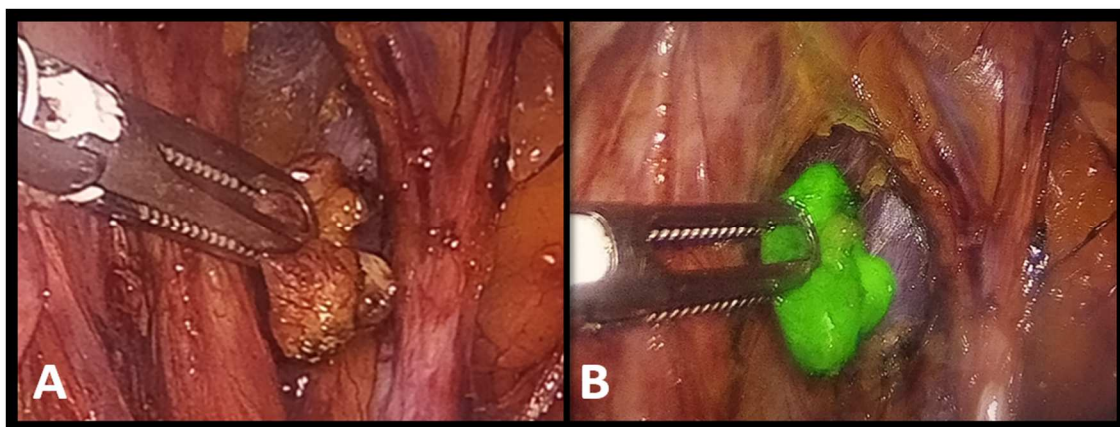


Figura 6. Detección intraoperatoria del ganglio centinela con ICG mediante cámara óptica NIR especializada: visualización laparoscópica combinada de un ganglio centinela pelviano, con imagen de luz blanca (A) e imagen de fluorescencia (B).

RADIOTRAZADORES

En general, los radiotrazadores utilizados para la detección del ganglio centinela, se basan en partículas coloidales, entre ellas la albúmina y otras como el estaño, azufre, trisulfuro de

antimonio, renio y fitato. Estos coloides se marcan con isótopos radiactivos, principalmente el $[^{99m}\text{Tc}]$ pertecnato.

Su mecanismo de acción consiste en la migración de las partículas del radiotrazador desde el espacio intersticial hasta el interior de los vasos linfáticos. Una vez transportadas a los ganglios linfáticos son retenidas mediante atrapamiento o fagocitosis por los macrófagos residentes en los ganglios linfáticos. La composición y el tamaño de los coloides utilizados clínicamente, varían mucho (Figura 7). Se ha estimado que el tamaño óptimo para la correcta migración de las partículas y detección del ganglio centinela es de 5 nm⁵².

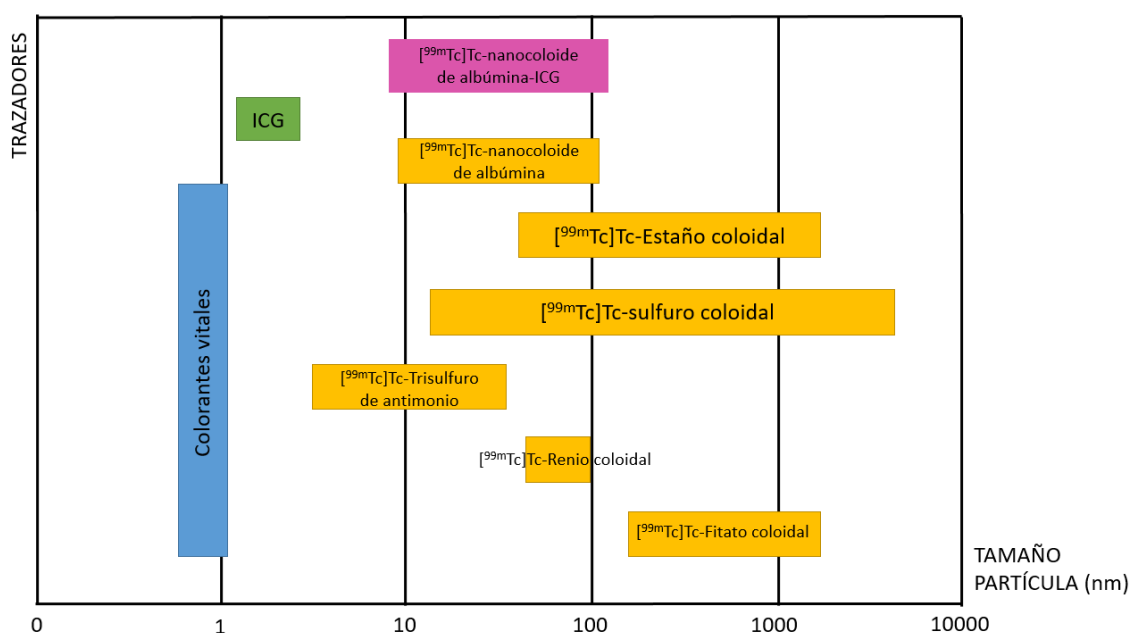


Figura 7. Esquema comparativo de los tamaños de las partículas de los colorantes vitales, fluorescentes, trazadores radiactivos y trazador híbrido. (Esquema adaptado de Van Den Berg NS. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;58:193-206)⁵³.

A diferencia de los colorantes vitales y fluorescentes, los radiotrazadores presentan la ventaja de que pueden inyectarse, debido a su marcaje con ^{99m}Tc , entre 4 y 24 horas antes de la intervención. De esta forma, permiten planificar la cirugía, obteniendo un mapa linfático preoperatorio del tumor a través de imágenes linfogammagráficas planares o la tomografía por emisión de fotón único/tomografía computarizada (SPECT/TC) que indican cuáles son las estaciones de drenaje, el número y la localización anatómica del ganglio centinela (Figura 8) incluso en drenajes linfáticos impredecibles.

Otra ventaja de los trazadores radiactivos es que permiten, debido a su emisión gamma, ser detectados a través de los tejidos mediante una sonda gammadetectora. Esta sonda está conectada a un monitor que emite una señal acústica, cuya intensidad es proporcional a la cantidad de radiotrazador captada por los ganglios, sirviendo de guía intraoperatoria al cirujano para la disección y localización precisa de los ganglios centinela previamente visualizados en la gammagrafía. Además la emisión gamma presenta una elevada penetración a través de los tejidos profundos, siendo una característica muy interesante en pacientes con cáncer ginecológico, donde las regiones ganglionares pueden contener abundante tejido graso a su alrededor, dificultando la visualización de los colorantes y la fluorescencia.

También se pueden utilizar, de forma combinada, con los colorantes vitales y fluorescentes, obteniendo una doble guía visual y acústica, con el objetivo de sumar los beneficios de ambas modalidades para facilitar y optimizar la detección del ganglio centinela. Esta combinación ha demostrado un aumento en la tasa de detección, no sólo en el cáncer de mama⁵⁴ o en el melanoma⁵⁵, sino también en tumores ginecológicos, en los que es especialmente útil por el complejo drenaje linfático que tiene la pelvis⁵⁶.

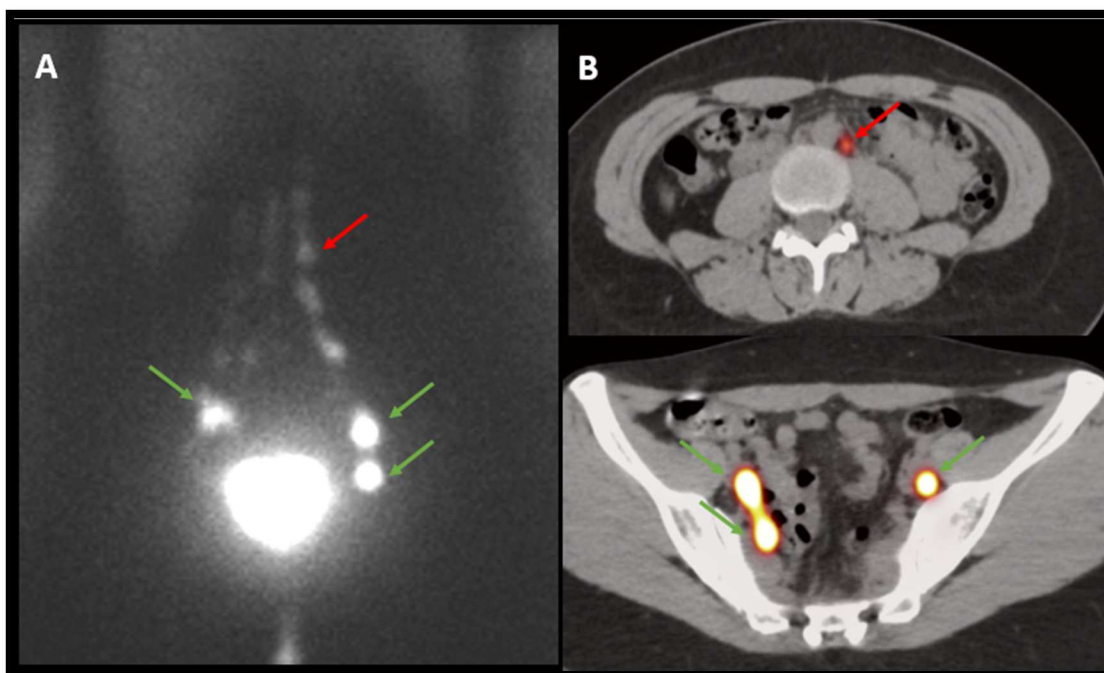


Figura 8. Linfogramografía planar (A) y cortes axiales de la SPECT/TC (B) realizada 2h después de la inyección de trazador híbrido vía TUMIR, en una paciente con cáncer de endometrio, que muestra drenaje a las regiones pelvianas bilaterales (flechas verdes) y paraaórtica (flecha roja).

TRAZADOR HÍBRIDO

Con el fin de aunar las excelentes propiedades, de la elevada penetración a través de los tejidos y la capacidad de obtener el mapa linfático preoperatorio, que proporcionan los radiotrazadores, con la alta sensibilidad de detección visual de los colorantes fluorescentes durante la cirugía, se han desarrollado trazadores híbridos que combinan radiactividad y fluorescencia en un único trazador.

El trazador híbrido ($[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -nanocoloide de albúmina-ICG), se forma mediante el autoensamblaje no covalente de dos trazadores linfáticos bien conocidos, el ICG y el $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -nanocoloide de albúmina (Figura 9).

El trazador híbrido ha sido utilizado en múltiples tumores con resultados excelentes en la detección del ganglio centinela. Tras su introducción para la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de próstata⁵⁷, se utilizó posteriormente en el melanoma de cabeza y cuello⁵⁸, en el carcinoma de cavidad oral⁵⁹, cáncer de mama⁶⁰, de pene⁶¹ y de vulva⁶².

En el estudio comparativo inicial de validación se observó que el $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -nanocoloide de albúmina-ICG mostró un patrón de drenaje similar al $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -nanocoloide de albúmina en 25

pacientes con melanoma o cáncer de pene⁶¹. Con este trazador híbrido se demostró que el mapa preoperatorio obtenido con el radiotrazador podría combinarse con la guía fluorescente intraoperatoria, realizando una única inyección y obteniendo una detección más eficiente y precisa de la localización de los ganglios centinela, con respecto al colorante azul o a los dos compuestos por separado^{60,63-67}.

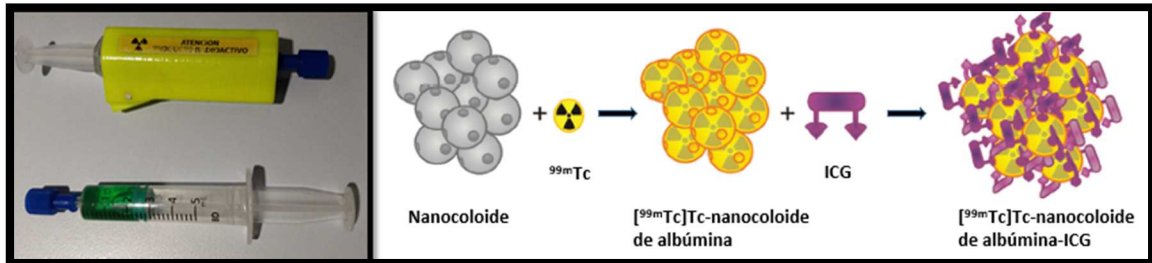


Figura 9. Trazador híbrido ($[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-nanocoloide de albúmina-ICG}$) preparado para su inyección y fórmula de su estructura molecular (Esquema adaptado de Van Den Berg NS. *Curr Opin Urol.* 2012;22:109-20)⁵⁰.

2.2.2. Vías de administración de los trazadores

En el **cáncer de cérvix**, de acuerdo con las directrices de la NCCN, la detección del ganglio centinela podría realizarse mediante ICG o una técnica combinada de colorante azul en asociación con $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-nanocoloide de albúmina}$ ³³. Debe evitarse el colorante azul aislado y se ha demostrado que la asociación con radiotrazadores puede mejorar la sensibilidad para detectar el ganglio centinela⁶⁸.

La inyección se realiza periorificial. Las inyecciones submucosas se realizan a 5-10 mm de profundidad, en dos (a las 3 y alas 9h) o cuatro puntos, tal como muestra la Figura 10.

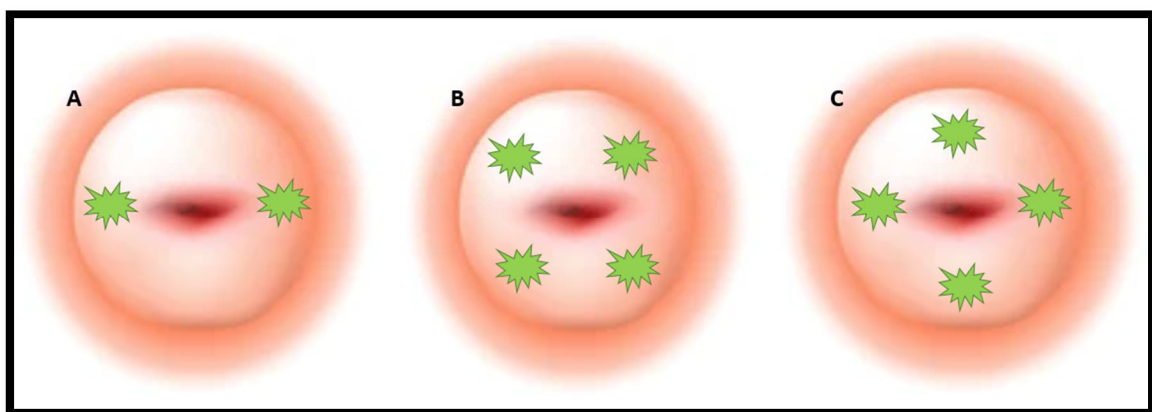


Figura 10. Esquema de las diferentes modalidades de inyección submucosa periorificial en cáncer de cérvix: en dos puntos (A) y en cuatro puntos (B y C).

En el **cáncer de endometrio**, el primer trazador inyectado por vía cervical fue el $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-nanocoloide de albúmina}$ solo o en combinación con los colorantes azules. Posteriormente se

introdujo el ICG que se ha utilizado ampliamente en este tipo de tumores, proporcionando elevadas tasas de detección del ganglio centinela, superiores al 96%^{34,40,69}.

En cuanto al lugar óptimo de inyección del trazador todavía sigue en investigación. La controversia respecto al tipo de inyección del trazador en el cáncer de endometrio se debe principalmente a la complejidad del drenaje linfático del cuerpo uterino. Hasta la fecha, se han propuesto diversas técnicas, con diferentes puntos de inyección, que muestran diferentes tasas de detección, capacidades diagnósticas variables y una mayor o menor representación anatómica del drenaje endometrial:

1) La inyección subserosal/intramietrial durante la cirugía fue la primera técnica descrita para detectar el ganglio centinela en el cáncer de endometrio²². La técnica es segura, fácil de realizar y detecta no solo los ganglios pelvianos sino también los paraaórticos. Ofrece una tasa de detección global variable entre 45 y 100%, sin embargo, no permite obtener un mapa linfático que permita una planificación previa adecuada del abordaje quirúrgico. Debe realizarse con colorante azul y esto implica la disección de todas las áreas anatómicas de drenaje linfático para visualizar los ganglios teñidos, lo cual puede ser problemático, particularmente en pacientes obesas. Además, se ha descrito una baja sensibilidad para la detección del ganglio centinela por esta vía^{22,70}.

2) La punción cervical del trazador se trata de la técnica más utilizada actualmente, ya que es fácil de realizar, es bien tolerada, permite la planificación del abordaje quirúrgico previo gracias al mapa linfático obtenido con el radiotrazador y ofrece las tasas más altas de detección global, por encima del 90%^{40,71-73}.

Sin embargo, como se ha descrito anteriormente, el drenaje linfático del cuerpo uterino no es idéntico al del cérvix, y se han obtenido tasas de detección del ganglio centinela ligeramente menores que en el cáncer de cérvix, donde es ampliamente utilizada esta vía⁷⁴. Además, una limitación importante a tener en cuenta, es que los ganglios centinela identificados por esta vía pueden no ser totalmente representativos del drenaje real del cáncer de endometrio y podría explicar las tasas generalmente bajas de detección en el área paraaórtica^{75,76}, la cual sería el verdadero drenaje linfático fisiológico, que se observa en aproximadamente el 50% de las mujeres⁷⁷ (Figura 11).



Figura 11. Inyección cervical periorifical del trazador híbrido (a las 9h).

3) La inyección intramietrial/subendometrial mediante histeroscopia ofrece una tasa de detección variable entre el 50 y 95%, con ganglios linfáticos paraaórticos detectados en

aproximadamente el 50% de las mujeres^{78,79}. Sin embargo, ésta es una técnica compleja, incómoda e invasiva para las pacientes y los resultados parecen ser menos reproducibles.

4) Por último, se ha descrito la inyección miometrial de radiotrazador guiada por ecografía transvaginal (TUMIR) (Figura 12), esta técnica se realiza de forma similar al método de transferencia de embriones utilizado en reproducción asistida descrito en 1993 por Kato O. et al⁸⁰. Una gran ventaja de esta técnica es que permite la visualización del sitio exacto de inyección a través de los tejidos mediante la ecografía, a diferencia del resto de métodos de punción descritos anteriormente. Se realiza la inyección del radiotrazador en los dos tercios exteriores del miometrio (en la cara anterior y posterior), basándose en la evidencia reportada de que los vasos linfáticos son abundantes en las capas miometrial y subserosa, mientras que la capa subendometrial carece de circulación linfática significativa^{81,82}. Además este método permite también obtener un mapa linfático prequirúrgico, gracias al radiotrazador inyectado.

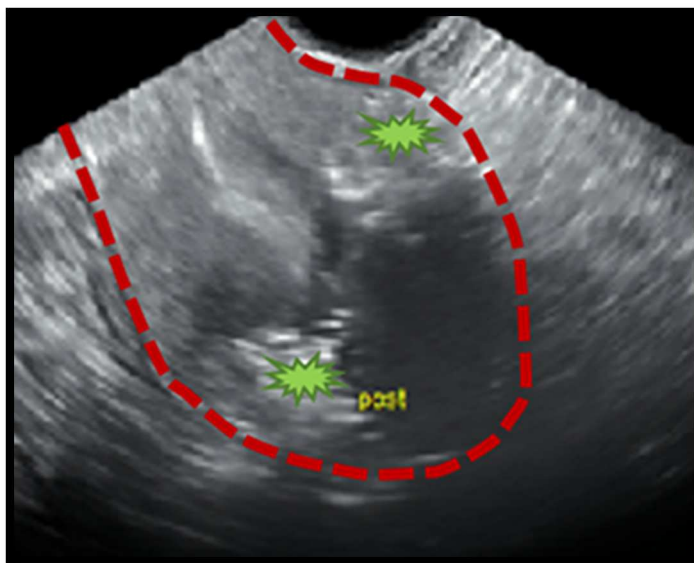


Figura 12. Imagen de ecografía transvaginal que muestra la inyección miometrial mediante técnica TUMIR del trazador híbrido, observándose el depósito del trazador inyectado en las paredes anterior y posterior del miometrio (asteriscos verdes). La línea roja intermitente delimita el útero.

2.2.3. Linfogramagrafía

Un aspecto controvertido de la técnica de detección del ganglio centinela, especialmente en el cáncer de endometrio, es la realización o no de una linfogramagrafía, que proporciona un mapa linfático prequirúrgico del drenaje del tumor. La adquisición de la linfogramagrafía fue aceptada en primer lugar en los pacientes con melanoma maligno, en los que se observó la gran variabilidad de drenaje no predecible por el cirujano, lo que cambió el manejo terapéutico en hasta un tercio de los casos⁸³. En otros estudios vieron que el drenaje se distribuía a varias estaciones ganglionares, en lugar de la única esperada y que la discordancia entre lo esperado y lo observado osciló entre el 34% al 41% de los casos⁸³⁻⁸⁵. Además, existen ganglios linfáticos fuera de los grupos ganglionares regionales, llamados ganglios en tránsito, que pueden ser los primeros en recibir el drenaje tumoral y por lo tanto deben ser considerados ganglios centinela y ser extirpados.

Es por ello, que la realización de una linfogramagrafía es altamente recomendable para realizar una correcta estadificación tumoral.

También es de gran ayuda para realizar una buena planificación prequirúrgica y poder guiar a los cirujanos durante el procedimiento quirúrgico, ya que permite mediante la SPECT/TC obtener una imagen anatómica adicional (Figura 13), con información más precisa que la linfogammagrafía planar sola, lo que conlleva a una mejora de la estadificación quirúrgica⁸⁶.

En los tumores ginecológicos, como el carcinoma de cérvix en estadio precoz, la linfogammagrafía cobra más importancia todavía, porque aunque el cuello uterino presenta un drenaje inicial al área pelviana y la mayoría de los ganglios centinela se localizan en el área interilíaca e ilíaca externa, también se han descrito ganglios centinela en territorios inesperados como áreas presacra y paraaórtica^{43,87,88}.

Ouldamer et al., publicaron un metaanálisis que incluyó a 1.301 pacientes con cáncer de cérvix en estadio precoz. Se detectaron un total de 3.012 ganglios centinela, de los cuales el 83,9% se localizaban en áreas de drenaje de la pelvis (fosa obturadora, ilíaca externa e ilíaca interna), el 6,6% en el área ilíaca común, el 4,3% en el área parametrial, el 2,0% en el área paraaórtica, el 1,3% en el área presacra, el 0,07% en el área inguinal y el 0,07% en el área del ligamento cardinal⁴³. Takeshita et al. describieron también ganglios centinela en el área ilíaca circunfleja⁸⁹. Aunque la mayoría de las metástasis se localizaron en el área pelviana, también se describieron ganglios linfáticos afectados en las áreas glútea, presacra y paraaórtica.

En el cáncer de endometrio, las vías atípicas están presentes en el 25% de las pacientes y son exclusivas hasta en un 10%⁸⁷. Estas vías atípicas pueden contener algunas metástasis ganglionares aisladas que no se eliminarían durante la linfadenectomía pelviana de rutina. Se ha visto también, que se encuentran más ganglios centinela en áreas atípicas en mujeres nulíparas⁸⁷ ya que durante el embarazo, la decidualización de las células del estroma endometrial puede inducir algunas modificaciones en los vasos linfáticos, provocando cambios en la red linfática⁸². En pacientes con un tamaño tumoral superior a 2 cm, el drenaje linfático habitual puede verse alterado⁸⁷ ya que los vasos linfáticos pueden estar bloqueados por células cancerosas originando una modificación del drenaje linfático del tumor. Además, los tumores grandes pueden tener necrosis central que puede cambiar la difusión de los trazadores⁹⁰.

La linfogammagrafía por tanto, puede reducir los falsos negativos de la estadificación ganglionar, que conllevaría a una mala clasificación de riesgo de la neoplasia y un manejo inadecuado de las pacientes.

La frecuencia y la tasa de ganglios positivos de cada área linfática son similares a las descritas en las linfadenectomías pelvianas y paraaórticas sistemáticas⁹¹, demostrando que la misma información anatómica podría obtenerse con una técnica menos invasiva.

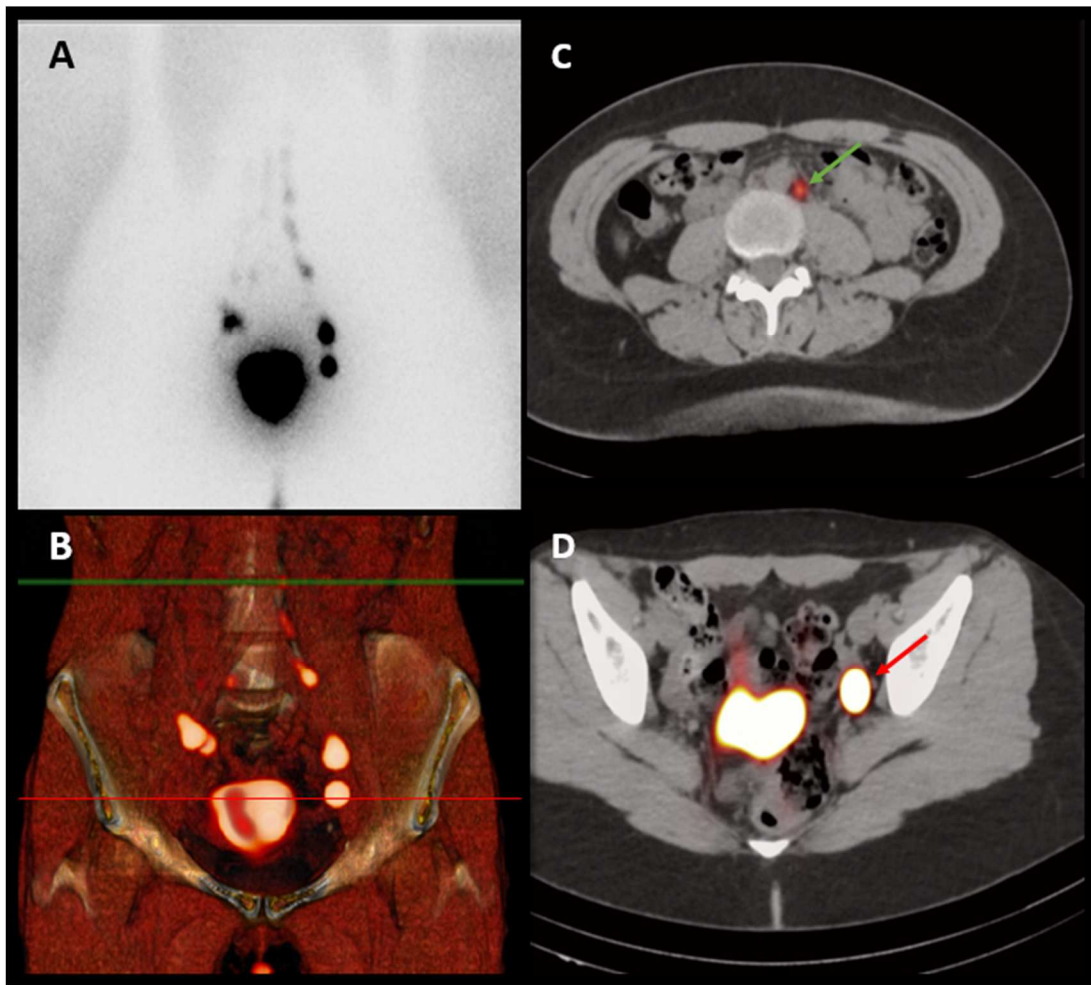


Figura 13. Linfogramagrafía planar y SPECT/TC realizadas 2h tras la inyección del trazador híbrido mediante TUMIR. La linfogramagrafía planar (A) y la reconstrucción volumétrica de la SPECT/TC (B), muestran drenaje a ambas regiones pelvianas y paraaórtica. Las imágenes axiales de fusión SPECT/TC, muestran actividad correspondiente a un ganglio centinela paraaórtico (flecha verde) (C) y un ganglio centinela ilíaco externo izquierdo (flecha roja) (D).

2.2.4. Experiencia del equipo quirúrgico

Otro aspecto destacable, que caracteriza la técnica de detección del ganglio centinela, es la importancia de la experiencia del equipo quirúrgico, tanto del especialista en medicina nuclear como de los cirujanos.

La inyección eficiente, la valoración y estudio de la linfogramagrafía, la correcta detección intraoperatoria y la resección precisa de los ganglios, requieren una curva de aprendizaje que se puede alcanzar realizando una biopsia selectiva del ganglio centinela antes de cada linfadenectomía pelviana, tanto para el cáncer de cuello uterino como para el endometrial, bajo el control de un operador experimentado.

Este concepto de curva de aprendizaje ha sido ampliamente descrito en la literatura. Plante et al., en su cohorte de 55 pacientes con cáncer de cérvix, ha mostrado una mejor tasa de identificación del ganglio centinela en los últimos 15 casos en comparación con sus 28 primeros

casos (93% versus 51%) y concluyeron que la experiencia en la detección del ganglio centinela aumentó significativamente con el tiempo⁹². Esta experiencia adquirida tuvo un impacto en la mejora de la localización del ganglio centinela en el subgrupo de pacientes con mayor riesgo de detección intraoperatoria fallida, en las pacientes con tumor de mayor tamaño⁹³ y en las pacientes obesas⁹⁴.

Según Khoury-Collado et al., el punto de corte de la curva de aprendizaje en la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de endometrio debe fijarse en 30 casos⁹⁵.

El uso de ICG se ha asociado también a una mayor tasa de *empty packets* al inicio de la curva de aprendizaje del procedimiento de la detección del ganglio centinela con este trazador⁵¹.

En un análisis complementario de las cohortes SENTICOL I y SENTICOL II, la tasa de detección bilateral fue significativamente mayor en la cohorte SENTICOL II (2009-2012) que en la cohorte SENTICOL I (2005-2007), un 83,5% frente al 75%, respectivamente. Además, el centro con habilidades quirúrgicas bajas (≤ 1 caso/año) tuvo una tasa de detección bilateral significativamente menor que el centro de habilidad intermedia (1-5 casos/año) y el centro de habilidad alta (>5 casos/año), un 56,3% frente al 78,3% y 83,1%, respectivamente⁹⁶.

Es por ello que la cirugía siempre debe ser realizada por un equipo especializado dedicado al manejo de cánceres ginecológicos⁹⁷.

2.2.5. Dispositivos detectores del ganglio centinela

2.2.5.1 SONDAS GAMMADETECTORAS

El empleo de una sonda de detección de radiación gamma, permite la identificación intraoperatoria del ganglio centinela previamente marcado.

Existen muchos modelos de sondas detectoras, que difieren discretamente en sus parámetros de medida, siendo los más importantes la sensibilidad (eficiencia de detección) y la resolución espacial (capacidad de identificar dos puntos próximos). Las características específicas de cada sonda (tamaño del cristal, colimación, etc.) definen ambos parámetros, que son inversamente proporcionales. Existen básicamente dos tipos de sondas, que agrupamos por su funcionamiento similar:

- Detector de cristal de centelleo: NaI (TI), CsI (TI), LSO (Sm)
- Detectores de ionización (semiconductores) : CdTe, CdZnTe

En líneas generales puede decirse que las sondas semiconductoras presentan menor eficiencia de conteo, pero una mayor capacidad de colimación y por tanto menor influencia de la actividad de fondo.

Otra característica a valorar en las sondas detectoras es la ergonomía, ya que durante la cirugía es importante disponer de aparatos ligeros, de fácil transporte, con señal audible y con visor analógico de la actividad detectada^{98,99} (Figura 14).



Figura 14. Monitor portátil Navigator® con sondas de detección gamma inalámbricas para cirugía abierta y laparoscópica.

2.2.5.2 DETECTORES DE FLUORESCENCIA

CÁMARAS ÓPTICAS DETECTORAS DE FLUORESCENCIA

En la cirugía laparoscópica, habitual en los tumores de cérvix y endometrio, es imprescindible reconocer con claridad las estructuras anatómicas. En este contexto, la tecnología de reproducción de imagen debe sustituir la falta de la visión abierta sobre el área quirúrgica. Además de una imagen óptima, disponer de información adicional permite practicar la técnica quirúrgica con mayor precisión.

Esta información la proporcionan las cámaras ópticas de detección de fluorescencia, que aunque pueden utilizarse para cirugía abierta, en ginecología se utilizan principalmente en su modalidad laparoscópica.

La cirugía guiada por fluorescencia es una técnica que permite la visualización de estructuras invisibles para el ojo humano, que contienen ICG en su interior.

La imagen fluorescente se obtiene tras la excitación adecuada mediante un haz de luz NIR ($\lambda = 600 - 900 \text{ nm}$) proporcionado por un sistema óptico especializado que presentan estos dispositivos. Esta señal de fluorescencia, es captada por la propia cámara, que mediante filtros de paso de banda dedicados, detecta estos fotones de una manera similar a la forma en que se detectan los rayos gamma.

Los dispositivos tienen distintos modos para visualizar la señal de fluorescencia del ICG y la superpone sobre la imagen anatómica estándar con luz blanca, pudiendo visualizar con detalle todas las estructuras del campo quirúrgico. Para poder combinar las dos imágenes, se utiliza un

divisor de haz ordinario, que escinde y filtra el haz en dos partes: una para la cámara de luz visible y la otra para la cámara de luz NIR. Esto permite que ambas cámaras vean exactamente el mismo campo de visión.

Esta imagen combinada se proyecta en una pantalla, adaptándose fácilmente a las necesidades de la actividad quirúrgica y proporciona imágenes en tiempo real, sin alterar el ritmo habitual del quirófano (Figura 15).



Figura 15. Cámara óptica de detección de fluorescencia KARL STORZ OPAL1®, que presenta la capacidad de funcionar en modo dual para detección de luz blanca y señal de fluorescencia.

SONDA OPTO-NUCLEAR

Se trata de una sonda gamma convencional que ha sido modificada para detectar también la señal de fluorescencia, incluyendo fibras de iluminación y detección de luz, configuradas para excitar y detectar ICG.

Desde una perspectiva de ingeniería, la sonda opto-nuclear (Eurorad S.A., Eckbolsheim, Francia) es muy similar a la sonda gamma convencional, únicamente que para la excitación de ICG, lleva integrada una fuente láser de banda estrecha (785 nm). Además, para la detección de la señal de emisión fluorescente de ICG, y para excluir la luz láser reflejada, posee un filtro de corte de banda ancha (> 810 nm) delante del detector. El dispositivo opto-nuclear se muestra en la Figura 16.

Esta sonda está disponible en dos modalidades, una para cirugía abierta y otra para laparoscopia y ha demostrado ser la primera sonda que permite, con un único dispositivo, una valoración híbrida durante la cirugía, detectando las señales gamma y de fluorescencia conjuntamente¹⁰⁰.

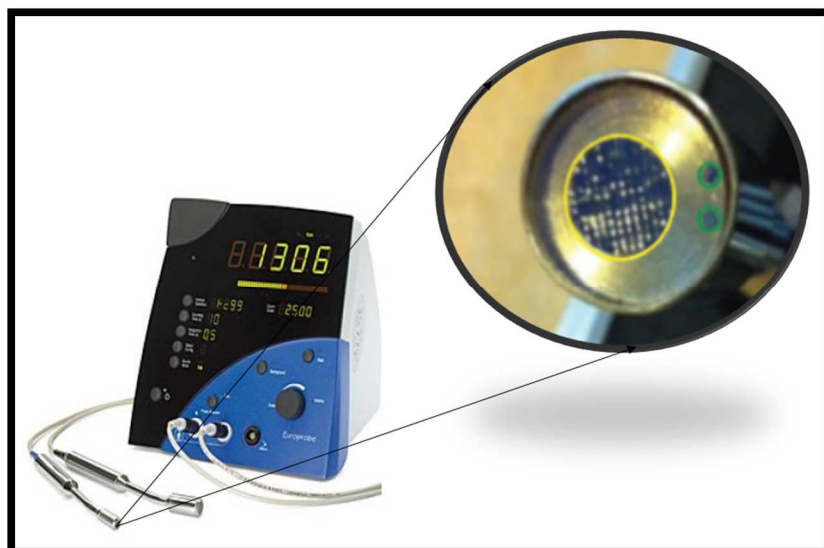


Figura 16. Sonda opto-nuclear Europrobe 3® de detección dual que permite combinar la detección de la señal gamma tradicional con la detección de la señal de fluorescencia.

3. APLICACIÓN DE LA CIRUGÍA RADIOGUIADA EN EL CÁNCER GINECOLÓGICO

3.1 Indicaciones actuales y perspectivas futuras

3.1.1 Cáncer de cérvix

Según las directrices de la NCCN de 2022, la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de cérvix está indicada en etapas precoces de la enfermedad (estadio IA1 con invasión linfovascular, IA2, IB1, IB2 y IIA1)².

Los metanálisis de datos agrupados de estudios del ganglio centinela muestran tasas de detección de hasta el 92% y sensibilidades de hasta el 90%^{101,102}. El estudio longitudinal SENTICOL demostró que la biopsia selectiva del ganglio centinela bilateral proporciona una evaluación más fiable de la infiltración metastásica y menor número de falsos negativos que la detección unilateral. Esta investigación apoya la realización de una linfadenectomía ipsilateral si no se detectan ganglios centinela en una hemipelvis, tal y como se describe en el algoritmo de detección del ganglio centinela^{103,104}. Los mejores resultados de detección se obtienen con los tumores menores de 2 cm de diámetro, la utilización de doble trazador (colorante azul más radiotrazador) o la inyección de ICG, la realización de cirugía laparoscópica, la valoración minuciosa por parte del cirujano con la extirpación de todos los ganglios sospechosos o aumentados de tamaño independientemente de los ganglios centinela y con el uso de la inmunohistoquímica en la evaluación anatomopatológica^{104,105}.

Puesto que a pesar de todos estos datos, la biopsia selectiva del ganglio centinela, por sí sola, todavía no se considera el patrón oro para la estadificación del ganglio centinela en cáncer de cérvix, se han iniciado ensayos clínicos prospectivos con una gran cohorte utilizando colorante azul, ICG o radiotrazador. Actualmente se encuentran abiertos y en fase de reclutamiento:

- 1) El ensayo SENTIX (NCT02494063), es un ensayo observacional multicéntrico prospectivo que tiene como objetivo evaluar la tasa de recurrencia a los 2 años después de la biopsia selectiva del ganglio centinela¹⁰⁶.

- 2) El ensayo PHENIX (NCT02642471) es un ensayo aleatorizado multicéntrico que tiene como objetivo comparar los resultados oncológicos de la biopsia selectiva del ganglio centinela con la linfadenectomía pelviana, en pacientes con y sin metástasis del ganglio centinela a través de la supervivencia libre de enfermedad a los 2 y 3 años, respectivamente¹⁰⁷.
- 3) El ensayo SENTICOL III es un ensayo prospectivo multicéntrico aleatorizado que tiene como objetivo comparar la supervivencia libre de enfermedad a los 3 años, entre la biopsia selectiva del ganglio centinela sola y la biopsia selectiva del ganglio centinela con linfadenectomía pelviana⁴.

3.1.2 Cáncer de endometrio

Hasta el 90% de las pacientes presentan ausencia de infiltración ganglionar en las piezas de linfadenectomía. Además, algunos estudios cuestionan el valor terapéutico de ésta en el cáncer de endometrio^{108,109}. Por lo tanto, existe un subconjunto de pacientes que probablemente no vayan a beneficiarse de ella; sin embargo, es difícil identificar preoperatoriamente a estas pacientes debido a los factores impredecibles de cambio en grado y profundidad de invasión en el estudio histopatológico final. Las guías recomiendan que se realice una linfadenectomía en pacientes seleccionadas con cáncer de endometrio y añadir disección linfática paraaórtica en pacientes de alto riesgo¹¹⁰.

Las últimas guías clínicas ESMO-ESGO-ESTRO para el cáncer de endometrio, recomiendan la biopsia selectiva del ganglio centinela en las pacientes con bajo riesgo de invasión ganglionar, en las que la linfadenectomía sistemática no está recomendada^{5,10}, con el fin de identificar las pacientes con metástasis ganglionares, inferior al 10%, gracias a la ultraestadificación.

Y según las directrices de la NCCN de 2022, la biopsia selectiva del ganglio centinela también se puede considerar en pacientes con alto riesgo de invasión ganglionar en el contexto de una aparente enfermedad confinada al útero, con el fin de mejorar la estadificación ganglionar¹¹¹. Históricamente, la detección del ganglio centinela ha sido controvertida en este grupo de pacientes, sin embargo, recientemente, se han publicado resultados prometedores como posible alternativa a la linfadenectomía completa^{112,113}.

El ensayo FIRES, es el estudio prospectivo multicéntrico más grande hasta la fecha (n = 385), que comparó la detección del ganglio centinela con la linfadenectomía para el cáncer de endometrio de todas las histologías y grados. Detectó al menos un ganglio centinela en el 86% de las pacientes. La sensibilidad fue del 97,2% y el valor predictivo negativo fue del 99,6%⁴⁰, lo que cuestiona la necesidad de la linfadenectomía sistemática.

El estudio multicéntrico SENTI-ENDO también evaluó los resultados a largo plazo y el impacto de la biopsia selectiva del ganglio centinela en la supervivencia de 125 pacientes con cáncer de endometrio en estadio I-II de riesgo bajo o intermedio, concluyendo que la biopsia selectiva del ganglio centinela podría ser una opción intermedia entre linfadenectomía sistemática y no realizar ninguna disección en estas pacientes¹¹⁴. Y en un metaanálisis actual, concluyen que la detección del ganglio centinela es una alternativa a la disección sistemática de los ganglios linfáticos, pero su efecto pronóstico sobre el cáncer de endometrio de alto riesgo aún no se ha estudiado y verificado en mayor profundidad mediante estudios con muestras grandes¹¹⁵.

Además, en la biopsia selectiva del ganglio centinela, la experiencia y el correcto análisis del cirujano a los detalles quirúrgicos son de gran importancia. Si no es posible realizar la detección del ganglio centinela en una hemipelvis, debe realizarse una disección ganglionar específica de ese lado. Se ha demostrado que seguir este algoritmo quirúrgico, descrito por el Memorial Sloan

Kettering Cancer Center (MSKCC) presenta buenos resultados, con una tasa de falsos negativos inferior al 5%^{112,116}.

En cuanto a las perspectivas de futuro, el algoritmo de la NCCN para la detección del ganglio centinela, es muy prometedor como estrategia moderna de estadificación para el cáncer de endometrio aparentemente confinado al útero. Mientras se espera el lanzamiento de ensayos quirúrgicos aleatorizados, varios centros de cáncer estadounidenses se han embarcado en estudios del ganglio centinela a partir de sus bases de datos. Comparando cohortes de pacientes de dos instituciones separadas, demostraron la validez del algoritmo del ganglio centinela sin detrimento aparente en la estadificación quirúrgica o los resultados oncológicos¹¹⁷. Además, se están llevando a cabo grandes estudios prospectivos de una sola institución que utilizan la inyección cervical del ganglio centinela seguida de linfadenectomía pelviana y paraaórtica para describir prospectivamente la tasa de detección y la tasa de falsos negativos^{118,119}.

El ensayo STATEC (Selective Targeting of Adjuvant Therapy in Endometrial Cancer) se trata de un estudio aleatorizado de fase 3 que compara la histerectomía con disección de ganglios pelvianos y paraaórticos con detección opcional del ganglio centinela versus histerectomía sin linfadenectomía paraaórtica y pelviana, en pacientes con cáncer de endometrio en estadio precoz de riesgo intermedio a alto. Este trabajo, permitirá valorar el papel de la linfadenectomía en este subgrupo de pacientes, con mayor riesgo prequirúrgico de invasión ganglionar.

3.1.3 Trazador Híbrido

El reciente desarrollo de los trazadores híbridos (^{99m}Tc-nanocoloide de albúmina-ICG), supone una potencial revolución en la biopsia selectiva del ganglio centinela, ya que combinan las propiedades beneficiosas de ambos componentes (señal gamma y señal de fluorescencia).

Este trazador híbrido ha demostrado una detección más eficiente y precisa de la localización de los ganglios centinela, con respecto al colorante azul y a los compuestos por separado^{60,63-67} en otras patologías. El trazador híbrido ha sido utilizado en la detección de diferentes tipos de tumores urológicos^{57,61,64,120}, mejorando la detección en áreas con elevada actividad de fondo; pero en ginecología, sólo se ha publicado su uso en el cáncer de vulva^{62,121}. En esta indicación, ha demostrado un rendimiento igual o superior al uso exclusivo del radiotrazador o del ICG por separado con la ventaja añadida de que reduce hasta cinco veces la dosis de ICG administrada y realizando una única inyección a las pacientes.

Hasta este momento, no se ha estudiado el papel y la viabilidad de la detección híbrida del ganglio centinela en el cáncer ginecológico de cérvix y de endometrio.

Existe un ensayo clínico aleatorizado con doble brazo, actualmente en fase de reclutamiento (el HYBRID ENDONODE), que compara el uso del trazador híbrido respecto al radiotrazador solo, en cáncer de endometrio de alto riesgo.

En el cáncer de cérvix, el radiotrazador o el ICG en solitario, proporcionan elevadas tasas de detección del ganglio centinela, pero lo aconsejable según las guías clínicas es realizar la técnica combinada de radiotrazador más colorante vital. En este sentido, el uso del trazador híbrido en cáncer de cérvix, mantendría el rendimiento igual o superior de los trazadores por separado, sin la necesidad de realizar doble inyección.

Sin embargo, en el cáncer de endometrio la detección del ganglio centinela únicamente con el radiotrazador no es tan elevada como en otros tumores y la opción de inyectar ICG, de forma aislada por vía cervical, no permite obtener un mapa linfático previo ni estudiar con fiabilidad los ganglios paraaórticos. El trazador híbrido permitiría una detección más eficiente y precisa de

la localización de los ganglios centinela, con respecto al uso de los dos componentes por separado y con la ventaja añadida de que se realiza en una única inyección. Especialmente en el área paraaórtica, el trazador híbrido queda retenido en el ganglio centinela, a diferencia de otros colorantes que presentan mayor difusión, y permite su identificación en mayor número de casos.

En este proyecto se evalúa la aplicabilidad de este nuevo trazador híbrido en estos tumores uterinos.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS DE TRABAJO:

La detección híbrida del [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG es un nuevo método de estudio del ganglio centinela, cuyos resultados preliminares en algunos tumores muestran superioridad sobre los métodos convencionales de detección. Su potencial aplicación sobre tumores ginecológicos da lugar al planteamiento de las siguientes hipótesis de trabajo en este proyecto:

1. La detección del ganglio centinela en pacientes con cáncer de endometrio de riesgo alto e intermedio, mediante trazador híbrido ([^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG) es factible y permitirá una mayor tasa de detección que la obtenida mediante radiotrazador ([^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina) únicamente.
2. La detección del ganglio centinela en pacientes con cáncer de cérvix utilizando un trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG, es viable y permitirá una mayor tasa de detección que la obtenida mediante radiotrazador ([^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina) combinado con colorante azul (azul de metileno), utilizado actualmente.
3. La sonda opto-nuclear con detección dual, detecta ambas señales (gamma y de fluorescencia) y permitirá conseguir resultados óptimos en la localización laparoscópica del ganglio centinela en tumores ginecológicos mediante el uso del trazador híbrido ([^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG).

OBJETIVOS

OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la utilidad y viabilidad del trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG en la biopsia selectiva del ganglio centinela en tumores ginecológicos (cáncer de cérvix y endometrio), así como de la tecnología asociada para su detección.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Definir el patrón de drenaje linfático en la linfogammagrafía prequirúrgica del cáncer de endometrio, utilizando el trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG.
2. Calcular el porcentaje de localización intraoperatoria del ganglio centinela en el cáncer de endometrio, utilizando el trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG y valorar si es superior a la utilización exclusiva del radiotrazador.
3. Definir el patrón de drenaje linfático en la linfogammagrafía prequirúrgica del cáncer de cérvix, utilizando el trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG.
4. Determinar el porcentaje de localización intraoperatoria del ganglio centinela en el cáncer de cérvix, utilizando el trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG y valorar si es superior a la obtenida al inyectar la combinación de radiotrazador [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina y colorante azul.
5. Valorar la detección dual intraoperatoria del ganglio centinela utilizando una sonda opto-nuclear durante el procedimiento por laparoscopia.

MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

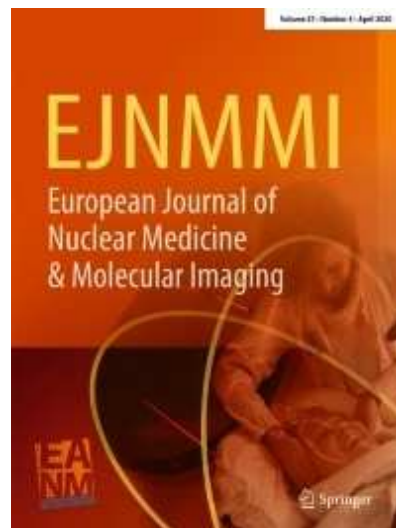
La descripción de las pacientes, la metodología utilizada, así como los resultados encontrados en las diferentes investigaciones realizadas, se encuentran detalladamente explicados en las secciones de “Material and Methods” y “Results” de cada uno de los tres artículos que constituyen el cuerpo de la presente tesis doctoral. Los tres artículos se incluyen a continuación tal y como se encuentran en la literatura científica.

ARTÍCULO 1

ROLE OF ICG-^{99m}Tc-NANOCOLLOID FOR SENTINEL LYMPH NODE DETECTION IN CERVICAL CANCER: A PILOT STUDY


Pilar Paredes, Sergi Vidal-Sicart, Francisco Campos, Andrés Tapias, Nuria Sánchez-Izquierdo, Sergio Martínez, Lorena Carballo, Jaume Pahisa, Aureli Torné, Jaume Ordi, Francesc Carmona, Francisco Lomeña

Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2017;44:1853-1861. DOI 10.1007/s00259-017-3706-4



IF JCR 2017: 7,704 Cuartil 1

Role of ICG-^{99m}Tc-nanocolloid for sentinel lymph node detection in cervical cancer: a pilot study

Pilar Paredes^{1,3}  · Sergi Vidal-Sicart^{1,3} · Francisco Campos^{2,3} · Andrés Tapias¹ · Nuria Sánchez¹ · Sergio Martínez^{3,4} · Lorena Carballo² · Jaume Pahisa^{3,4} · Aureli Torné^{3,4} · Jaume Ordi^{3,5,6} · Francesc Carmona^{3,4} · Francisco Lomeña^{1,3}

Received: 9 January 2017 / Accepted: 11 April 2017
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017

Abstract

Purpose Sentinel lymph node biopsy (SLNB) can be used for nodal staging in early cervical cancer. For this purpose, the tracers most commonly used are radiotracers based on technetium. For the last decade, indocyanine green (ICG) has been used as a tracer for SLNB in other malignancies with excellent results and, more recently, a combination of ICG and a radiotracer has been shown to have the advantages of both tracers. The aim of this study was to evaluate the role of ICG-^{99m}Tc-nanocolloid in SLN detection in patients with cervical cancer. **Methods** This prospective study included 16 patients with cervical cancer. The hybrid tracer was injected the day (19–21 h) before surgery for planar and SPECT/CT lymphoscintigraphy. Blue dye was administered periorificially in 14 patients. SLNs were removed according to their distribution on lymphoscintigraphy and when radioactive, fluorescent and/or stained with blue dye. Nodal specimens were pathologically analysed for metastases including by immunochemistry.

Results Lymphoscintigraphy and SPECT/CT showed drainage in all patients. A total of 69 SLNs were removed, of which 66 were detected by their radioactivity signal and 67 by their fluorescence signal. Blue dye identified only 35 SLNs in 12 of the 14 patients (85.7%). All patients showed bilateral pelvic drainage. Micrometastases were diagnosed in two patients, and were the only lymphatic nodes involved.

Conclusions SLNB with ICG-^{99m}Tc-nanocolloid is feasible and safe in patients with early cervical cancer. This hybrid tracer provided bilateral SLN detection in all patients and a higher detection rate than blue dye, so it could become an alternative to the combined technique.

Keywords Sentinel lymph node · Cervical cancer · Hybrid tracer · Indocyanine green · ^{99m}Tc-Nanocolloid · Radiotracer

Introduction

Pelvic and para-aortic lymph node involvement is the most important prognostic factor in cervical cancer [1, 2], including micrometastatic disease [3]. Imaging diagnostic procedures such as computed tomography (CT), magnetic resonance (MR) and positron emission tomography (PET) show low sensitivity due to lack of detection of micrometastatic disease [4]. Therefore, none of these can replace surgical staging with lymph node dissection (LND). In this scenario, the sentinel lymph node biopsy (SLNB) procedure has a well-defined role [5, 6] due to its low false-negative rate. SLNB involves injection of a tracer, including the combined injection of a blue dye and a radiotracer, and has the highest sensitivity for the detection of nodal involvement [7, 8]. Radiotracer injection provides lymphatic mapping before surgery that allows selection of the optimal surgical approach [9]. In cervical cancer, three lymphatic areas have to be considered: right pelvic, left pelvic

✉ Pilar Paredes
pparedes@clinic.ub.es; pparedes@santpau.es

¹ Nuclear Medicine Department, Hospital Clinic, Villarroel, 170 08036 Barcelona, Spain

² Nuclear Medicine Department, Radiopharmacy Unit, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

³ Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

⁴ Obstetrics and Neonatology, Hospital Clinic, Institut Clínic of Gynecology, Barcelona, Spain

⁵ Department of Pathology, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

⁶ Centre de Recerca en Salut Internacional de Barcelona (CRESIB), Barcelona, Spain

and para-aortic. If a pelvic area shows no hot spots, dissection of this nodal region is required because of the possibility of a metastatic blockage [10]. On the contrary, if a para-aortic area shows no drainage, LND is not required.

During the last decade, the fluorescent dye indocyanine green (ICG) has been used for lymphatic mapping. This dye, invisible to the human eye, fluoresces in the near-infrared region and this can be detected intraoperatively (<1 cm depth penetration) using a dedicated fluorescence camera. ICG, a tracer for SLN detection, has been used in the detection of several types of tumour [11–16] and results in higher detection rates than blue dyes [14, 17–19]. In gynaecology, ICG has been evaluated in the detection of vulvar [17, 20, 21], endometrial [15] and cervical cancer [22], but the lack of preoperative lymphoscintigraphic images means that the use of ICG does not provide guidance towards unexpected areas. In order to combine the potential of radioguided and fluorescence-guided surgery approaches, a hybrid tracer has been developed (ICG-^{99m}Tc-nanocolloid), which consists of both ^{99m}Tc-nanocolloid and ICG [23]. This hybrid tracer has been evaluated in the detection of different types of tumour including urological malignancies such as prostate cancer [24, 25] and penile cancer [26, 27], and improves the detection in areas with high background signal, but in gynaecology its use has only been reported in vulvar cancer [21, 28]. In this indication, this hybrid tracer provides a high rate of detection of SLNs (96–100%) and added advantage in the form of a significant reduction in the dose of ICG of up to five times than when injected alone [28].

The aim of this study was to evaluate the role and feasibility of ICG-^{99m}Tc-nanocolloid tracer in SLN detection in cervical cancer.

Materials and methods

Patients

This was a prospective, pilot study to evaluate the feasibility of ICG-^{99m}Tc-nanocolloid. Between May 2014 and June 2016, 16 patients with early cervical cancer were eligible for SLNB detection and were consecutively enrolled. Their mean age was 43.5 years (standard deviation 9.15 years, range 30–57 years), and their body mass index (BMI) ranged from 12.46 to 35.43 kg/m². Informed written consent was obtained from all patients included in the study (HCB/2014/0404). Patient characteristics are presented in Table 1.

The criteria for performing SLNB in patients with cervical cancer were International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stage IA1 with lymphovascular invasion, IA2 or IB1. The exclusion criteria were: (1) suspected extra-uterine involvement, (2) pathological pelvic or para-aortic lymph nodes, (3) history of surgery or radiotherapy to nodal

Table 1 Patient characteristics

Characteristic	Value
No. of patients	16
Age (years), mean ± SD	43.5 ± 9.1
Body mass index (kg/m ²), mean ± SD	24.00 ± 6.47
Presurgical FIGO stage, <i>n</i> (%)	
IA1 + lymphovascular invasion	1 (6.25)
IA2	2 (12.5)
IB1	13 (81.25)
Histology, <i>n</i> (%)	
Squamous	11 (68.75)
Adenocarcinoma	4 (25)
Endometrioid	1 (6.25)

areas, and (4) contraindication for surgical treatment (age or comorbidities). Patients underwent SLNB that consisted of lymphoscintigraphy for preoperative SLN mapping and laparoscopic surgical SLN resection. Pelvic and para-aortic LND was performed only when intraoperative analysis showed a metastasis-positive SLN.

Tracer preparation

ICG-^{99m}Tc-nanocolloid was prepared with a higher mass of ICG than previously reported [25] in order to compensate for subsequent dilution of the hybrid radiotracer and eventual lower detection sensitivity of the fluorescence laparoscopic lamp. ^{99m}Tc-Nanocolloid was prepared by adding 2 mL of fresh pertechnetate in physiological saline solution (SS) with an activity of 185–333 MBq to a commercial vial of nanocolloid containing 0.5 mg of albumin colloid (Nanocoll®; GE Healthcare, Saluggia, Italy). After 30 min of incubation at room temperature, the ^{99m}Tc-nanocolloid solution was briefly exposed to air passed through a needle. To prepare the ICG solution, 5 ml of sterile water for injection was added to a vial containing 25 mg ICG (Pulsion Medical Systems, Feldkirchen, Germany). ICG solution (0.35 mg, 0.07 mL) was transferred to the ^{99m}Tc-nanocolloid vial. Following 10 min of incubation at room temperature, radiochemical purity was checked by fast silica gel radiochromatography using two different mobile phases: methanol to assess free ICG migration at retention factor (Rf) 1.0, and SS to assess pertechnetate migration at Rf 1.0, with ICG-^{99m}Tc-nanocolloid at Rf 0.0.

Tracer administration

Patients attended the Nuclear Medicine Department the day prior to surgery. An activity of 111 MBq of hybrid tracer was injected periorificially into each quadrant of the cervix to a total volume of 2 ml (four injections of 0.5 ml; Fig. 1) 19–21 h



Fig. 1 Hybrid tracer injection. Hybrid tracer is injected periorificially (at 9 o'clock) in a patient with presurgical stage IB1 cervical cancer

before surgery. At the start of cervical cancer surgery, 2 ml of a 50% solution of blue dye in saline was injected following the same procedure as used for injection of the hybrid tracer in 14 of the 16 patients. Two patients refused injection of blue dye. Adverse reactions were recorded during and after injection of the hybrid tracer.

Preoperative imaging

Lymphoscintigraphy included planar images (anterior and lateral views) performed at 30 and 120 min after ICG-^{99m}Tc-nanocolloid injection. A SPECT/CT scan (matrix 128 × 128 and 25 s per frame for SPECT) of the pelvic and abdominal region was also performed after acquisition of the late planar image using a dual-head gamma camera (Infinia Hawkeye 4; GE Healthcare, Milwaukee, WI) in 15 patients. One patient refused the tomographic procedure. After SPECT/CT image reconstruction, volume-rendered images were generated using an OsiriX Dicom viewer (Pixmeo SARL, Geneva, Switzerland) to obtain a three-dimensional presentation to improve localization of SLNs (Fig. 2). Images were examined by two nuclear medicine physicians and discussed with the surgeon prior to surgery.

Surgery

During surgery, a lymph node was considered to be a SLN when: (a) it was the first node to be visualized on lymphoscintigraphy or showed increased activity on later images or a hot spot was seen on SPECT/CT in a different nodal area than on planar lymphoscintigraphy; (b) it was the most active node during surgery as determined by gamma tracing; (c) it was blue; or (d) it was fluorescent. Each side of the pelvis

and the para-aortic area were considered independent lymphatic regions.

A laparoscopic hand-held gamma probe (Navigator; USSC, Norwalk, CT) that was compatible with a 12-mm diameter laparoscopic trocar was used for acoustic gamma tracing. For fluorescence guidance, a dedicated laparoscope was used that included a near-infrared fluorescence imaging option (Karl Storz Image1 S™; Karl Storz, Tuttlingen, Germany). This system allowed the surgeon to switch between white light imaging and near-infrared fluorescence imaging as desired. Blue nodes were identified by simple visual inspection (Fig. 2). If a SLN was detected by blue dye or radiotracer but not by fluorescence, the absence of fluorescence was confirmed *ex vivo* by inspection of the node under a near-infrared optical imaging system in a dark environment in the operating theatre.

Histopathological evaluation

SLNs were pathologically evaluated during the surgical procedure by imprint cytology and histological examination with haematoxylin and eosin staining of 2-mm frozen serial slices. All SLNs were then formalin-fixed and paraffin-embedded, and delayed pathological evaluation included haematoxylin and eosin plus immunohistochemical staining with a broad-spectrum cytokeratin (CK AE1-AE3 and CK7; Dako®, Glostrup, Denmark). Nodes obtained by LND were histologically evaluated with haematoxylin and eosin staining.

Statistical analysis

Patient characteristics (categorical data) are presented as absolute values and percentage frequencies. The number of SLNs removed and their intraoperative imaging signal were recorded. A paired *t* test was used to evaluate the significance of differences between the different imaging modalities. Differences were considered significant when the *p* value was lower than 0.05. A commercial statistical package (StatCrunch 5.0™; Pearson Education) was used.

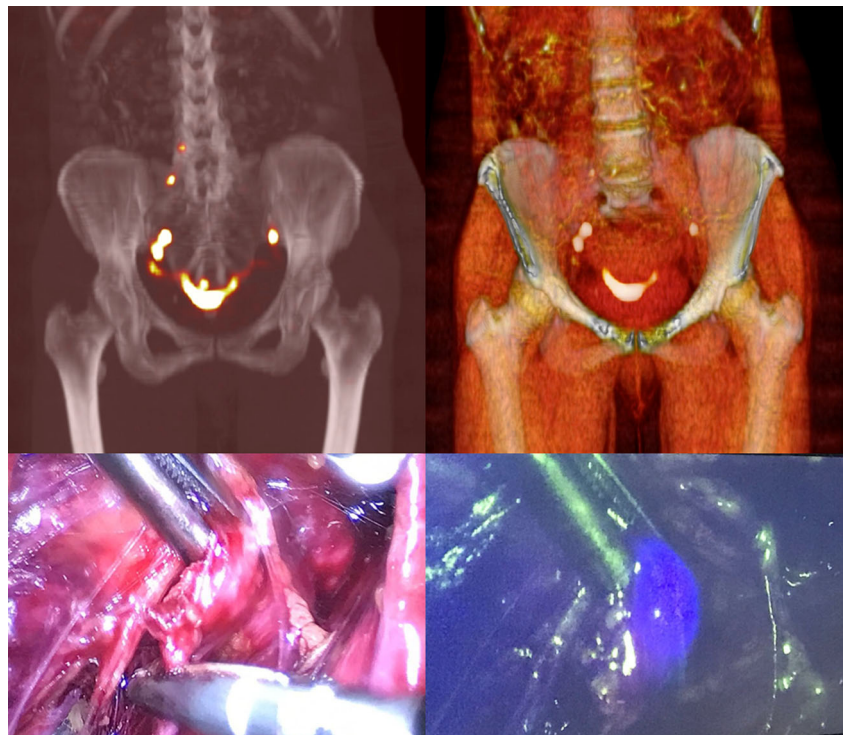
Results

The lymphoscintigraphic, surgical and histopathological results are summarized as a flowchart in Fig. 3.

Lymphoscintigraphy

Bilateral pelvic lymphatic drainage was seen on lymphoscintigraphy in all 16 patients, and yielded a total of 63 SLNs (mean 3.9 SLNs per patient). In one patient a para-aortic SLN was detected. In all patients drainage was seen on the early planar images that were obtained 30 min after tracer

Fig. 2 SLN identification: before and during surgery in a 47-year-old patient with presurgical FIGO stage IB1 cervical cancer. *Top:* Maximum intensity projection image (*left*) and fused volume-rendered image (*right*) from SPECT/CT. The images show bilateral drainage to the left external iliac chain and the right external and common iliac nodes. *Bottom:* Left iliac external SLN visualized during surgery with white light (*left*) and its near-infrared emission under an optical near-infrared lamp (*right*)



injection. There was an increase in the number of SLNs from early to late images on planar scintigraphy (46 to 52 hot spots).

SPECT/CT performed in 15 patients showed a total of 61 SLNs, a greater number than planar images (Table 2).

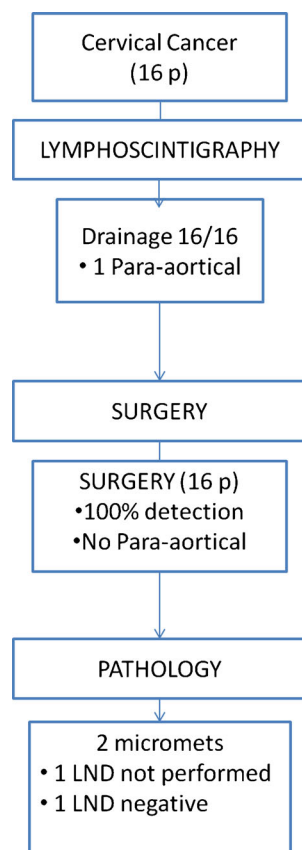


Fig. 3 Flowchart of the study

Surgery

The total number of SLNs removed during surgery was 69 (mean 4.3 SLN per patient), more than the number (63) identified by lymphoscintigraphy. In two patients, a lower number of SLNs were biopsied during surgery than identified preoperatively; four SLNs were identified on imaging in each patient but only three SLNs were removed. This was due to the interpretation of bilobulated SLNs as two different nodes on imaging. On the contrary, in five patients the number of SLNs biopsied during surgery was greater than the number identified by lymphoscintigraphy, with an increase from one to three SLNs per patient. In four of these five patients, SLNs were identified by both signals of the hybrid tracer, but in the remaining patient, one SLN was fluorescent but not radioactive, so it could not be identified by lymphoscintigraphy.

Of the 69 SLNs defined during surgery, 66 (95.65%) were identified by their radioactivity signal, 67 (97.1%) by their fluorescence signal and 35 (50.7%) by their blue coloration (mean 4.1, 4.2 and 2.5 SLNs, respectively, per patient; Table 3). Figure 4 shows the distribution of SLNs removed in relation to the signal used for their identification.

Bilateral SLNs were identified in all patients with the hybrid tracer by both signals. Blue dye revealed drainage in 12 of 14 patients (86%), with bilateral drainage only in 8 patients (67%). All blue nodes were also radioactive and/or

Table 2 Number of SLNs seen on planar lymphoscintigraphy and SPECT/CT

Patient	Planar (early)	Planar (late)	SPECT/CT
1	4	4	5
2	2	2	2
3	3	3	3
4	4	4	6
5	2	2	2
6	4	4	4
7	3	3	3
8	2	3	4
9	2	2	4
10	3	3	3
11	3	3	5
12	3	3	5
13	5	6	6
14	1	2	NP
15	2	4	5
16	3	4	4
Total	46	52	61

NP not performed

fluorescent, so blue dye did not increase the rate of detection of SLNs in relation to the hybrid tracer. The hybrid tracer detected the same numbers of SLNs in 13 patients. In one patient, the radioactivity signal revealed a higher number of SLNs than the

Table 3 Number SLNs removed during surgery in relation to the tracer and the signal used for their identification

Patient	SLNs removed	Identification				Patient BMI (kg/m ²)
		Radiotracer signal	Fluorescence signal	Both radiotracer and fluorescence signal	Blue dye uptake	
1	4	3	3	2	2	29.00
2	2	2	2	2	1	19.95
3	6	6	6	6	0	31.64
4	7	7	7	7	5	18.82
5	2	2	2	2	NP	19.03
6	5	5	5	5	4	12.46
7	3	3	3	3	1	18.83
8	5	4	5	4	2	30.49
9	3	3	3	3	3	34.41
10	5	5	5	5	4	23.05
11	5	5	5	5	4	20.80
12	5	5	5	5	5	19.72
13	6	6	6	6	0	22.75
14	3	3	3	3	NP	25.39
15	4	4	3	3	3	22.31
16	4	3	4	3	1	35.43
Total	69	66	67	64	35	–

NP not performed

fluorescence signal. In this patient, four SLNs were removed during surgery, of which three were fluorescent and four were radioactive, but SLNs were detected bilaterally by both methods. The absence of fluorescence signal in one SLN was confirmed ex vivo. This SLN showed blue coloration. On the other hand, in two patients the fluorescence signal revealed more SLNs than the radioactivity signal. In two other patients, the main guide for SLN resection was the fluorescence signal. The radioactivity signal was identified in vivo, but only after the SLN had been isolated from fat tissue. In no patient did the lack of one or other signal change the bilaterality of the drainage, or the number of territories explored.

Table 4 shows the differences in the numbers of SLNs detected between tracers. There were no significant differences between the radioactivity and fluorescence findings. The radioactivity signal and fluorescence signal revealed more SLNs than blue dye ($p = 0.0013$ and 0.0015 , respectively). Para-aortic drainage was seen in one patient on lymphoscintigraphy, but was not found during surgery (Fig. 5). No acute or early complications were recorded during surgery or the immediate postoperative period.

Histopathological results

On histopathological examination two patients showed micrometastatic disease measuring 1.0 mm and 1.5 mm. In one of these patients the disease was diagnosed by pathology during surgery, and an additional LND was performed. In this

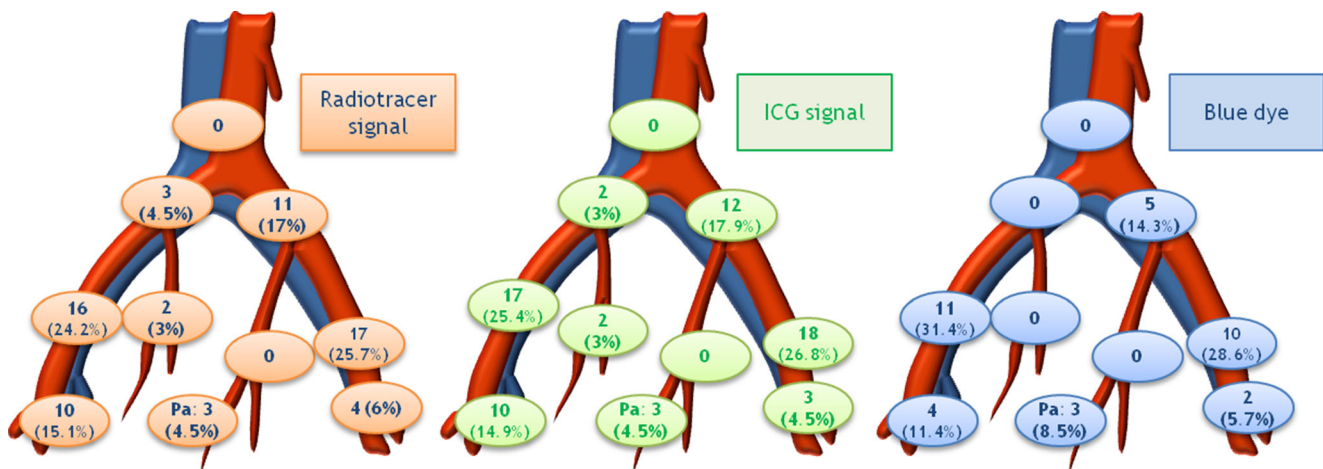


Fig. 4 Numbers and percentages of SLNs removed from the para-aortic and pelvic nodal areas (the common, external and internal iliac areas, the obturator fossa and the parametrial area) in relation to the method of detection: *left* radiotracer, *centre* fluorescence (ICG), *right* blue dye. Pa Parametrial

patient, the SLN was the only node involved. In the second patient, micrometastatic disease was diagnosed in the later pathological examination, so LND was not performed. Radiotherapy to the retroperitoneal and pelvic chains and close follow-up were performed in this patient.

Discussion

SLNB has evolved as an alternative to LND because it is less aggressive and is the most sensitive procedure to ensure nodal staging in cervical cancer [5]. Radiotracer combined with blue dye is the standard procedure used since it provides the highest SLN detection rate [29]. In the last 5 years, ICG has been used in gynaecology. It provides emission in the near-infrared region that can be identified by specific devices with near-infrared sensitivity. This properties of ICG offer an advantage over other dyes when the target lesion is located deep in the patient's body [18]. A recent meta-analysis showed no differences between ICG and the accepted combination of blue dye and a radiotracer in the detection of cervical and endometrial cancers [30]. The hybrid tracer, ICG-^{99m}Tc-nanocolloid, combines the advantages of both tracers, and its value has been reported in other pelvic malignancies, such as vulvar [21] and urological neoplasms [26, 27, 31], with high SLN detection rates (98% for vulvar cancer and 97% for penile cancer). In both these cancers, the

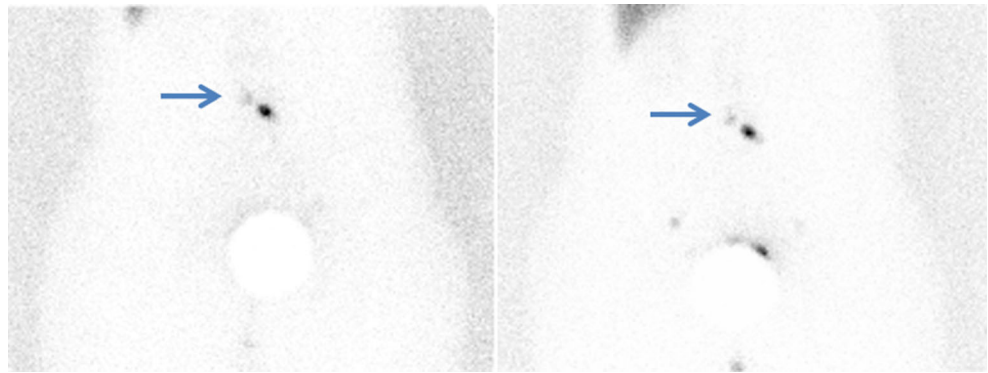
fluorescence signal from the compound allows more effective visualization of SLNs than provided by blue dye [21, 27]. Moreover, in other tumours, ICG provides easier identification of SLNs located close to the site of injection [31, 32]. In our series, blue dye was the least useful tracer for SLN identification, with a mean of 2.5 SLNs per patient, in contrast to 4.1 and 4.2 SLNs per patient for the radiotracer and ICG signals, respectively ($p = 0.0013$ and 0.0015), in accordance with the findings in previously reported series [19, 21, 27].

In five patients the number of SLNs biopsied during surgery was greater than found on lymphoscintigraphy. There are several explanations: the higher sensitivity of the gamma probe, the presence of tiny nodes adjacent to one another (cluster) seen as a single node on presurgical images, and the help of visual fluorescence or blue dye identification, especially in two patients with high a BMI (31.64 and 30.49 kg/m²). In the last of these cases, the fluorescence signal identified more SLNs than the radioactivity signal once fatty tissue had been dissected. In one patient para-aortic drainage was seen on lymphoscintigraphy, but could not be found during surgery. Despite the fact that more SLNs are identified during surgery than by lymphoscintigraphy, fluorescent, radioactive and blue para-aortic SLNs were not detected. This pattern may have occurred as a result of complete washout of the tracer during the 18 h between administration and surgery, indicating that this uptake really corresponded to a lymphatic loop or lake. In this patient, bilateral pelvic SLNs

Table 4 Difference in SLN detection between tracers

Comparison	Difference		<i>p</i> value
	Mean	95% confidence interval	
Radiotracer vs. fluorescence signal	-0.0625	-0.298-0.173	0.0798
Radiotracer signal vs. blue dye	1.857	0.774-2.939	0.0013
Fluorescence signal vs. blue dye	1.928	0.786-3.071	0.0015

Fig. 5 Lymphoscintigraphy in a 48-year-old woman with squamous cervical cancer presurgical FIGO stage IB1 showing para-aortic drainage. The early lymphoscintigraphic image (*left*) shows two hot spots: direct para-aortic drainage (*arrow*) and a left common iliac SLN. The late image (*right*) still shows the identified hot spots and in addition bilateral pelvic drainage



were negative for involvement, so LND was not performed. At the time of this report, the patient was free of recurrence after 8 months of follow-up.

Histopathological examination showed micrometastatic disease in two patients. In one patient the size of the metastatic cells was 1 mm, small enough to be misdiagnosed in a routine pathological examination. The SLN involved was detected by both signals, radiotracer and ICG, and, of the nodes dissected in this patient, it was the only node involved. In the other patient, the size of the metastatic cells was 1.5 mm. The micrometastatic disease was detected in the postoperative delayed examination, so LND was not performed. As discussed above, radiotherapy to the retroperitoneal and pelvic chains was performed in this patient. Micrometastatic disease also plays an important prognostic role in cervical cancer [3], and is the reason why SLNB cannot be omitted in the assessment of nodal status in these tumours.

Our work had some limitations. First, the study included only a small number of patients, but to the best of our knowledge, this is the first study investigating the use of ICG-^{99m}Tc-nanocolloid in the detection of cervical cancer. This study showed the feasibility of the procedure, based on preoperative lymphoscintigraphy and SPECT/CT images and intraoperative fluorescence imaging. The use of the hybrid tracer allowed preoperative surgical planning and intraoperative navigation toward lesions using the radioactivity signal, and accurate node localization and visualization using the fluorescence signal. The highest preoperative SLN detection rate was achieved with SPECT/CT, as reported previously [9]. The statistical analysis in this study did not show differences between the different ICG-^{99m}Tc-nanocolloid signals. This hybrid tracer was able to detect at least one SLN in all patients on each side of the pelvis. In spite of the hybrid tracer being a single tracer, three SLNs (3 of 69, 4.3%) from three different patients were detected by only one of the signals, one SLN by the radiotracer signal only and two SLNs by the ICG signal only. In the first case, the lack of fluorescence detection can be explained by the sensitivity of the optical lamp. The use of a more sensitive device, such as an optonuclear probe [33], could detect fluorescence in ambiguous cases.

Although patients with cervical cancer are generally not obese, they occasionally have a high BMI. The fatty tissue around the nodes complicates the identification of both radioactivity and fluorescence signals, even when using an optonuclear probe. For those nodes with only a fluorescence signal (two SLNs), partial detachment of ICG from the nanocolloid in vivo could explain the lack of detection of the radiotracer signal. This mismatch did not affect the number of nodal territories studied or lead to a change in the bilaterality. Previously reported studies of the use of ICG have tended to use fluorescence instead of radiotracers to avoid the performance of lymphoscintigraphy [30, 34]. In our opinion, the use of a radiotracer cannot be omitted because the preoperative image becomes a map for the surgeons that, although not confirmed in this series, serves as a guide through unexpected territories [35, 36]. Finally, in tumours with drainage into the abdominal cavity, because of the location of SLNs, more time is required for the surgical procedure and early complications may occur. No complications were recorded in our series during injection in any of the surgical procedures. These results are in accordance with those reported for prostate cancer [24, 37] and confirm the feasibility of the procedure.

Conclusion

SLNB with ICG-^{99m}Tc-nanocolloid is feasible and safe in patients with early cervical cancer. The hybrid tracer provided bilateral SLN detection in all patients with a higher detection rate than blue dye, so it could become an alternative to the current combined technique.

Acknowledgements The authors thank Erika Padilla-Morales for her assistance with English language editing and critical review of the manuscript.

Compliance with ethical standards

Funding This work was supported by AGAUR (Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca) 2014 SGR grant 279.

Conflict of interest None.

Ethical approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the principles of the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

1. Stehman FB, Bundy BN, DiSaia PJ, Keys HM, Larson JE, Fowler WC. Carcinoma of the cervix treated with radiation therapy. I. A multi-variate analysis of prognostic variables in the Gynecologic Oncology Group. *Cancer*. 1991;67:2776–85.
2. Waggoner SE. Cervical cancer. *Lancet*. 2003;361:2217–25.
3. Cibula D, Abu-Rustum NR, Dusek L, Zikán M, Zaal A, Sevcik L, et al. Prognostic significance of low volume sentinel lymph node disease in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2012;124:496–501.
4. Miccò M, Sala E, Lakhman Y, Hricak H, Vargas HA. Role of imaging in the pretreatment evaluation of common gynecological cancers. *Womens Health (Lond)*. 2014;10:299–321.
5. Giammarile F, Bozkurt M, Cibula D, Pahisa J, Oyen W, Paredes P, et al. The EANM clinical and technical guidelines for lymphoscintigraphy and sentinel node localization in gynaecological cancers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41:1463–77.
6. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®): Cervical Cancer. Fort Washington, PA: National Comprehensive Cancer Network; 2017.
7. Rob L, Strnad P, Robova H, Charvat M, Pluta M, Schleglerova D, et al. Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2005;98:281–8.
8. Paredes P, Vidal-Sicart S, García S, Pahisa J, Torné A, Ordi J, et al. Usefulness of the sentinel node in the treatment and staging of initial cervix cancer. *Rev Esp Med Nucl*. 2004;23:253–8.
9. Collarino A, Vidal-Sicart S, Perotti G, Valdes Olmos RA. The sentinel node approach in gynaecological malignancies. *Clin Transl Imaging*. 2016;4:411–20.
10. Domenech B, Paredes P, Rubí S, Pahisa J, Vidal-Sicart S, Pons F. Mirror-image lymph node in FDG PET/CT and SPECT/CT for sentinel node detection. *Clin Nucl Med*. 2014;39:e241–2.
11. Jeschke S, Beri A, Grüll M, Ziegerhofer J, Prammer P, Leeb K, et al. Laparoscopic radioisotope-guided sentinel lymph node dissection in staging of prostate cancer. *Eur Urol*. 2008;53:126–32.
12. Namikawa K, Yamazaki N. Sentinel lymph node biopsy guided by indocyanine green fluorescence for cutaneous melanoma. *Eur J Dermatol*. 2011;21:184–90.
13. Kitai T, Kawashima M. Transcutaneous detection and direct approach to the sentinel node using axillary compression technique in ICG fluorescence-navigated sentinel node biopsy for breast cancer. *Breast Cancer*. 2012;19:343–8.
14. Schaafsma BE, Verbeek FP, Peters AA, van der Vorst JR, de Kroon CD, van Poelgeest MI, et al. Near-infrared fluorescence sentinel lymph node biopsy in vulvar cancer: a randomised comparison of lymphatic tracers. *BJOG*. 2013;120:758–64.
15. Plante M, Touhami O, Trinh X-B, Renaud M-C, Sebastianelli A, Grondin K, et al. Sentinel node mapping with indocyanine green and endoscopic near-infrared fluorescence imaging in endometrial cancer. A pilot study and review of the literature. *Gynecol Oncol*. 2015;137:443–7.
16. Stoffels I, Leyh J, Pöppel T, Schadendorf D, Klode J. Evaluation of a radioactive and fluorescent hybrid tracer for sentinel lymph node biopsy in head and neck malignancies: prospective randomized clinical trial to compare ICG-(99m)Tc-nanocolloid hybrid tracer versus (99m)Tc-nanocolloid. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;42:1631–8.
17. Crane LM, Themelis G, Arts HJ, Buddingh KT, Brouwers AH, Ntziachristos V, et al. Intraoperative near-infrared fluorescence imaging for sentinel lymph node detection in vulvar cancer: first clinical results. *Gynecol Oncol*. 2011;120:291–5.
18. Sinno AK, Fader AN, Roche KL, Giuntoli RL, Tanner EJ. A comparison of colorimetric versus fluorometric sentinel lymph node mapping during robotic surgery for endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2014;134:281–6.
19. Diab Y. Sentinel lymph nodes mapping in cervical cancer a comprehensive review. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27:154–8.
20. Hutteman M, van der Vorst JR, Gaarenstroom KN, Peters AA, Mieog JS, Schaafsma BE, et al. Optimization of near-infrared fluorescent sentinel lymph node mapping for vulvar cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;206:89.e1–5.
21. Mathéron HM, van den Berg NS, Brouwer OR, Kleinjan GH, van Driel WJ, Trum JW, et al. Multimodal surgical guidance towards the sentinel node in vulvar cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;131:720–5.
22. Crane LM, Themelis G, Pleijhuis RG, Harlaar NJ, Sarantopoulos A, Arts HJ, et al. Intraoperative multispectral fluorescence imaging for the detection of the sentinel lymph node in cervical cancer: a novel concept. *Mol Imaging Biol*. 2011;13:1043–9.
23. Buckle T, Chin PT, van Leeuwen FW. (Non-targeted) radioactive/fluorescent nanoparticles and their potential in combined pre- and intraoperative imaging during sentinel lymph node resection. *Nanotechnology*. 2010;21:482001.
24. van der Poel HG, Buckle T, Brouwer OR, Valdés Olmos RA, van Leeuwen FWB. Intraoperative laparoscopic fluorescence guidance to the sentinel lymph node in prostate cancer patients: clinical proof of concept of an integrated functional imaging approach using a multimodal tracer. *Eur Urol*. 2011;60:826–33.
25. KleinJan GH, Bunschoten A, van den Berg NS, Olmos RA, Klop WM, Horenblas S, et al. Fluorescence guided surgery and tracer-dose, fact or fiction? *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016;43:1857–67.
26. Brouwer OR, Buckle T, Vermeeren L, Klop WM, Balm AJ, van der Poel HG, et al. Comparing the hybrid fluorescent-radioactive tracer indocyanine green-99mTc-nanocolloid with 99mTc-nanocolloid for sentinel node identification: a validation study using lymphoscintigraphy and SPECT/CT. *J Nucl Med*. 2012;53:1034–40.
27. Brouwer OR, van den Berg NS, Mathéron HM, van der Poel HG, van Rhijn BW, Bex A, et al. A hybrid radioactive and fluorescent tracer for sentinel node biopsy in penile carcinoma as a potential replacement for blue dye. *Eur Urol*. 2014;65:600–9.
28. Verbeek FP, Tummers QR, Rietbergen DD, Peters AA, Schaafsma BE, van de Velde CJ, et al. Sentinel lymph node biopsy in vulvar cancer using combined radioactive and fluorescence guidance. *Int J Gynecol Cancer*. 2015;25:1086–93.
29. Altgassen C, Hertel H, Brandstädt A, Köhler C, Dürst M, Schneider A. Multicenter validation study of the sentinel lymph node concept in cervical cancer: AGO Study Group. *J Clin Oncol*. 2008;26:2943–51.
30. Ruscito I, Gasparri ML, Braicu EI, Bellati F, Raio L, Sehoulji J, et al. Sentinel node mapping in cervical and endometrial cancer: indocyanine green versus other conventional dyes – a meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2016;23:3749–56.
31. Frontado LM, Brouwer OR, van den Berg NS, Mathéron HM, Vidal-Sicart S, van Leeuwen FW, et al. Added value of the hybrid tracer indocyanine green-99mTc-nanocolloid for sentinel node

- biopsy in a series of patients with different lymphatic drainage patterns. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol.* 2013;32:227–33.
32. van den Berg NS, Brouwer OR, Klop WM, Karakullukcu B, Zuur CL, Tan IB, et al. Concomitant radio- and fluorescence-guided sentinel lymph node biopsy in squamous cell carcinoma of the oral cavity using ICG-(99m)Tc-nanocolloid. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2012;39:1128–36.
 33. van den Berg NS, Simon H, Kleinjan GH, Engelen T, Bunschoten A, Welling MM, et al. First-in-human evaluation of a hybrid modality that allows combined radio- and (near-infrared) fluorescence tracing during surgery. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2015;42:1639–47.
 34. Schaafsma BE, van der Vorst JR, Gaarenstroom KN, Peters AA, Verbeek FP, de Kroon CD, et al. Randomized comparison of near-infrared fluorescence lymphatic tracers for sentinel lymph node mapping of cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2012;127:126–30.
 35. Pandit-Taskar N, Gemignani ML, Lyall A, Larson SM, Barakat RR, Abu Rustum NR. Single photon emission computed tomography SPECT-CT improves sentinel node detection and localization in cervical and uterine malignancy. *Gynecol Oncol.* 2010;117:59–64.
 36. Hoogendam JP, Veldhuis WB, Hobbelink MG, Verheijen RH, van den Bosch MA, Zweemer RP. 99mTc SPECT/CT versus planar lymphoscintigraphy for preoperative sentinel lymph node detection in cervical cancer: a systematic review and metaanalysis. *J Nucl Med.* 2015;56:675–80.
 37. KleinJan GH, van den Berg NS, de Jong J, Wit EM, Thygessen H, Vegt E, et al. Multimodal hybrid imaging agents for sentinel node mapping as a means to (re)connect nuclear medicine to advances made in robot-assisted surgery. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2016;43:1278–87.

ARTÍCULO 2

CLINICAL USE OF AN OPTO-NUCLEAR PROBE FOR HYBRID SENTINEL NODE BIOPSY GUIDANCE: FIRST RESULTS

Sergi Vidal-Sicart, Antonio Seva, Francisco Campos, Nuria Sánchez-Izquierdo, Inmaculada Alonso, Jaume Pahisa, Xavier Caparrós, Andrés Perissinotti, Pilar Paredes, Fijs van Leeuwen

Int J Comput Assist Radiol Surg. 2019;14:409-416. DOI:10.1007/s11548-018-1816-5



IF JCR 2018: 2,155 Cuartil 2



Clinical use of an opto-nuclear probe for hybrid sentinel node biopsy guidance: first results

Sergi Vidal-Sicart¹ · Antonio Seva^{1,2} · Francisco Campos¹ · Núria Sánchez¹ · Immaculada Alonso³ · Jaume Pahisa³ · Xavier Caparrós³ · Andrés Perissinotti¹ · Pilar Paredes¹ · Fijis W. van Leeuwen⁴

Received: 17 March 2018 / Accepted: 26 June 2018 / Published online: 2 July 2018
© CARS 2018

Abstract

Introduction Guidelines advocate the use of combined detection techniques to achieve optimal results for sentinel node (SN) biopsy. The fluorescent and radioactive (dual-) tracer ICG-^{99m}Tc-nanocolloid has been shown to facilitate SN biopsy in several indications. It was reported that an opto-nuclear probe permitted the detection of near-infrared fluorescence and gamma-rays. The aim of the current study was to evaluate this device in a large patient group and to test it in both open and laparoscopic surgery implications.

Methods Thirty-three patients scheduled for SN biopsy with the dual-tracer were retrospectively analyzed. Pre-operative lymphoscintigraphy was performed in all patients; in 18 patients (55%), a SPECT/CT scan was also performed. Radioactive and fluorescent signatures in the SNs were assessed in vivo and ex vivo using the opto-nuclear probe.

Results One or more SNs were identified in all patients (identification rate 100%). Planar lymphoscintigraphic images revealed 95 hot spots that were considered as SNs. This number increased to 103 SNs when SPECT/CT was used. During surgery, 106 SNs were excised. In vivo, the fluorescence mode of the opto-nuclear probe was able to locate 79 SNs (74.5%). When the gamma-ray detection option of the same probe was used, this number increased to 99 SNs (93.3%). Ex vivo analysis revealed fluorescence in 93.3% of the excised nodes and radioactivity in 95.2%.

Conclusions This study underlines the feasibility of using the dual-tracer/opto-nuclear probe combination for SN resections. The use of the opto-nuclear technology has been extended to laparoscopic surgery. This study also underlines the fluorescence tracing can complement traditional radio-tracing approaches.

Keywords Bi-modal · Image-guided surgery · Sentinel node · Fluorescence · SPECT · Hybrid · Dual-tracer

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s11548-018-1816-5>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Sergi Vidal-Sicart
svidal@clinic.cat

- ¹ Nuclear Medicine Department, CDI, Hospital Clinic Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain
- ² Nuclear Medicine Department, Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla, Madrid, Spain
- ³ Gynaecology Department, ICGON, Hospital Clinic Barcelona, Barcelona, Spain
- ⁴ Interventional Molecular Imaging Laboratory, Department of Radiology, Leiden University Medical Hospital, Leiden, The Netherlands

Introduction

Sentinel node (SN) biopsy was introduced for melanoma and breast cancer in the last years of the twentieth century. Since then, this technique has also significantly improved the staging of other solid tumors (e.g. penile, vulvar and oral cavity) as well as applied in other malignancies like urological, gynaecological and gastrointestinal cancers. In all cases, the use of SN biopsy helps reduce the surgical morbidity caused by nodal dissection in patients free of lymphatic metastases [1–6].

Current guidelines advocate the use of combined detection techniques (blue dye + radiotracer) to achieve optimal intraoperative SN identification and reduce the risk of false negatives [7, 8].

However, the use of a radiotracer alone is now a frequent issue in clinical practice due to the inferior performance of

blue dyes and their cumbersome staining of the resection margins [9–11]. Although this procedure is straightforward in the SN identification of single SNs that are clearly separated from the injection site, the limited spatial resolution of gamma tracing may complicate nodal identifications in other cases. There are two main issues that could hamper the intraoperative SN detection: (a) the complexity of lymphatic drainage and the presence of important and delicate structures surrounding the lymph nodes, and (b) the proximity of the radiotracer's injection site may mask the activity coming from the SN due to the high radioactive background (shine-through phenomenon) [12, 13].

Near-infrared (NIR) fluorescence guidance using the dye indocyanine green (ICG) was introduced in the operating room to improve the sensitivity of dye detection and to support the optical intraoperative identification of SNs [14, 15]. While fluorescence imaging offers a superior spatial resolution, tissue-induced signal attenuation means that—similar to the blue dyes—the utility of the fluorescence technology is confined to superficial lesions. The development and implementation of dual-tracers, which contain both radioactive and fluorescent signatures, directly connects traditional radioguidance with intraoperative fluorescence guidance [16, 17]. The value of the dual-tracer ICG-^{99m}Tc-nanocolloid has been demonstrated for SN biopsy and, in this context, fluorescence guidance yields a superior optical SN identification compared to blue dye [18–23].

Surgical modalities have evolved as result of the clinical implementation of ICG-^{99m}Tc-nanocolloid. Some hybrid modalities have been created to permit detection of both radioactive and fluorescence signatures. [24–28] One of these devices is now commercially available. This so-called opto-nuclear probe supports acoustic tracing of both signatures put forward by the hybrid tracer. After positive phantom and ex vivo studies, the first in vivo evaluation of a prototype for open surgery was performed in nine patients (penile and head and neck cancer) [24]. The aim of this follow-up study was to evaluate the surgical guidance capabilities of the opto-nuclear probe in a variety of different clinical indications and in different surgical scenarios (open and laparoscopic surgeries).

Methodology

Opto-nuclear probe

Two prototypes, one for open surgery and another for laparoscopy, opto-nuclear probes (Europrobe 3, Eurorad S.A., Eckbolsheim, France) with the combination of traditional gamma probe and a narrow-band 785 nm laser excitation source were used. The adjustable photomultiplier

tube was set in 0.9 V (high-sensitivity mode) based on a previous experience [24].

The laparoscopic opto-nuclear probe, that fits in a 12–15 mm diameter laparoscopic trocar, was used in cervical cancer patients. In these specific cases, a dedicated laparoscope with near-infrared fluorescence imaging option (Karl Storz Image1 S™; Karl Storz, Tuttlingen, Germany) was also applied as an important part of our current SLN biopsy approach in cervical cancer in our institution [20].

Patients

Thirty-three patients scheduled for SN biopsy with the dual-tracer were retrospectively assessed for in vivo and ex vivo analysis. In all procedures, the opto-nuclear probe was used for intraoperative SN detection. There were 15 breast cancer patients, 7 melanoma patients, 2 oral cavity cases and 9 cervical cancer patients. The patients included in the current study presented several different pathologies from those 41 patients studied in a previous work (13 head and neck cancer, 23 penile cancer and 5 prostate cancer).

Informed written consent was obtained from all patients. The use of the tracer was approved by the IRB in a previously conducted study (HCB/2014/0404).

Hybrid tracer preparation and injection

ICG-^{99m}Tc-nanocolloid was prepared according to previously published protocols [17, 20, 29].

Patients attended the Nuclear Medicine Department the day prior to surgery. Dual-tracer administration was adapted to the type of lesion. Briefly, in melanoma and oral cavity tumor patients, a total dose of 148 MBq was split into four aliquots, 0.1 ml each, and intradermally administered surrounding tumor or biopsy scar. In breast cancer patients, a dose between 111 and 148 MBq in 0.3–0.5 ml was intratumorally administered. For cervical cancer patients, a dose of 111 MBq was injected periorificially into each quadrant of the cervix with four injections of 0.5 ml each).

Pre-operative imaging

Lymphoscintigraphy included an initial dynamic study (during 10 min after injection) in melanoma and oral cavity patients. In all patients, planar images (anterior and lateral views) were obtained at 30 and 120 min after tracer administration. In all the cervical cancer patients and the oral cavity patients a SPECT/CT scan (matrix 128 × 128 and 25 s per frame for SPECT) of the lymphatic draining anatomical region was performed after acquisition of the late planar image using a dual-head gamma camera (Infinia Hawkeye 4; GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA). For melanoma and breast cancer patient indication of SPECT/CT was left to

nuclear medicine physician decision based on the difficulty to identify the SN on planar images or to better depict its anatomical situation in cases with complex drainage. After SPECT/CT image reconstruction, volume-rendering images were generated using an OsiriX Dicom viewer (Pixmeo SARL, Geneva, Switzerland). Images were examined by two nuclear medicine physicians and discussed with the surgeon prior to surgery.

In the open surgery procedures the cutaneous projection of the SLN location was marked on the skin with indelible ink.

Surgery

After probe preparation (draping with sterile plastic bag in both, open and laparoscopic, procedures), the nuclear physician performed, intraoperatively, the measurements with the probe in open surgery cases. In laparoscopic procedures, the surgeons managed the laparoscopic opto-nuclear probe.

Incisions were placed based on skin markings that indicated the position of the SNs identified on lymphoscintigraphy. During the dissection the area defined in the pre-operative images was evaluated using the opto-nuclear probe. Initial fluorescence tracing lasted, approximately 30 s (in order to avoid a delay in the surgery time). After localization of the node or when no fluorescence signal could be clearly detected, the probe was switched to the gamma-tracing mode.

The fluorescent and radioactive activity of all the located nodes was assessed. Findings were scored for correct or incorrect prediction by the opto-nuclear probe. After excision of the SNs, ex vivo SN measurements were performed and evaluated by the surgeon and nuclear medicine staff as being radioactive (yes or no), and/or fluorescent (yes or no) (Fig. 1).

In all opto-nuclear determinations (except for in vivo laparoscopic approach), fluorescence tracing with the opto-nuclear probe was performed in ambient light. All measurements were repeated twice. Finally, surgeons and nuclear physicians were asked to rate the easiness of use and their impression about the device.

Pathological analysis

SLNs were pathologically evaluated by histological examination with haematoxylin and eosin staining of 2-mm frozen serial slices. All 106 SNs analyzed were formalin-fixed and paraffin-embedded. Delayed pathological evaluation included haematoxylin and eosin plus immunohistochemical staining with a broad-spectrum cytokeratin (Dako®, Glostrup, Denmark).

Results

Patients

For patients' characteristics, see Table S11. The majority of patients were women ($n = 29$). Patient's mean age was 52.7 ± 12.7 (median 50, range 30–76) years. Their median body mass index was 24.6 kg/m^2 (range 19.7–35.4).

Overall results

One or more SNs were identified in all patients (identification rate 100%). The median number of harvested SNs was 3 (range 1–7; Table S11).

Planar lymphoscintigraphic images showed 95 hot spots considered as SNs (23 for melanoma, 33 in breast cancer, 36 in cervical cancer and 3 for head and neck cancer patients). SPECT/CT was performed in 18 out of 33 patients. The number of visualized SNs increased to 103 although breast cancer patients were not explored with this imaging technique and the number of SN nodes remained equal than the planar images in this subgroup of patients).

Prior to incision, scanning with the opto-nuclear probe on the skin position where the nuclear medicine physician marked the location of the SN clearly detected radioactive activity in 24/24 patients. Prior to incision only a fluorescence signal could be detected in 1/24 patients. In this oral cancer cavity patient, a high focal uptake was identified in a very superficial left level II cervical node.

During surgery, 103 SNs were excised. Three additional nodes were resected following palpation and the surgeon defining them as suspicious (hard touch). This yielded a total of 106 resected SNs. In vivo, the fluorescence mode of the probe was able to locate 79/106 SNs (74.5%). When conventional gamma-ray detection was used 99/106 SNs (93.3%) were identified under the same conditions. In two breast cancer patients, the fluorescence signal allowed to identify SNs that only presented a faint radioactive signature (less than 5 cps).

In those cases where open surgery was performed (melanoma, breast and head and neck cancers), fluorescence tracing was able to in vivo locate 83% of SNs. The fluorescence based find-rate in vivo in the laparoscopic setting was 62%, substantially lower than the open surgery approach. In both cases radiotracing proved to be more reliable (see Table 1 and supplementary material).

In our series, the mean BMI was an acceptable 24.6 kg/m^2 and did not seem to impair nodal identification, even not in patients with a higher BMI (cases 2, 13, 21, and 28). In some cases, however, the number of SNs identified by the fluorescence tracing in vivo was lower than for radiotracing (more than 2 SNs difference; cases 5, 10, 22, 23 and 24). The

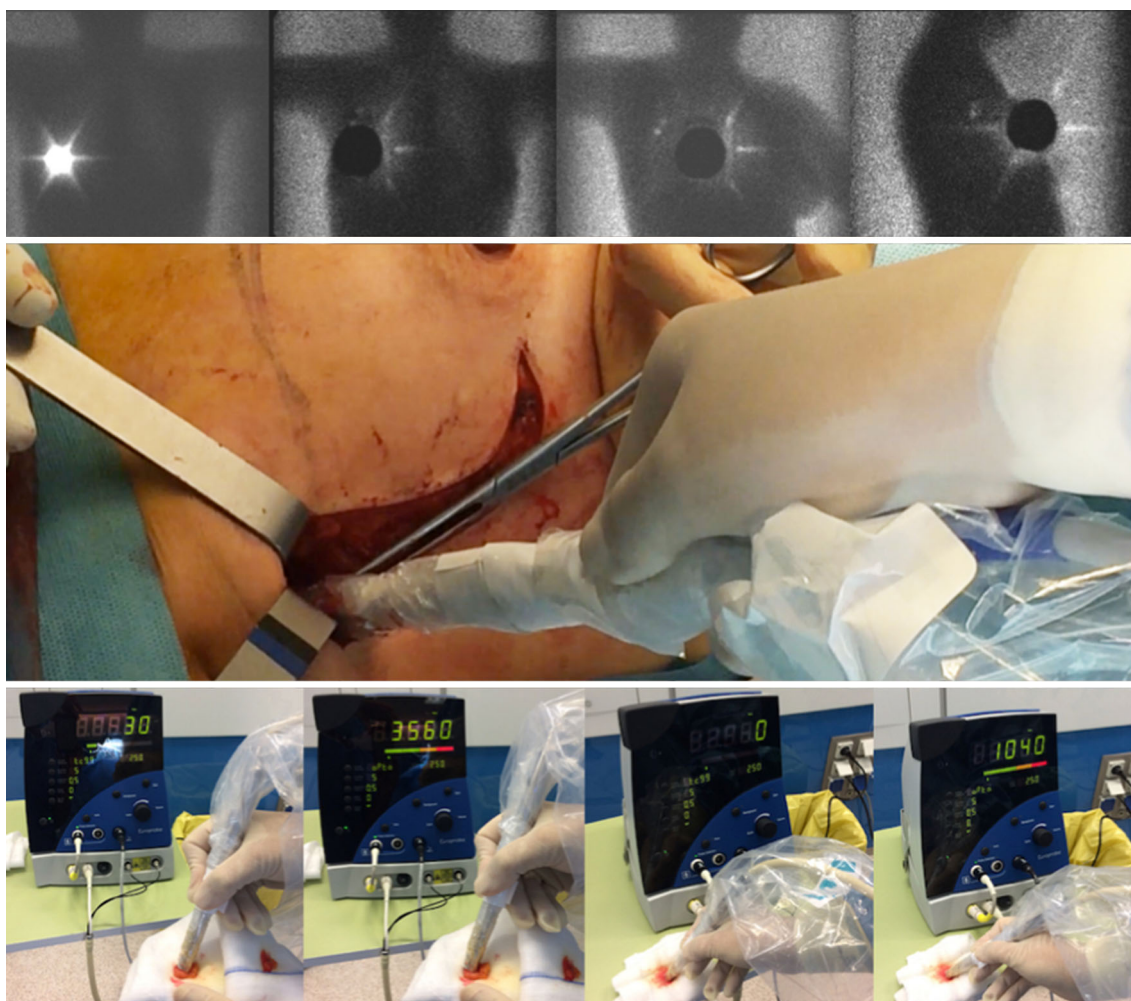


Fig. 1 Pre-operative lymphoscintigraphy shows two faint hot spots in the right axilla of a breast cancer patient (upper row). After localization and excising of both SNs (middle row), ex vivo fluorescence and gamma-ray read-out was performed (lower row). Gamma tracing

showed 30 cps in the first SN (3560 cps in the fluorescence modality “opto”). In the second case, the fluorescent component of the tracer (1040 cps) was of great help in order to ascertain a potential SN that may be missed by the gamma read-out (0 cps)

Table 1 Summary of results for in vivo SN detection with both signatures in the same opto-nuclear device

Tumor type	In vivo fluorescence	In vivo radioactivity	Total nodes excised	SN located by fluorescence (%)	SN located by radioactivity (%)
Melanoma	23	28	28	82.1	100
Breast	27	30	33	81.8	90
Head and neck	3	3	3	100	100
Cervix	26	38	42	61.9	90.4

BMI was not significantly high, except in 2 cases (23 and 24).

After surgical removal, all samples were evaluated ex vivo to validate if the in vivo finding accurately presented the presence of both signatures. Ex vivo fluorescence identification in the SNs increased from 79 to 99 SNs (93.3%) and radioactivity increased from 99 to 101 SNs (95.2%). In two cases, 4

and 21, faint radioactive signatures meant fluorescence was the superior modality for the nodal identification.

The Nuclear Medicine staff and surgeons that controlled the probes rated the utilization of the fluorescence tracing option as easy to use, comfortable and similar to a conventional gamma-ray detector probe. The fluorescence approach was judged as very sensitive when no tissue surrounds the SN. In this circumstance, especially when fat covers the SN (e.g.

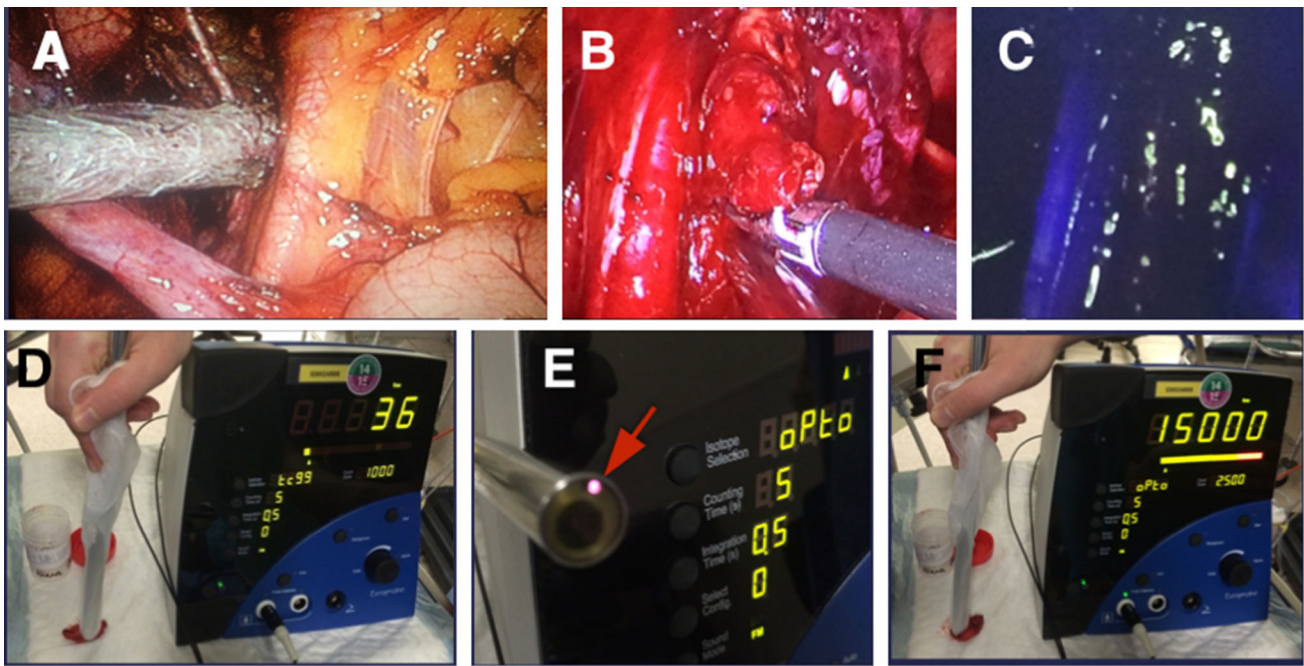


Fig. 2 Laparoscopic approach. Overall vision with the opto-nuclear probe positioned on the external iliac area (a) and a SN located over the grasper (b) and the fluorescent vision mode provided by the fluoroscope node (c). In this case, the use of fluorescence signal did not demonstrate a signal during in vivo scan, probably due to a combined tissue attenuation and erroneous positioning of the optical fiber in front

of the SN. Gamma-ray lecture demonstrated a faint SN uptake (d). The importance of place the optical fiber (red arrow) right to the targeted tissue is crucial (e). When fluorescence option was ex vivo checked, with the optic fiber facing the SN, the tissue sample reached the limit of counts in the device (f)

in laparoscopic approach), identifying the SN location using fluorescence tracing was complicated by tissue-induced signal attenuation and the difficulty of correctly positioning the optical fiber facing the SN (Figs. 2, 3). The gamma tracing ability of this modality was found to be equally reliable as conventional gamma probes.

Pathological status

Of the 106 nodes resected, 5 of them showed macrometastases, two showed micrometastases and two presented isolated tumoral cells (Table 2). Positive nodes were isolated from 7 out of 33 (21.2%) patients. All metastatic-involved SNs presented both fluorescence and radioactivity.

The three suspicious nodes that were resected due to their hardness (and pathologically processed as SNs), were finally negative for metastasis.

Although follow-up time was scarce, no recurrences in pathologically negative SNs have been reported.

Discussion

The renewed technological diversification in the field of radioguided surgery has amongst other resulted in hybrid-

concepts to be implemented in the clinic [30]. Hybrid-concepts combine two imaging signatures in a single tracer or modality. Next to the well know hybrid modalities such as SPECT/CT, PET/CT and PET/MRI activities in the areas of SPECT/optical and PET/optical are increasing. With the clinical introduction of the radioactive and fluorescent tracer ICG-^{99m}Tc-nanocolloid for SN identification, a platform has been generated for the development and clinical evaluation of surgical guidance technologies designed specifically to detect both signatures [17–23].

Previous studies demonstrated the in vivo feasibility of the opto-nuclear probe in 9 patients were the hybrid tracer ICG-^{99m}Tc-nanocolloid was used and in 21 breast cancer cases were separate injections of ICG and ^{99m}Tc-nanocolloid were applied [24, 31]. The current study expands these possibilities to other open-surgery approaches (melanoma and head and neck tumours), and explores the feasibility in laparoscopic approach (cervical cancer). Being familiar to the gamma probe technology, the adoption of this new device was judged positively by the surgeons and nuclear medicine staff (easiness of use, displaying panel and sound, sterile cover, etc.). The fact that fluorescence tracing could occur without dimming the lights in the operating theatre was also positively rated by the surgeons.

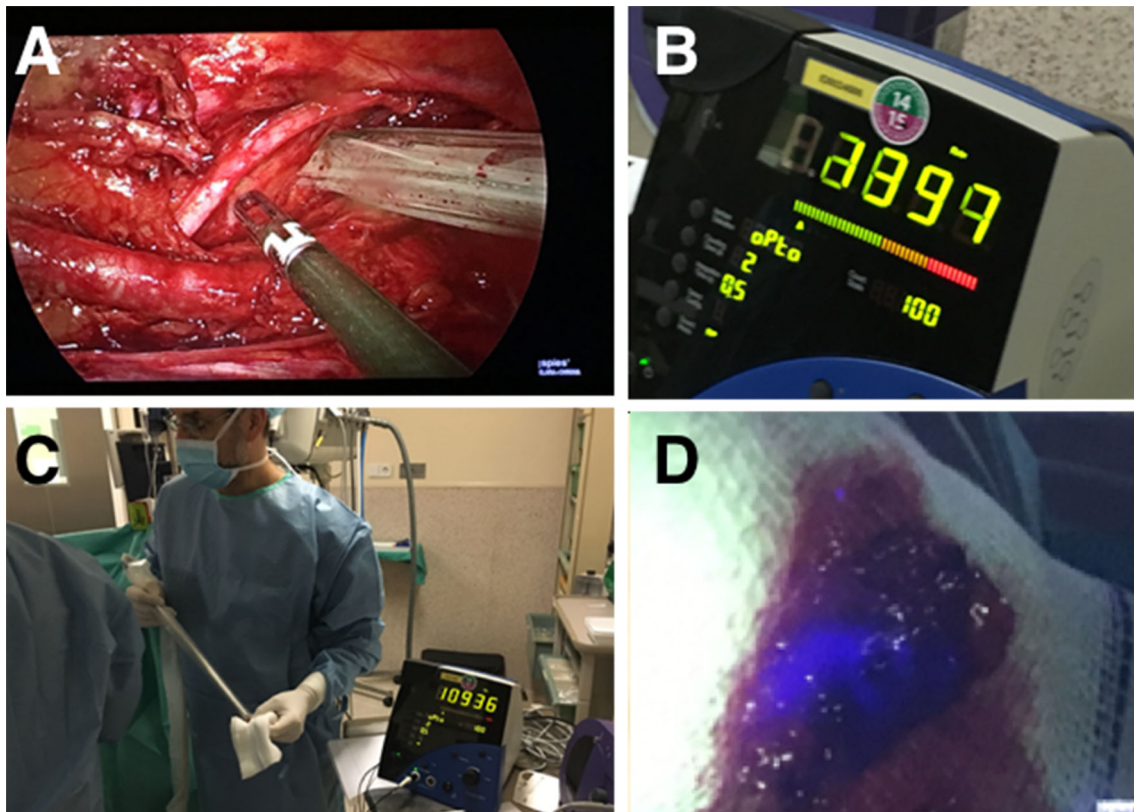


Fig. 3 Laparoscopic approach with the use of opto-nuclear probe (a). A faint fluorescent signal (1397 cps) was in vivo displayed on console (b). The increasing rate of fluorescence signal detection (10,936 cps) after ex vivo checking with the opto-nuclear probe (c) indicated that the tracer

was not homogeneously distributed through the node, as demonstrated in the tissue sample after reading with near-infrared light laparoscope (d). This issue is important to demonstrate that learning curve is present and the probe must be slowly moved to reach the best signal

Table 2 Metastatic SNs found in this study

Type of tumor	Macrometastasis	Micrometastasis	Isolated tumor cells
Breast	1	0	0
Breast	2	0	0
Breast	0	0	2
Cervix	0	1	0
Melanoma	1	0	0
Melanoma	0	1	0
Head and neck	1	0	0

In line with the findings reported following the first in human introduction of the opto-nuclear probe, the current study underlines the viability of this modality and extends its use to the laparoscopic setting [24]. It, however, also confirms the previously reported limitations of fluorescence tracing in vivo, namely, the blockage of the fluorescence signal by tissues wherein the SNs were embedded. The effect asserted by attenuation by tissue was further underlined by the fact that prior to excision the fluorescence mode of the opto-nuclear probe was not able to reliably determine the fluorescence intensity. Also probe positioning is critical and

the limited rotational freedom in laparoscopic procedures appears to limit this even further. This effect could explain the 62% fluorescence in vivo find rate in cervical cancer patients.

Logically, the time to in vivo identify a SN using the fluorescence-tracing mode was longer than the identification of the same node using the radio-tracing option. This is a direct result of the different detection sensitivities for the two respective signals: (1) fluorescence detection is limited by the size and off-center position of the optical fibers, as well as the signal attenuation asserted by tissue, (2) gamma-ray detection is more sensitive as a result of the larger detec-

tion surface, independence from illumination, and the ability of gamma photons to penetrate through tissues. As a result, in contrast to gamma tracing, the efficiency of fluorescence tracing is for a large part dependent on the user's ability to quickly identify the areas most likely to harbor fluorescence. Although the opto-nuclear probe enabled the assessment of fluorescence within 30 s, the SN identification rate in vivo merely was 74.5% (gamma tracing achieved a 93.3% detection rate under the same conditions).

This indicates that the main value of fluorescence tracing is to complement the more traditional radioguidance concepts, but cannot replace it—as the use of the dual-tracer ICG-^{99m}Tc-nanocolloid was originally intended [32]. Hereby fluorescence can be used to confirm the superficial availability of the SNs. The additional value of fluorescence tracing was stressed by the two cases where in vivo fluorescence tracing was more reliable than radiotracing (Fig. 3).

Conclusions

This study underlines the feasibility of using the dual-tracer/opto-nuclear probe combination for SN resections. Thereby the use of the opto-nuclear technology has been extended to laparoscopic surgery. Critically, this study also underlines the fluorescence tracing can complement traditional radio-tracing approaches.

Acknowledgements We deeply thank Eurorad for supporting the clinical evaluation by providing an opto-nuclear device.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest All authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical standards All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

References

- Lyman GH, Somerfield MR, Bosserman LD, Perkins CL, Weaver DL, Giuliano AE (2017) Sentinel Lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 35:561–564
- Wong SL, Faries MB, Kennedy EB, Agarwala SS, Akhurst TJ, Ariyan C, Balch CM, Berman BS, Cochran A, Delman KA, Gorman M, Kirkwood JM, Moncrieff MD, Zager JS, Lyman GH (2018) Sentinel lymph node biopsy and management of regional lymph nodes in melanoma: American society of clinical oncology and society of surgical oncology clinical practice guideline update. *Ann Surg Oncol* 25:356–377
- Holloway RW, Abu-Rustum NR, Backes FJ, Boggess JF, Gotlieb WH, Jeffrey Lowery W, Rossi EC, Tanner EJ, Wolsky RJ (2017) Sentinel lymph node mapping and staging in endometrial cancer: a society of gynecologic oncology literature review with consensus recommendations. *Gynecol Oncol* 146:405–415
- Oonk MHM, Planchamp F, Baldwin P, Bidzinski M, Brännström M, Landoni F, Mahner S, Mahantshetty U, Mirza M, Petersen C, Querleu D, Regauer S, Rob L, Rouzier R, Ulrikh E, van der Velden J, Vergote I, Woelber L, van der Zee AGJ (2017) European society of gynaecological oncology guidelines for the management of patients with vulvar cancer. *Int J Gynecol Cancer* 27:832–837
- van der Poel HG, Meershoek P, Grivas N, KleinJan G, van Leeuwen FW, Horenblas S (2017) Sentinel node biopsy and lymphatic mapping in penile and prostate cancer. *Urologe* 56:13–17
- Seim NB, Wright CL, Agrawal A (2016) Contemporary use of sentinel lymph node biopsy in the head and neck. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg* 2:117–125
- Giammarile F, Alazraki N, Aarsvold JN, Audisio RA, Glass E, Grant SF, Kunikowska J, Leidenius M, Moncayo VM, Uren RF, Oyen WJ, Valdés Olmos RA, Vidal-Sicart S (2013) The EANM and SNMMI practice guideline for lymphoscintigraphy and sentinel node localization in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 40:1932–1947
- Bluemel C, Herrmann K, Giammarile F, Nieweg OE, Dubreuil J, Testori A, Audisio RA, Zoras O, Lassmann M, Chakera AH, Uren R, Chondrogiannis S, Colletti PM, Rubello D (2015) EANM practice guidelines for lymphoscintigraphy and sentinel lymph node biopsy in melanoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 42:1750–1766
- Van den Berg NS, Buckle T, Kleinjan GI, Klop WM, Horenblas S, Van Der Poel HG, Valdés-Olmos RA, Van Leeuwen FI (2014) Hybrid tracers for sentinel node biopsy. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 58:193–206
- Sadeghi R, Alesheikh G, Zakavi SR, Fattahi A, Abdollahi A, Assadi M, Jangjoo A, Keshitgar M (2014) Added value of blue dye injection in sentinel node biopsy of breast cancer patients: do all patients need blue dye? *Int J Surg* 12:325–328
- Guo J, Yang H, Wang S, Cao Y, Liu M, Xie F, Liu P, Zhou B, Tong F, Cheng L, Liu H, Wang S (2017) Comparison of sentinel lymph node biopsy guided by indocyanine green, blue dye, and their combination in breast cancer patients: a prospective cohort study. *World J Surg Oncol* 15:196
- Brogli MA, Stoeckli SJ (2011) Relevance of sentinel node procedures in head and neck squamous cell carcinoma. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 55:509–520
- Buscombe J, Saad Z (2015) Sentinel nodes: a promise half fulfilled. *Clin Transl Imaging* 3:169–170
- Murawa D, Hirche C, Dresel S, Hünerbein M (2009) Sentinel lymph node biopsy in breast cancer guided by indocyanine green fluorescence. *Br J Surg* 96:1289–1294
- Tagaya N, Aoyagi H, Nakagawa A, Abe A, Iwasaki Y, Tachibana M, Kubota K (2011) A novel approach for sentinel lymph node identification using fluorescence imaging and image overlay navigation surgery in patients with breast cancer. *World J Surg* 35:154–158
- van Leeuwen FWB, Hardwick JCH, van Erkel AR (2015) Luminescence based imaging approaches in the field of interventional molecular imaging. *Radiology* 276:12–29
- Brouwer OR, Buckle T, Vermeeren L, Klop WM, Balm AJ, van der Poel HG, van Rhijn BW, Horenblas S, Nieweg OE, van Leeuwen FW, Valdés Olmos RA (2012) Comparing the hybrid fluorescent-radioactive tracer indocyanine green-^{99m}Tc-nanocolloid with ^{99m}Tc-nanocolloid for sentinel node identification: a validation study using lymphoscintigraphy and SPECT/CT. *J Nucl Med* 53:1034–1040
- Brouwer OR, van den Berg NS, Matheron HM, van der Poel HG, van Rhijn BW, Bex A, van Tinteren H, Valdés Olmos RA, van Leeuwen FW, Horenblas S (2014) A hybrid radioactive and flu-

- orescent tracer for sentinel node biopsy in penile carcinoma as a potential replacement for blue dye. *Eur Urol* 65:600–609
19. van den Berg NS, Brouwer OR, Schaafsma BE, Matheron HM, Klop WM, Balm AJ, van Tinteren H, Nieweg OE, van Leeuwen FW, Valdés Olmos RA (2015) Multimodal surgical guidance during sentinel node biopsy for melanoma: combined gamma tracing and fluorescence imaging of the sentinel node through use of the hybrid tracer indocyanine green-Tc-nanocolloid. *Radiology* 275:530–537
 20. Paredes P, Vidal-Sicart S, Campos F, Tapias A, Sánchez N, Martínez S, Carballo L, Pahisa J, Torné A, Ordi J, Carmona F, Lomeña F (2017) Role of ICG-(99m)Tc-nanocolloid for sentinel lymph node detection in cervical cancer: a pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 44:1853–1861
 21. Stoffels I, Dissemmond J, Pöppel T, Schadendorf D, Klode J (2015) Intraoperative fluorescence imaging for sentinel lymph node detection: prospective clinical trial to compare the usefulness of indocyanine green vs technetium Tc 99m for identification of sentinel lymph nodes. *JAMA Surg* 150:617–623
 22. Schaafsma BE, Verbeek FP, Rietbergen DD, van der Hiel B, van der Vorst JR, Liefers GJ, Frangioni JV, van de Velde CJ, van Leeuwen FW, Vahrmeijer AL (2013) Clinical trial of combined radio- and fluorescence-guided sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Br J Surg* 100:1037–1044
 23. Christensen A, Juhl K, Charabi B, Mortensen J, Kiss K, Kjær A, von Buchwald C (2016) Feasibility of real-time near-infrared fluorescence tracer imaging in sentinel node biopsy for oral cavity cancer patients. *Ann Surg Oncol* 23:565–572
 24. van den Berg NS, Simon H, Kleinjan GH, Engelen T, Bunschoten A, Welling MM, Tijink BM, Horenblas S, Chambron J, van Leeuwen FW (2015) First-in-human evaluation of a hybrid modality that allows combined radio- and (near-infrared) fluorescence tracing during surgery. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 42:1639–1647
 25. KleinJan GH, Hellingman D, van den Berg NS, van Oosterom MN, Hendricksen K, Horenblas S, Valdes Olmos RA, van Leeuwen FW (2017) Hybrid surgical guidance: does hardware integration of γ - and fluorescence imaging modalities make sense? *J Nucl Med* 58:646–650
 26. KleinJan GH, van den Berg NS, van Oosterom MN, Wendler T, Miwa M, Bex A, Hendricksen K, Horenblas S, van Leeuwen FW (2016) Toward (hybrid) navigation of a fluorescence camera in an open surgery setting. *J Nucl Med* 57:1650–1653
 27. Hellingman D, Vidal-Sicart S, de Wit-van der Veen LJ, Paredes P, Valdés Olmos RA (2016) A new portable hybrid camera for fused optical and scintigraphic imaging: first clinical experiences. *Clin Nucl Med* 41:e39–e43
 28. Bugby SL, Lees JE, Perkins AC (2017) Hybrid intraoperative imaging techniques in radioguided surgery: present clinical applications and future outlook. *Clin Transl Imaging* 5:323–341
 29. van Leeuwen AC, Buckle T, Bendle G, Vermeeren L, Valdés Olmos R, van de Poel HG, van Leeuwen FW (2011) Tracer-cocktail injections for combined pre- and intraoperative multimodal imaging of lymph nodes in a spontaneous mouse prostate tumor model. *J Biomed Opt* 16:016004
 30. Valdés Olmos RA, Vidal-Sicart S, van Leeuwen FW (2016) Crossing technological frontiers in radioguided intervention. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 43:2301–2303
 31. Poumellec MA, Dejode M, Figl A, Darcourt J, Haudebourg J, Sabah Y, Voury A, Martaens A, Barranger E (2016) Sentinel node detection using optonuclear probe (gamma and fluorescence) after green indocyanine and radio-isotope injections. *Gynecol Obstet Fertil* 44:207–210
 32. van der Poel HG, Buckle T, Brouwer OR, Valdés Olmos RA, van Leeuwen FW (2011) Intraoperative laparoscopic fluorescence guidance to the sentinel lymph node in prostate cancer patients: clinical proof of concept of an integrated functional imaging approach using a multimodal tracer. *Eur Urol* 60:826–833

ARTÍCULO 3

DETECTION OF THE SENTINEL LYMPH NODE WITH HYBRID TRACER (ICG-[^{99m}Tc]Tc-ALBUMIN NANOCOLLOID) IN INTERMEDIATE- AND HIGH-RISK ENDOMETRIAL CANCER: A FEASIBILITY STUDY

Nuria Sánchez-Izquierdo, Sergi Vidal-Sicart, Francisco Campos, Aureli Torné, Martina Aida Angeles, Federico Migliorelli, Meritxell Munmany, Adela Saco, Berta Díaz-Feijóo, Ariel Glickman, Jaume Ordi, Andrés Perissinotti, Marta del Pino, Pilar Paredes

EJNMMI Research. 2021;11:123. DOI:10.1186/s13550-021-00863-x



IF JCR 2020: 3,138 Cuartil 2

ORIGINAL RESEARCH

Open Access



Detection of the sentinel lymph node with hybrid tracer (ICG-[^{99m}Tc]Tc-albumin nanocolloid) in intermediate- and high-risk endometrial cancer: a feasibility study

Nuria Sánchez-Izquierdo¹ , Sergi Vidal-Sicart^{1,6} , Francisco Campos¹ , Aureli Torné^{2,6,7} , Martina Aida Angeles^{2,4} , Federico Migliorelli⁵ , Meritxell Munmany² , Adela Saco^{3,6,7} , Berta Diaz-Feijoo^{2,6,7} , Ariel Glickman² , Jaume Ordi^{3,7,8} , Andrés Perissinotti¹ , Marta del Pino^{2,6,7} and Pilar Paredes^{1,6,7*}

Abstract

Purpose: Indocyanine green (ICG) is frequently used for the detection of the sentinel lymph node (SLN) in gynecology, but it carries the loss of the presurgical SLN mapping provided by [^{99m}Tc]-based colloids. Hybrid tracers such as ICG-[^{99m}Tc]Tc-albumin nanocolloid combine the benefits of both components. The aim of this study was to evaluate the feasibility and applicability of this hybrid tracer injected by transvaginal ultrasound-guided myometrial injection of radiotracer (TUMIR) approach in the detection of SLNs in patients with intermediate- and high-risk EC.

Methods: Fifty-two patients with intermediate- and high-risk EC underwent SLN biopsy after injection of a hybrid tracer using the TUMIR approach, followed by pelvic and paraaortic lymphadenectomy. SLNs were detected preoperatively by lymphoscintigraphic study and intraoperatively by gamma probe and near-infrared (NIR) optical laparoscopic camera.

Results: Preoperative lymphatic drainage was obtained in 69% and intraoperative detection in 71.4% of patients. A total of 146 SLNs (4.17 SLNs/patient) were biopsied. Pelvic bilateral detection was observed in 57% of the women and paraaortic drainage in 34% of the patients. The radioactive component allowed the detection of SLN in 97.1% of the patients, while the fluorescent component detected 80%. In more than 17% of the patients with intraoperative detection, SLNs were detected only by the radioactive signal. Lymph node metastasis was identified in 14.3% of patients submitted to SLNB. The sensitivity and negative predictive value for metastatic involvement were 100%.

Conclusion: TUMIR injection of a hybrid tracer in patients with intermediate- and high-risk EC combines the benefits of the radiotracer and the fluorescence methods with a single tracer. The method increases the paraaortic detection rate and allows a potential increase in SLN detection. Notwithstanding, based on our findings, the radioactive component of the hybrid tracer cannot be obviated.

Keywords: Hybrid tracer (ICG-[^{99m}Tc]Tc-albumin nanocolloid), Sentinel lymph node, Endometrial cancer, Lymphatic mapping, Radiotracer, ICG

Introduction

Endometrial cancer (EC) is the most frequent gynecological malignancy in high-income countries. ECs are classified as low, intermediate and high risk based on their risk

*Correspondence: pparedes@clinic.cat

¹ Department of Nuclear Medicine, Hospital Clinic of Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain

Full list of author information is available at the end of the article

of lymph node and distant metastases. As in most solid tumors, lymph node infiltration is the most important prognostic factor, and therefore, systematic pelvic and paraaortic lymphadenectomy is indicated in high-risk tumors and is considered in those of intermediate risk [1]. However, the role of systematic lymphadenectomy has recently been questioned because it has a significant associated morbidity and results in an overtreatment of up to 80% of women [2]. Sentinel lymph node biopsy (SLNB) has been developed as an alternative to systematic lymphadenectomy, associated with a low morbidity rate. Furthermore, SLN ultrastaging, which involves serial sections and the use of immunohistochemical stains, allows increasing the sensitivity for metastasis. The guidelines of the National Comprehensive Cancer Network recommend SNLB in patients with low-risk EC [3]. Recent evidence indicates that SLNB achieves a detection rate of 89% and a false negative rate of 11.5% in patients with intermediate- and high-risk EC [4]. However, its indication in these women with intermediate- and high-risk EC is still under debate.

Traditionally, SLNB in patients with gynecological tumors has been performed using a technetium-based radiotracer (^{99m}Tc]-Tc-albumin nanocolloid), either alone or combined with blue dye. In these cases, the radiotracer allows obtaining preoperative lymph node mapping, which increases the detection of SLN [5]. Nonetheless, the SLN detection rate is lower in patients with EC than in other gynecological tumors. Reduced SLN detection in these patients has been associated with older age, tumor size bigger than 2 cm and low radiotracer volumes [6]. The combination with blue dye does not seem to significantly increase the rate of detection in these patients with EC [7, 8].

To solve these problems, the use of fluorescent, non-radioactive tracers has been introduced. Among these tracers, indocyanine green (ICG), which can be detected intraoperatively, has been used as a single tracer in gynecological tumors of the endometrium [9, 10], cervix [11, 12] and vulva [13]. However, unlike radiotracer, ICG is not retained by the macrophages of the lymph nodes, and therefore, the injection must be performed intraoperatively due to its rapid drainage, precluding obtaining a preoperative lymph node map for planning surgery.

In the last decade, hybrid tracers (ICG- ^{99m}Tc]-albumin nanocolloid) have been developed. These hybrid tracers combine the advantages of the two modalities [14–16]: the radiotracer allows presurgical lymphatic mapping and provides an acoustic signal through the gamma detector probe, whereas ICG allows the visualization of the SLN during surgery. This hybrid tracer has shown to be more efficient and accurate to localize the SLN compared with blue dye or the two components

(ICG and radiotracer) used alone [14–16] in urological neoplasms such as cancers of the prostate gland [17] and penis [14]. The hybrid tracer has also been successfully used in gynecological neoplasms, such as vulvar [18] and cervical cancer [19], with a high rate of SLN detection (96–100%), but has not been evaluated in EC.

The aim of this study was to evaluate the feasibility of using a single hybrid tracer and its performance to detect SLN in patients with high and intermediate-risk EC.

Material and methods

Patients and study design

Patients with preoperative diagnosis of intermediate and high-risk EC submitted to SLNB and clinically indication in our center of complete pelvic and paraaortic lymphadenectomy between 2014 and 2019 were included in this study. The patients fulfilled at least one of the following inclusion criteria: (1) unfavorable histology (serous, clear cell or grade 3 endometrioid adenocarcinoma); (2) myometrial invasion $\geq 50\%$ suspected by imaging techniques (magnetic resonance imaging (MRI) or 3D ultrasound); (3) involvement of the cervical stroma confirmed by biopsy or suspected by imaging techniques.

Patients with the following criteria were excluded from our study: (1) contraindication for surgical staging; (2) metastatic disease suspected in the preoperative evaluation by computed tomography (CT) or MRI or confirmed histologically; (3) previous surgery or radiotherapy in the pelvic or paraaortic regions.

This retrospective study from prospectively collected data was approved by our institutional review board (HCB/2019/0574), and written informed consent was obtained from all the patients included in the study prior to the administration of the hybrid tracer.

Injection of the hybrid tracer

The hybrid tracer was prepared in the radiopharmacy unit according to the usual methodology of our center [19]. Between 18 and 24 h before surgery, the patients were injected with a dose of 222 MBq (6 mCi) at a total volume of 4 ml of hybrid tracer. Two ml of the hybrid tracer plus 1 ml of physiological saline was injected into the anterior and posterior part of the myometrium to increase interstitial pressure in the tissue, separated by 1 ml of air between the two injections to avoid in vivo dilution of the hybrid tracer.

This injection technique used was the transvaginal ultrasound-guided myometrial injection of radiotracer (TUMIR) approach, as previously described [6, 20]. An Aspen (Siemens-Acuson Inc., MountainView, CA, USA) or Voluson ultrasound image equipment (Voluson v730Expert, General Electric, Germany), equipped with a vaginal probe coupled with a caliber 20 biopsy needle

guide (Gallini Medical Devices, Mantova, Italy), was used for injection of the hybrid tracer. All the procedures were performed by an expert gynecologist together with a specialist in nuclear medicine (Fig. 1).

Preoperative lymphoscintigraphy

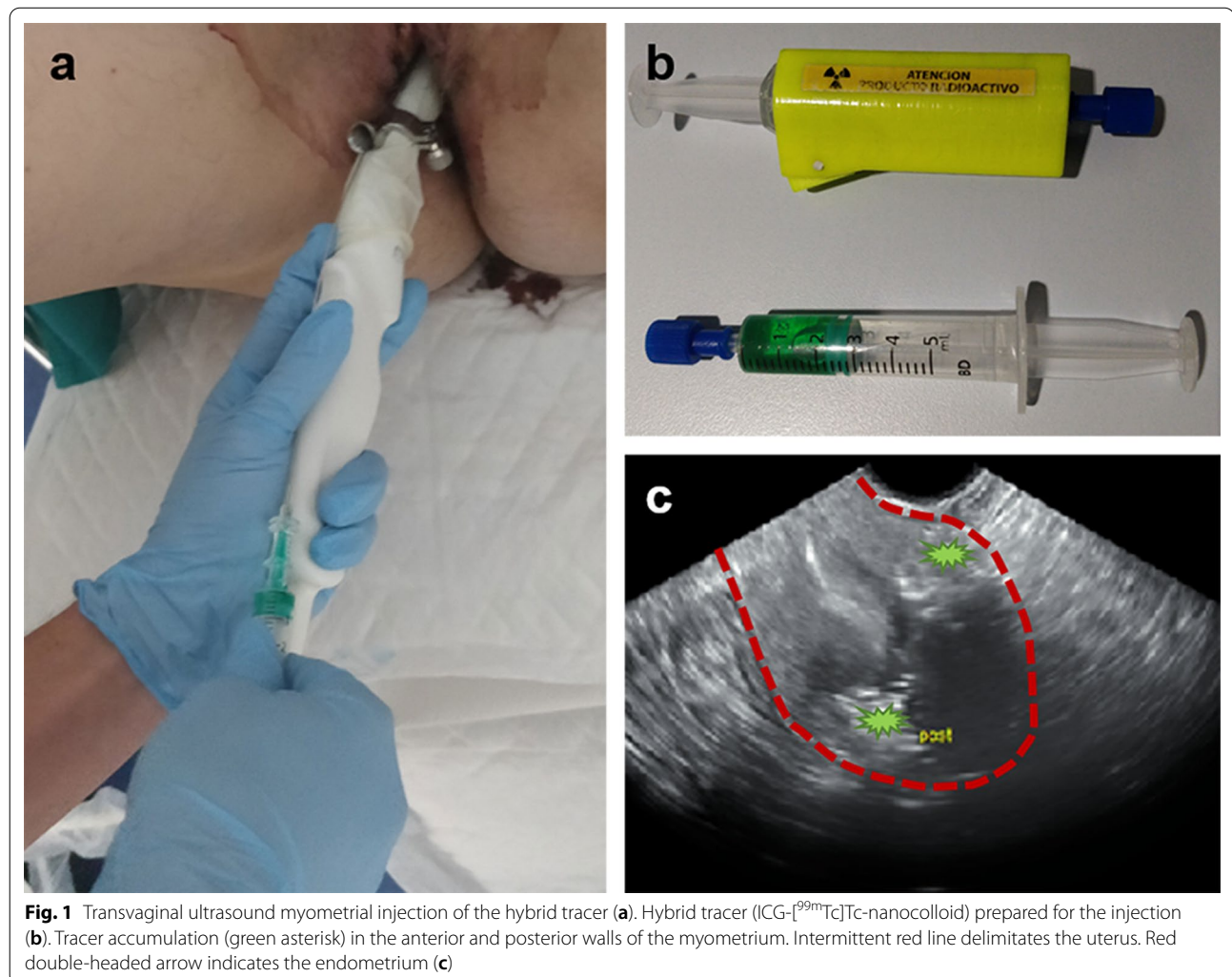
Following the injection of the hybrid tracer, planar abdominal-pelvic images (matrix of 256×256 , anterior and lateral views of 300 s/frame) were obtained using a single-head gamma camera (E-Cam, Siemens, Erlangen, Germany) or dual-head gamma camera (Infinia™ Hawkeye™ 4; GE Healthcare Milwaukee, WI, USA), equipped with a low-energy high-resolution collimator. The images were obtained at 30 min and at 2–4 h after the injection of the hybrid tracer.

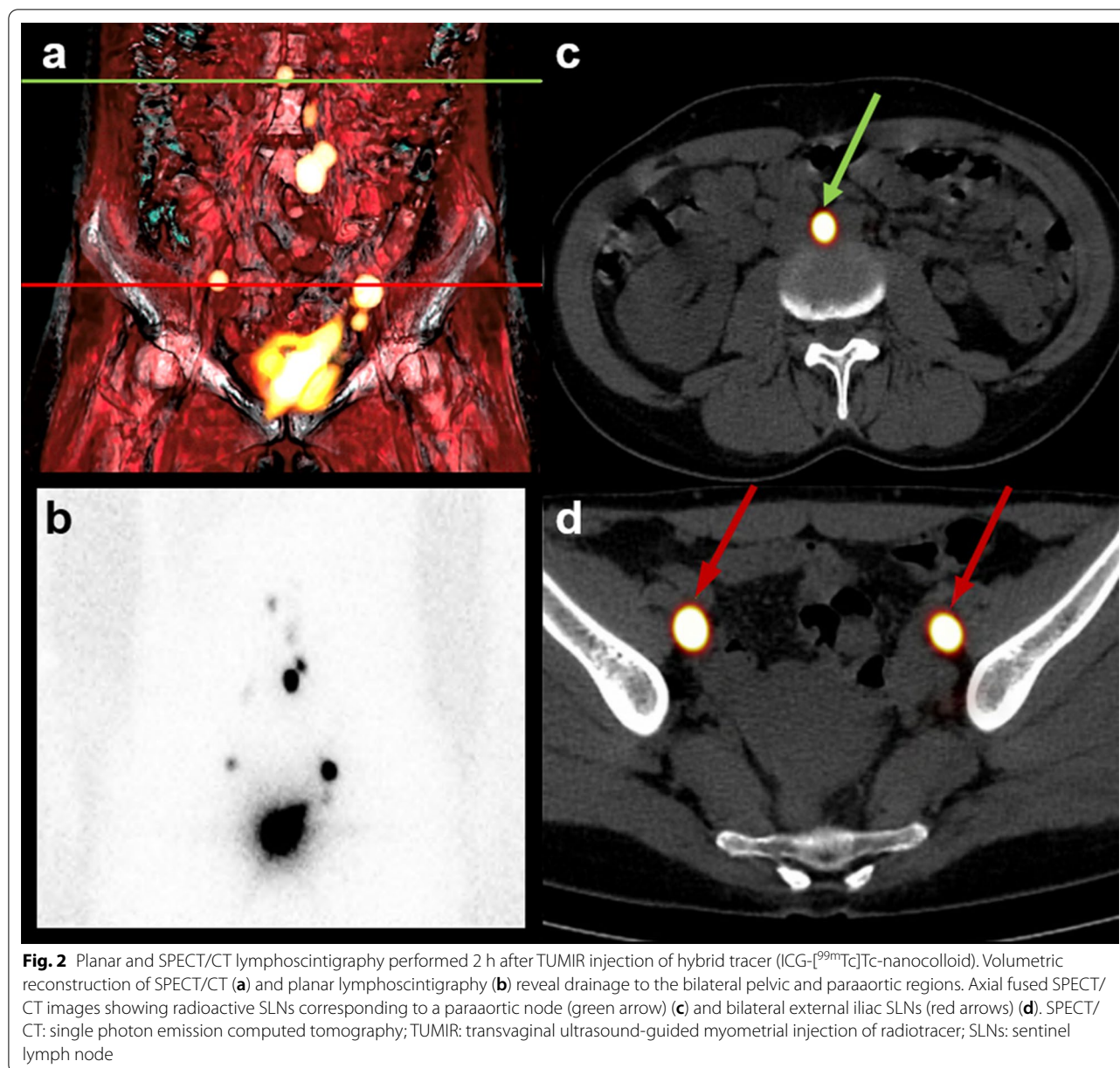
Afterward, single photon emission computed tomography (SPECT) images with CT for correction of attenuation and posterior fusion of the reconstructed image were acquired with two different dual-head gamma

camera (Infinia™ Hawkeye™ 4; GE Healthcare Milwaukee, WI, USA) (120 projections in a non-circular 360° orbit, 15 s/projection in the matrix of 128×128 with a pixel size of $3.16 \times 3.16 \text{ mm}^2$) using a CT image (matrix size 512×512 , 140 kV and 2.5 mAs) and a Symbia Intevo Bold (Siemens Healthineers, Erlangen, Germany) gamma camera was used (120 projections in a non-circular 360° orbit, 30 s/projection, in a matrix of 128×128 with a pixel size of $3.30 \times 3.30 \text{ mm}^2$), with CT image (matrix size 512×512 , 130 kV and 4D CARE Dose).

In addition, volumetric reconstructions were performed using the Osirix Dicom viewer (Pixmeo SARL, Geneva, Switzerland) in an operating system based on Unix (MAC OS X, MacPro; Apple, Cupertino, CA) for obtaining a tridimensional presentation and improving anatomical localization of the SLNs (Fig. 2).

The images were examined by two specialists in Nuclear Medicine and were discussed with the surgical team prior to surgery.





Intraoperative SLN detection

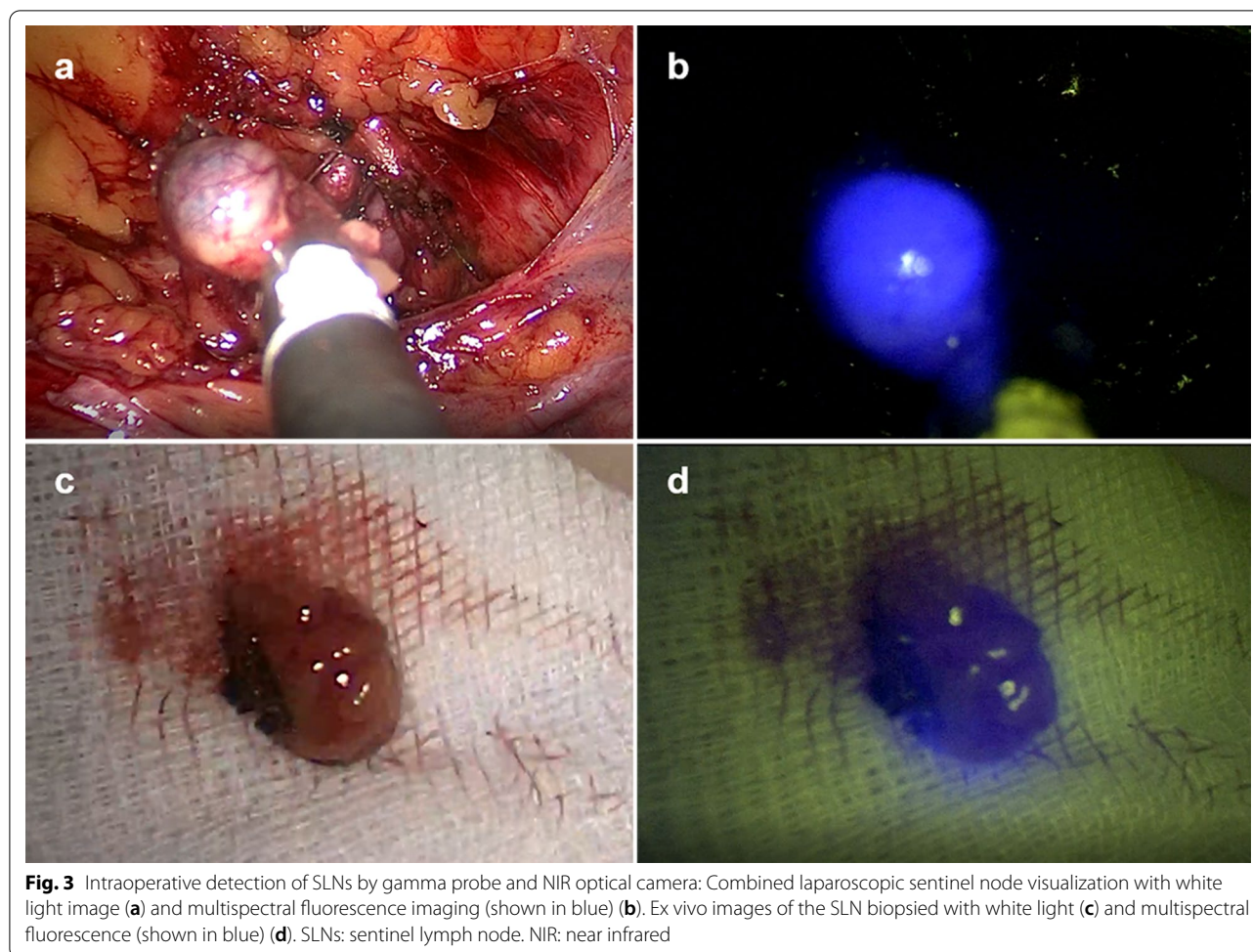
In all the patients, the detection of SLNs was made by laparoscopic surgery. The laparoscopic surgery was started by an intraperitoneal approach to rule out carcinomatosis. Then, a left retroperitoneal access was created to first localize the paraaortic SLNs.

For intraoperative localization of the SLN, a laparoscopic gamma ray detector probe was used (Navigator; USSC, Norwalk, CT, USA), which is compatible with a laparoscopic trocar of 12 mm in diameter. For the detection of fluorescence, a specialized laparoscopic optical camera was used, which included a near-infrared (NIR)

image option (Karl Storz Image1 STM; Karl Storz, Tuttlingen, Germany). This system allows obtaining images with white light and fluorescence in the NIR spectrum according to in vivo needs.

After SLNB, the number of counts emitted by the radiotracer and the intensity of the luminous emission of NIR ex vivo were collected using the same devices described for the in vivo detection (Fig. 3).

A lymph node was considered a SLN when: (a) it was the first node visualized in the lymphoscintigraphy or showed greater activity in the late planar images or was visualized in the SPECT/CT in a region other than in the



planar lymphoscintigraphy; (b) it was the most active node during surgery according to the gamma probe or previous lymphoscintigraphy; or (c) it was fluorescent. Each side of the pelvis and the paraaortic area were considered independent lymphatic territories according to the Memorial Sloan Kettering Cancer Center algorithm [21]. The exact location of each SLN in relation to the pelvic, vena cava or aorta vessels was recorded. The number of SLN excised, their localization and their intraoperative detection signal were reported.

Paraaortic lymphadenectomy, pelvic SLNB and hysterectomy

After selective excision of paraaortic SLNs, systematic paraaortic lymphadenectomy was carried out. The procedure included removal of the lymph nodes located at the presacral, aortic bifurcation, precaval, preaortic and paraaortic areas, both below and above the inferior mesenteric artery up to the level of the left renal vein as the upper limit of dissection.

Lymphadenectomy continued through a transperitoneal approach to perform a selective excision of pelvic SLNs. The pelvic regions were carefully scanned with the gamma probe, angled laterally to avoid detection of radioactivity at the injection site. Then, a bilateral transperitoneal pelvic lymphadenectomy was performed, including the removal of external and internal iliac, obturator fossa, and common iliac lymph nodes. Finally, a total vaginal hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy assisted by laparoscopy were performed.

Histological evaluation of the lymph nodes

The SLNs were cut into 2-mm-thick serial sections, submitted completely for histology and routinely embedded in paraffin. A first four-micrometer-thick section was stained with hematoxylin and eosin (H&E) and examined under a light microscope. If this first section was negative, four additional pairs of sections were performed at an interval of 200 μm (ultrastaging). Of each pair, one section was stained with H&E and the other using immunohistochemistry for cytokeratin 7 (Dako Pathology,

Agilent, Santa Clara, CA, USA). Immunohistochemical studies were performed with the automated immunohistochemical system Autostainer Link 48[®], using the EnVision system (Dako).

The lymphadenectomy specimens were fixed in neutral-buffered formalin and macroscopically dissected to isolate all lymph nodes, which were cut into 2-mm-thick sections following their largest diameter and routinely processed. Four-micrometer-thick histological sections were obtained with a microtome, which were stained with H&E and examined under a light microscope.

Metastatic involvement was defined as at least one lymph node (either SLN or one non-SLN) positive for metastases detected either in the evaluation of the H&E and/or the immunohistochemical section (in case of SLN). When present, the size of the metastasis was recorded. Isolated tumor cells and metastatic involvement less than 2 mm (micrometastases) were considered as low-volume metastases.

Statistical analysis

Categorical variables are described as absolute numbers and percentage, while continuous features are shown as mean and standard deviation (SD).

The number of SLNs retrieved during surgery was compared with the number of SLN identified in the planar lymphoscintigraphy and SPECT/CT. We also compared the number of SLN detected by each of the tracers, individually and simultaneously (ICG/Radiotracer/ICG + Radiotracer).

Categorical variables were evaluated by the Fisher exact test and continuous variables by the Student’s t-test. The paired Student’s t-test was used to evaluate the preoperative and postoperative detection rates.

The accuracy analysis of the hybrid detection of the SLN was carried out including exclusively the women with successful SLN resection (meaning that at least one SLN was intraoperatively identified and excised). The histological result of the SLN was contrasted with the result of the histopathological analysis of the nodes retrieved during lymphadenectomy. With these data, sensitivity, specificity and the positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of the histological results of the SLN were calculated, as well as their respective 95% confidence intervals (CI), using the Wilson’s method. Differences were considered significant at a 5% bilateral level, and all analyses were performed using Stata 13.1 (StataCorp, Texas).

Results

During the study period, 83 patients were cared for in our center with inclusion criteria for our study. In 22 cases, there was no ICG available to label the hybrid radiotracer,

and 9 patients refused the hybrid tracer to choose the conventional radiotracer. A total of 52 patients were included in the analysis with preoperative intermediate (33 women) or high-risk (19 women) EC, assessed according to ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on EC Classification. The mean age of the patients was 63.6 years (SD 10.3). The histological characteristics and International Federation of Gynecology and Obstetrics stage of the patients included in the study are summarized in Table 1. There were no adverse reactions either during or after injection of the hybrid tracer.

Preoperative detection: lymphoscintigraphy (planar and SPECT/CT images)

Drainage toward the pelvic and/or paraaortic lymph node chains was observed in 48.1% (25/52) of the patients in the planar lymphoscintigraphy images and in 69.2% (36/52) in the tomographic images of SPECT/CT. Among the women in whom SLN was detected, bilateral pelvic SLN was visualized in 55.6% (20/36). In none of the women, the drainage was exclusively paraaortic. Table 2 shows the distribution of the drainage.

In 30.8% (16/52) of the patients, drainage was not observed in the presurgical images. In three of these 16 women (6%), peritoneal diffusion was observed; in other three (6%), there was an important uptake in the bone

Table 1 Postoperative histological characteristics of the 52 patients included in the study

Histological type and grade	
Endometrioid	38 (73.0%)
Grade 1	9 (23.7%)
Grade 2	20 (52.6%)
Grade 3	9 (23.7%)
Serous	7 (13.5%)
Clear cell	5 (9.6%)
Mixed	2 (3.8%)
Histological tumor size	
< 4 cm	27 (51.9%)
≥ 4 cm	25 (47.2%)
Postoperative FIGO* stage	
IA	25 (47.2%)
IB	12 (23.0%)
II	4 (7.5%)
IIIA	0 (0.0%)
IIIB	0 (0.0%)
IIIC1	5 (9.4%)
IIIC2	3 (5.7%)
IVA	0 (0.0%)
IVB	3 (5.7%)

* FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics (2009)

Table 2 Comparison of preoperative detection rate for different techniques and distribution of pelvic and paraaortic SLNs identified in planar lymphoscintigraphic and SPECT/CT images and intraoperative detection

	Planar lymphoscintigraphic DR (n, %)	SPECT/CT DR (n, %)	Intraoperative detection rate (n, %)
	25/52 (48.1%)	36/52 (69.2%)	35/49 * (71.4%)
Area of SLN detection			
Pelvis (exclusive)	13 (52.0%)	23 (63.9%)	23 (65.7%)
Paraaortic (exclusive)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Pelvis and paraaortic area	12 (48.0%)	13 (36.1%)	12 (34.3%)
Side of pelvis			
Left	2 (8.0%)	3 (8.3%)	3 (8.6%)
Right	7 (28.0%)	13 (36.1%)	12 (34.3%)
Bilateral	16 (64.0%)	20 (55.6%)	20 (57.1%)

DR: preoperative detection rate (drainage on lymphoscintigraphy); SLNs: sentinel lymph node. SPECT/CT: single photon emission computed tomography

* During surgery, three of the 52 patients showed peritoneal carcinomatosis, so SLN biopsy was ruled out. That results in 49 patients in whom SLN biopsy was attempted

marrow, and the remaining 10 patients (19%) showed an absence of lymphatic drainage of the hybrid tracer.

Among the 36 patients showing drainage, 79 SLNs were observed in the planar images, with a mean of 2.19 (SD 1.92) per patient, and 138 SLNs were visualized in the SPECT/CT images with a mean of 3.83 (SD 2.75) per patient ($p < 0.05$).

Intraoperative detection: surgery

During surgery, three patients (belonging to the group of patients with drainage) showed peritoneal carcinomatosis, so SLNB was ruled out. That results in 49 patients in whom SLNB was attempted. Among the 16 women without preoperative drainage and who underwent surgery, SLNs were intraoperatively detected in two patients. In the remaining 14 patients, the absence of lymphatic drainage was confirmed (26.9%). At least one SLN was intraoperatively detected in 35 patients of the 49, which means an intraoperative detection rate of 71.4% (35/49). These 35 women will comprise the group of patients for the accuracy analysis. These findings are shown in the flow chart of Fig. 4.

A total of 146 SLNs were excised with a mean of 4.17 (SD 2.81) SLN per patient (146/35), with bilaterality of 57.1% (20/35). Paraaortic SLNs were biopsied in 34.3% (12/35) of the patients. No isolated paraaortic SLNs were biopsied. Figure 5a shows the topographic distribution of the SLNs.

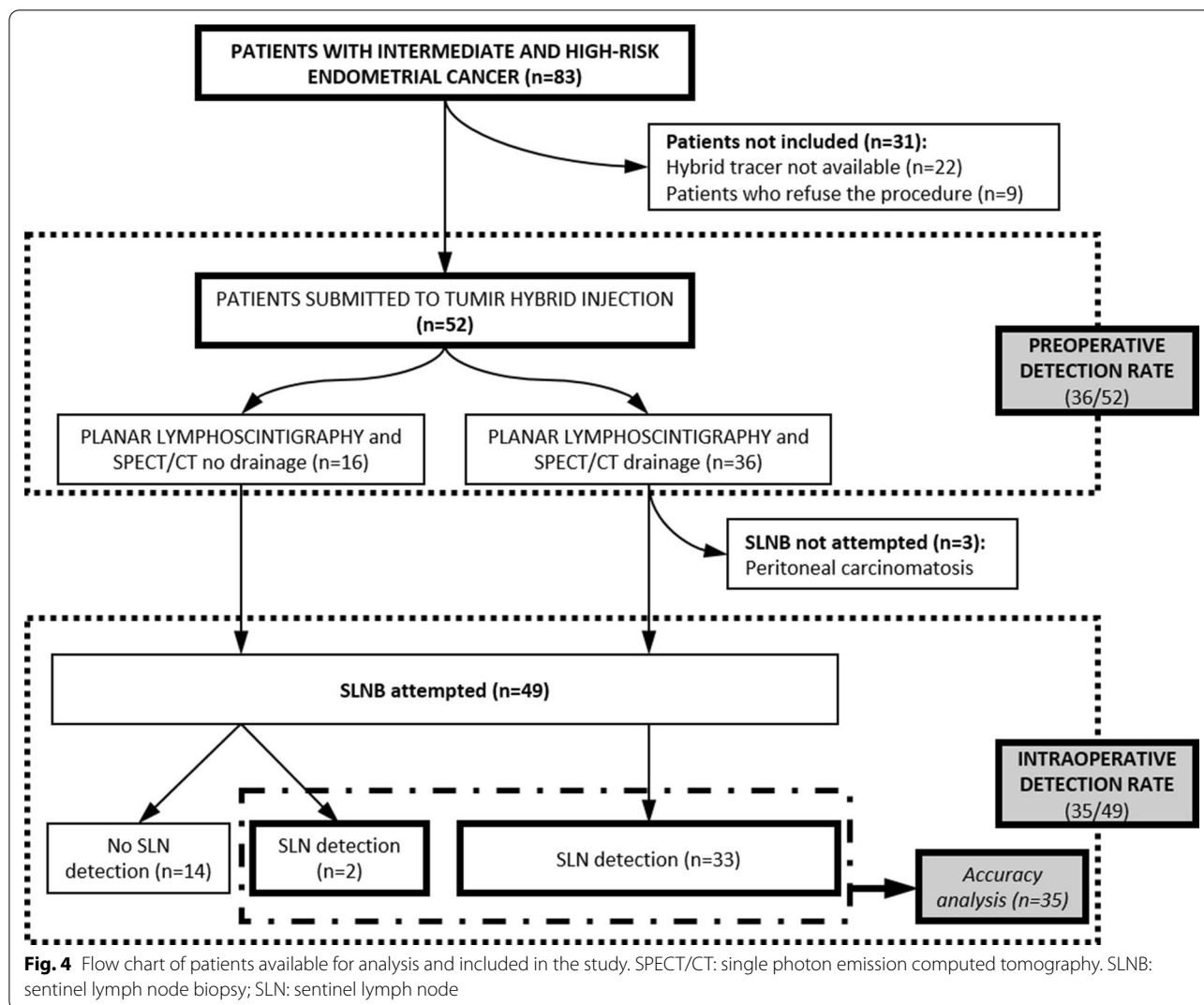
In the *analysis of SLN detection by tracer*, of the 146 SLNs excised, 96.6% (141/146) showed radioactivity signal, and 71.9% (105/146) showed fluorescence signal. Among the 146 SLNs, 68.5% (100/146) of the SLNs biopsied were detected by both components. In 28.1% (41/146), the SLNs were detected by the radioactive

signal, but we were not able to intraoperatively detect any emission of fluorescence of ICG, and in 3.4% (5/146) of the SLNs, fluorescence but not gamma emission was detected. There was a significant difference when comparing the detection tool used (gamma probe vs NIR optical laparoscopic camera) ($p < 0.001$). The topographic distribution based on the signal detected is shown in Fig. 5b.

In the *analysis of SLN detection by patient*, the radioactive component allowed the detection of SLNs in 97.1% (34/35) of the patients while the fluorescent component detected 80% (28/35). Among the 35 patients, in 20% (7/35) it was only one of the components and not both that allowed SLN detection. In 17.2% (6/35) of these patients, SLNs were detected only by the radioactive signal and in the remaining 2.8% (1/35) only one SLN with fluorescence emission was detected.

On comparing the SLNs pre-surgically visualized with those which were biopsied during surgery, there were no differences between the detection with SPECT/CT and surgical detection ($p < 0.83$), but there was a difference between planar and surgical detection and between planar and tomographic detection ($p < 0.05$).

In six women, more SLNs were biopsied during surgery than those visualized in the preoperative images, representing an increase in the number of lymphatic territories studied. Three patients with unilateral preoperative drainage presented bilateral SLNs; in one of these patients one paraaortic SLN was also biopsied. In two patients without drainage in the SPECT/CT, at least one unilateral SLN was biopsied, and in one of these patients paraaortic SLNs were also biopsied. In the remaining patient with unilateral pelvic drainage in the SPECT/CT, paraaortic SLNs underwent biopsy also.



Histological lymph node results

Among the 35 patients in whom at least one SLN was biopsied, the histopathological study showed lymph node metastasis in 14.3% (5/35). Of these five affected patients, only one patient had metastatic paraaortic SLN. In this patient, pelvic metastatic nodes have also been detected.

In the other 30 patients with negative SLNs, no metastatic node was found in the lymphadenectomy sample. SLN detection by the TUMIR approach for detecting nodal involvement in patients in whom intraoperative SLNB was achieved were 100% (95% CI; 56.6–100%) for the sensitivity and PPV and 100% (95% CI; 88.6–100%) for the specificity and NPV.

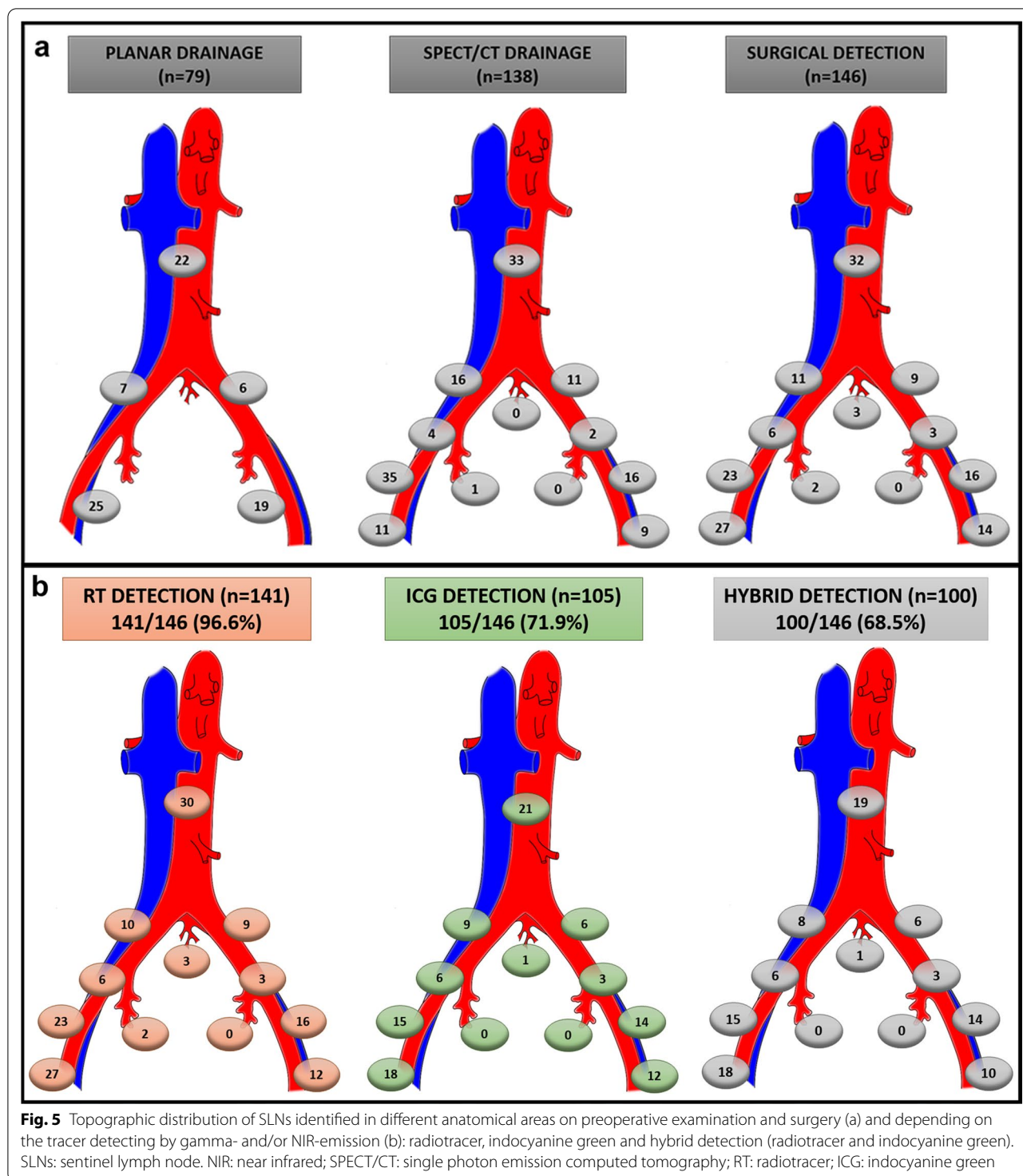
In three of the 14 patients without preoperative drainage and in whom intraoperative detection was not achieved, metastatic lymph nodes were observed in the lymphadenectomy; in two patients the lymph nodes were

of pelvic localization while in the other patient they were only paraaortic.

Discussion

To date the value of hybrid tracer has not been evaluated in EC. In our series, this hybrid tracer was injected into the myometrium by the TUMIR approach for SLNB in patients with preoperative characteristics high- and intermediate-risk with the aim of improving lymphatic staging in this group of tumors.

The overall preoperative detection rate (69%) was less than that reported with radiotracer injected by the TUMIR approach (71–82%) [6, 20], as was the paraaortic preoperative detection rate of 36% compared to 41–45% described in previous studies, which were not, in any case, exclusively paraaortic. However, we found a higher rate of preoperative bilateral pelvic detection (56%) compared to the previously mentioned studies (29–37%).



The overall intraoperative detection rate was 71%, similar to that reported with radiotracer only injected by the TUMIR approach (74%) [20]. The intraoperative detection rate in the bilateral pelvic region was 57%, being superior than in previous TUMIR studies (29%), and in

the paraaortic region SLNs were biopsied in 34%, similar to other studies published describing the TUMIR approach [20]. This increase in the detection rate of intraoperative bilateral pelvic SLN detection could be explained by the hybrid detection provided by this type

of tracer since resection of the SLN is facilitated thanks to the visualization of elevated contrast enhancement provided by ICG after having performed the dissection of the fatty lymph tissue guided by the acoustic signal of the gamma detector probe by the radioactive signal.

There was an absence of preoperative drainage in 16 patients. In six women, there was a higher uptake in bone marrow or leakage to the peritoneum. The latter can be explained by the learning curve of different ultrasonographers, since this is an operator-dependent technique, and there is an association between ultrasonographer experience and the rate of preoperative SLN detection [6]. Among the 10 remaining patients showing an absence of drainage, lymph node infiltration was detected in the lymphadenectomy in three, and two of these three patients had pelvic nodes metastasis, which was interpreted as a metastatic blockage, while in the remaining patient lymph node metastasis was found in the paraaortic territory. According to the Memorial Sloan Kettering Cancer Center algorithm [21], this should not be considered as a false negative, since in the absence of drainage lymphadenectomy is recommended. However, in this patient the pelvic lymphadenectomy was negative, which would have led to non-completion of the paraaortic lymphadenectomy. This case highlights the importance of the study directed at the paraaortic lymphatic territory.

In two of the 16 patients without preoperative drainage, four SLNs were intraoperatively biopsied by radioactivity and fluorescence. SLNs with low activity may be undetectable on SPECT/CT but not during the intraoperative scan with gamma probe, which has proved to be more sensitive. Nonetheless, the SPECT/CT in our series increased the detection of SLN with respect to planar lymphoscintigraphy and correlates with surgical detection, as previously reported [22, 23].

In this study, the absence of preoperative drainage was almost 27%. The hybrid tracer has been used in cervical tumors with 100% preoperative drainage rates and pelvic bilaterality [19]. Therefore, it could be inferred that in contrast with other tumors, other factors could interfere with drainage and the absence of drainage in EC would not be attributable to the hybrid tracer. It is probably due to a multifactorial origin related to EC and this type of myometrial injection, in which the injection dose is inside a very compact and highly vascularized interstitial tissue [6].

The 68.5% of the SLNs biopsied were detected by both components. The remaining of the SLNs were identified only by the detection of one of the two components. The lack of detection of fluorescence (28.1% of the SLNs) could be explained by the limit of sensitivity of the NIR optical laparoscopic camera in vivo, lower than ex vivo detection, probably related to attenuation from the fatty

tissue [17, 24]. In our series, we did not have a NIR camera for external detection to assess fluorescence [25]. The lack of radioactive detection (3.4%) might have been due to decay of the ^{99m}Tc obtaining a number of non-significant counts in vivo. In four of the five SLNs detected only with the fluorescence signal, the light emission was of great value since in one patient the drainage became bilateral, while in another patient without drainage at least one SLN was biopsied, and in another patient paraaortic SLNs were obtained. This demonstrates that the development of intraoperative fluorescence detector devices and the development and clinical implementation of new tracers are essential to improve and advance surgical efficacy. In addition, it cannot be ruled out that with TUMIR injection there may be a certain dissociation of the hybrid tracer which has not, to date, been described in other tumors and which may be related to the contact with blood, physiological saline and dilution in general. As a possible explanation, we hypothesize that it could be due to the injection being made in the myometrium, which is a highly vascularized structure probably with lesser volume of interstitial tissue and requires a greater volume of injected tracer. Also, some studies have analyzed the causes of the lower detection rate in this group of patients [26, 27]. For the TUMIR approach in particular, the association with older age, tumor size bigger than 2 cm and low radiotracer volumes have been demonstrated [6]. We did not detect an association between BMI and a failure of detection as in other reported series [26].

Many studies have used ICG exclusively for visual identification of the SLN in EC, with detection rates greater than 96% [28, 29] allowing a high visual contrast between the SLN and the adjacent tissues, once the drainage basin has been identified. One of the drawbacks of ICG is that the fluorescence signal is easily attenuated by the surrounding fatty tissue, unlike the radiotracer signal. That is why, the radiotracer linked to ICG allows a quick and effective identification of the SLN during the search through the fatty tissue. Another of the limitations of the ICG is that it has a rapid diffusion through the lymphatic system and stains all the lymphatics structures of a territory, making it difficult to discern the true SLN since it is not always the first visible lymph nodes, which results in 7–8% of empty packets [30]. In addition, it impedes obtaining a preoperative lymphatic mapping.

In our series, the radioactive signal was the only detection tool that allowed the identification of SLN in more than 17% of patients, so we recommend not ruling out this component in ES surgeries.

For these reasons, we consider that the radioactive component of the hybrid tracer (^{99m}Tc)Tc-albumin nanocolloid) cannot be obviated since it provides the route map to achieve the target basin.

Once the drainage basin is identified, the high visual contrast provided by the ICG signal offers rapid intraoperative removal of the SLN. Therefore, it serves as a multimodal surgical guide to the true SLN in a single component, avoiding empty lymph node packets and even showing the less usual drainage territories [31]. Together, both components of this hybrid tracer are of special relevance in cases of uterine tumors due to the presence of a complex network of pelvic lymphatic vessels in which knowledge of drainage prior to surgery helps in surgical planning.

In the accuracy analysis of this study, the sensitivity and the NPV obtained for the detection of node metastasis were 100% in women with intermediate- and high-risk EC. These values are greater than those reported in previous studies in high-risk EC after cervical injection, with sensitivities ranging from 57 to 96.3% and a NPV of 83.3–99% [32–34] and are especially greater than hysteroscopic (58–100% and 89–100%, respectively) and myometrial injection (75–100% and 96–100%, respectively) [35]. The rate of SLN infiltration observed in our series was 14.3%. The current recommendations indicate that performing systematic pelvic and paraaortic lymphadenectomy implies overtreatment in up to 80% of patients who do not have lymphatic involvement. In addition, one recent study suggested that adding lymphadenectomy to the study of the SLN does not reduce the risk of relapse [36]. On the other hand, patients with paraaortic metastasis have worse oncological results than those with exclusive pelvic lymphatic involvement and, therefore, it is essential to evaluate the status of paraaortic SLN [37].

The present study has some limitations. Among these, this study was performed in a single center and therefore may lack external validity. Among other limitations, it was of note that it was not possible to perform *ex vivo* detection of fluorescence of the biopsied SLNs with a NIR optical camera optimized for the detection of fluorescence in room light, and therefore, we do not know if the *in vivo* nonfluorescent radioactive SLNs would have been fluorescent by *ex vivo* stimulation with this another camera. The reduced number of patients is another limitation. However, one of the main strengths of this study was that it was a homogeneous group of patients with intermediate- and high-risk EC and all the surgeries were performed by the same surgical team. In addition, in the present study, all the patients underwent complete pelvic and paraaortic lymphadenectomy up to the renal vessels, in contrast with other studies evaluating the validity of SLNB in high-risk EC [38, 39].

Although the percentage of patients with drainage who could undergo intraoperative detection of the SLN was low (around 70%), the low rate of false negatives is promising. However, multicenter studies are needed

to confirm these results and validate that this procedure reduces morbidity, surgical time and costs. As the hybrid tracer injected via TUMIR provides information on the status of paraaortic lymph nodes, based on the recommendations of the clinical guidelines, the strategy to increase the number of patients undergoing intraoperative SLNB would be to inject the hybrid tracer into the cervix in patients without drainage. This would at least provide a map of pelvic lymphatic drainage and thereby avoid lymphadenectomy.

To our knowledge, this is the first study on the use of the hybrid tracer for the detection of SLNs in EC, which, furthermore, is injected via TUMIR. Our results of the use of this hybrid tracer confirm the feasibility of this procedure and are consistent with those described in prostate and cervical cancer [17, 19]. The hybrid tracer adds the benefits of presurgical planning with a dual intraoperative guidance, allowing a potential increase in SLN detection rate (up to 20% of patients in our series).

Conclusion

SLNB with a hybrid tracer injected by the TUMIR approach is feasible in intermediate- and high-risk EC. The hybrid tracer allows, in a single injection, the well-established benefits of the standard radioguided procedure and the visualization of SLNs by fluorescence imaging. In patients with depicted lymphatic drainage on preoperative SLN imaging, the use of hybrid tracer by TUMIR injection achieves an elevated paraaortic detection rate and allows a potential increase in SLN detection. Notwithstanding, based on our findings, the radioactive component of the hybrid tracer (^{99m}Tc]Tc-albumin nanocolloid) cannot be obviated.

Authors' contributions

NS-I, SV-S, PP involved in conceptualization. NS-I, AP, FC, MM, BD, AG, AS, JO, SV-S, PP took part in data curation. FM, MAA, NS-I, PP involved in formal analysis. NS-I, SV-S, AT, PP participated in investigation. NS-I, SV-S, PP took part in methodology. NS-I, SV-S, PP involved in project administration. NS-I, SV-S, PP, AT took part in resources. PP, SV-S involved in supervision. SV-S, PP took part in visualization. NS-I involved in writing original draft. NS-I, MAA, SV-S, PP, MDP involved in writing–review and editing. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

This research was funded by Instituto de Salud Carlos III (ICSIII) – Fondo de Investigación Sanitaria and ERDF “One Way to Europe” (PI1800728).

Availability of data and materials

The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

This study was performed in line with the principles of the Declaration of Helsinki. Approval was granted by the Ethics Committee of Hospital Clínic de Barcelona (approval registration number HCB/2019/0574).

Consent for publication

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

Competing interests

The authors declared that they have no competing of interests.

Author details

¹Department of Nuclear Medicine, Hospital Clínic of Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. ²Institute Clinic of Gynecology, Obstetrics, and Neonatology, Hospital Clínic of Barcelona, Barcelona, Spain. ³Department of Pathology, Hospital Clínic of Barcelona, Barcelona, Spain. ⁴Department of Surgical Oncology, Institut Claudi Regaud, Institut Universitari du Cancer de Toulouse - Oncopole, Toulouse, France. ⁵Department of Gynecology and Obstetrics, Centre Hospitalier Intercommunal des Vallées de l'Ariège, Saint-Jean-de-Verges, France. ⁶Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain. ⁷Faculty of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain. ⁸ISGlobal, Barcelona Institute for Global Health, Hospital Clínic-Universitat de Barcelona, 08036 Barcelona, Spain.

Received: 14 September 2021 Accepted: 17 November 2021

Published online: 14 December 2021

References

- Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2021;31:12–39.
- Altman AD, Ferguson SE, Atenafu EG, et al. Canadian high risk endometrial cancer (CHREC) consortium: analyzing the clinical behavior of high risk endometrial cancers. *Gynecol Oncol*. 2015;139:268–74.
- Abu-Rustum NR, Yashar CM, Bradley K, et al. NCCN Guidelines. Uterine Neoplasms Version 1.2021; 2021.
- Lecointre L, Lodi M, Faller É, et al. Diagnostic accuracy and clinical impact of sentinel lymph node sampling in endometrial cancer at high risk of recurrence: a meta-analysis. *J Clin Med*. 2020;9:3874.
- Skanjeti A, Dhompas A, Paschetta C, et al. Sentinel node mapping in gynecologic cancers: a comprehensive review. *Semin Nucl Med*. 2019;49:521–33.
- Angeles MA, Migliorelli F, León Ramírez LF, et al. Predictive factors of pre-operative sentinel lymph node detection in intermediate and high-risk endometrial cancer. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2020;64.
- Van Den Berg NS, Buckle T, Kleinjan GI, et al. Hybrid tracers for sentinel node biopsy. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;58:193–206.
- Guo J, Yang H, Wang S, et al. Comparison of sentinel lymph node biopsy guided by indocyanine green, blue dye, and their combination in breast cancer patients: a prospective cohort study. *World J Surg Oncol*. 2017;15:196.
- Ruiz R, Gorostidi M, Jaunarena I, et al. Sentinel node biopsy in endometrial cancer with dual cervical and fundal indocyanine green injection. *Int J Gynecol Cancer*. 2018;28:139–44.
- Papadia A, Gasparri ML, Radan AP, et al. Retrospective validation of the laparoscopic ICG SLN mapping in patients with grade 3 endometrial cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2018;144:1385–93.
- Crane LMA, Themelis G, Pleijhuis RG, et al. Intraoperative multispectral fluorescence imaging for the detection of the sentinel lymph node in cervical cancer: a novel concept. *Mol imaging Biol*. 2011;13:1043–9.
- Schaafsma BE, van der Vorst JR, Gaarenstroom KN, et al. Randomized comparison of near-infrared fluorescence lymphatic tracers for sentinel lymph node mapping of cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2012;127:126–30.
- Hutteman M, van der Vorst JR, Gaarenstroom KN, et al. Optimization of near-infrared fluorescent sentinel lymph node mapping for vulvar cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;206:89.
- Brouwer OR, van den Berg NS, Mathéron HM, et al. A hybrid radioactive and fluorescent tracer for sentinel node biopsy in penile carcinoma as a potential replacement for blue dye. *Eur Urol*. 2014;65:600–9.
- Stoffels I, Dissemmond J, Pöppel T, et al. Intraoperative fluorescence imaging for sentinel lymph node detection: prospective clinical trial to compare the usefulness of indocyanine green vs technetium tc 99m for identification of sentinel lymph nodes. *JAMA Surg*. 2015;150:617–23.
- van Leeuwen FWB, Schottelius M, Brouwer OR, et al. Trending: radioactive and fluorescent bimodal/hybrid tracers as multiplexing solutions for surgical guidance. *J Nucl Med*. 2020;61:13–9.
- van der Poel HG, Buckle T, Brouwer OR, et al. Intraoperative laparoscopic fluorescence guidance to the sentinel lymph node in prostate cancer patients: clinical proof of concept of an integrated functional imaging approach using a multimodal tracer. *Eur Urol*. 2011;60:826–33.
- Verbeek FPR, Tummers QRJG, Rietbergen DDD, et al. Sentinel lymph node biopsy in vulvar cancer using combined radioactive and fluorescence guidance. *Int J Gynecol Cancer*. 2015;25:1086–93.
- Paredes P, Vidal-Sicart S, Campos F, et al. Role of ICG-99mTc-nanocolloid for sentinel lymph node detection in cervical cancer: a pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017;44:1853–61.
- Torné A, Pahisa J, Vidal-Sicart S, et al. Transvaginal ultrasound-guided myometrial injection of radiotracer (TUMIR): a new method for sentinel lymph node detection in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;128:88–94.
- Barlin JN, Khoury-Collado F, Kim CH, et al. The importance of applying a sentinel lymph node mapping algorithm in endometrial cancer staging: beyond removal of blue nodes. *Gynecol Oncol*. 2012;125:531–5.
- Perissinotti A, Paredes P, Vidal-Sicart S, et al. Use of SPECT/CT for improved sentinel lymph node localization in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;129:42–8.
- Buda A, Elisei F, Arosio M, et al. Integration of hybrid single-photon emission computed tomography/computed tomography in the preoperative assessment of sentinel node in patients with cervical and endometrial cancer: our experience and literature review. *Int J Gynecol Cancer*. 2012;22:830–5.
- Mathéron HM, van den Berg NS, Brouwer OR, et al. Multimodal surgical guidance towards the sentinel node in vulvar cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;131:720–5.
- De Grand AM, Frangioni JV. An operational near-infrared fluorescence imaging system prototype for large animal surgery. *Technol Cancer Res Treat*. 2003;2:553–62.
- Sahbai S, Taran F-A, Staebler A, et al. Sentinel lymph node mapping using SPECT/CT and gamma probe in endometrial cancer: an analysis of parameters affecting detection rate. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017;44:1511–9.
- Martínez WR, García AM, Noriega E, et al. Failure of scintigraphy lymphatic mapping in endometrial cancer. Causes and solutions. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol*. 2021; <https://doi.org/10.1016/J.REMN.2021.02.016>
- Ruscito I, Gasparri ML, Braicu EI, et al. Sentinel node mapping in cervical and endometrial cancer: indocyanine green versus other conventional dyes—a meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2016;23:3749–56.
- Rossi EC, Kowalski LD, Scalici J, et al. A comparison of sentinel lymph node biopsy to lymphadenectomy for endometrial cancer staging (FIRES trial): a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Oncol*. 2017;18:384–92.
- Thomaier L, Jager L, Stone R, et al. Risk of empty lymph node packets in sentinel lymph node mapping for endometrial cancer using indocyanine green. *Int J Gynecol Cancer*. 2019;29:513–7.
- Pandit-Taskar N, Gemignani ML, Lyall A, et al. Single photon emission computed tomography SPECT-CT improves sentinel node detection and localization in cervical and uterine malignancy. *Gynecol Oncol*. 2010;117:59–64.
- Rajanbabu A, Agarwal R. A prospective evaluation of the sentinel node mapping algorithm in endometrial cancer and correlation of its performance against endometrial cancer risk subtypes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2018;224:77–80.

33. Ye L, Li S, Lu W, et al. A prospective study of sentinel lymph node mapping for endometrial cancer: is it effective in high-risk subtypes? *Oncologist*. 2019;24:1381–7.
34. Persson J, Salehi S, Bollino M, et al. Pelvic sentinel lymph node detection in high-risk endometrial cancer (SHREC-trial)—the final step towards a paradigm shift in surgical staging. *Eur J Cancer*. 2019;116:77–85.
35. Holloway RW, Abu-Rustum NR, Backes FJ, et al. Sentinel lymph node mapping and staging in endometrial cancer: a society of gynecologic oncology literature review with consensus recommendations. *Gynecol Oncol*. 2017;146:405–15.
36. Martinelli F, Ditto A, Bogani G, et al. Sentinel lymph node mapping in endometrial cancer: performance of hysteroscopic injection of tracers. *Int J Gynecol Cancer*. 2019;153:505–10.
37. Cosgrove CM, Cohn DE, Rhoades J, et al. The prognostic significance of aortic lymph node metastasis in endometrial cancer: potential implications for selective aortic lymph node assessment. *Gynecol Oncol*. 2019;153:505–10.
38. Touhami O, Grégoire J, Renaud MC, et al. Performance of sentinel lymph node (SLN) mapping in high-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2017;147:549–53.
39. Ehrisman J, Secord AA, Berchuck A, et al. Performance of sentinel lymph node biopsy in high-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol Rep*. 2016;17:69–71.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Submit your manuscript to a SpringerOpen[®] journal and benefit from:

- ▶ Convenient online submission
- ▶ Rigorous peer review
- ▶ Open access: articles freely available online
- ▶ High visibility within the field
- ▶ Retaining the copyright to your article

Submit your next manuscript at ▶ [springeropen.com](https://www.springeropen.com)

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

En el cáncer de cérvix y de endometrio, como en la mayoría de tumores sólidos, la infiltración ganglionar es uno de los factores pronósticos más importantes y con frecuencia determina la planificación del tratamiento adyuvante, teniendo impacto en el pronóstico de estas pacientes.

Utilizar un radiotrazador de forma aislada en la biopsia selectiva del ganglio centinela, puede ser un problema en algunas ocasiones. Aunque el procedimiento de identificación del ganglio centinela es sencillo, cuando éste está claramente separado del sitio de inyección, la resolución espacial limitada de la sonda de detección gamma puede dificultar la localización de ganglios muy próximos al tumor, ya que la actividad inyectada en la lesión primaria puede enmascarar la del ganglio centinela. También existe la dificultad añadida de la complejidad del drenaje linfático en algunas regiones anatómicas y la presencia de importantes y delicadas estructuras adyacentes a los ganglios linfáticos¹²². Este es el caso específico en los tumores ginecológicos, donde la zona de inyección está próxima a potenciales áreas de drenaje y el drenaje linfático en la pelvis es complejo.

Los colorantes vitales (azul de metileno, azul patente y el azul de isosulfán) se han utilizado como alternativa. Sin embargo, la tasa de detección de estos colorantes no es tan elevada en el cáncer de endometrio, debido a la tinción de los márgenes de resección, la dificultad de visualizar los conductos linfáticos teñidos en pacientes con elevado índice de masa corporal¹²³⁻¹²⁵ y por el riesgo de reacción alérgica y anafilaxia¹²⁶.

En la última década han aparecido otros trazadores no radiactivos cuya detección se basa en la emisión lumínica (o fluorescencia) tras su excitación con una determinada longitud de onda. Entre ellos, el más utilizado ha sido el ICG, con mínima toxicidad¹²⁷. No obstante, uno de los grandes condicionantes de la inyección de ICG y de cualquier otro colorante, es que debe administrarse minutos antes del inicio de la cirugía, motivo por el que no se pueden obtener imágenes que sirvan de mapa linfático antes de la disección quirúrgica (como las imágenes linfogammagráficas) y que proporcionen información sobre las áreas de drenaje inesperado. Estas imágenes prequirúrgicas que permiten planificar la biopsia selectiva del ganglio centinela, son de especial interés en los casos de tumores uterinos, debido a la presencia de una compleja red de vasos linfáticos pelvianos existentes, que hace parcialmente impredecible el posible mapa linfático.

Para solventar estas desventajas, se han desarrollado recientemente los trazadores híbridos ($[^{99m}\text{Tc}]$ Tc-nanocoloide de albúmina-ICG) que combinan el potencial y las propiedades beneficiosas de ambas modalidades. Por un lado, el componente radiactivo ($[^{99m}\text{Tc}]$ Tc-nanocoloide de albúmina) nos aporta un mapa linfático prequirúrgico del tumor (linfogammagrafía/SPECT/TC) que permite conocer la localización de los ganglios centinela antes de su disección; e intraoperatoriamente, nos proporciona información de la situación exacta del ganglio centinela, a través de los tejidos, mediante la señal acústica de la sonda gammadetectora. Por otro lado, una vez se ha localizado el punto de máxima actividad guiada por la señal gamma del componente radiactivo, gracias a la mayor capacidad de penetración que posee, el componente fluorescente resulta de gran utilidad en la visualización y resección del ganglio centinela, ya que proporciona imágenes visuales intraoperatorias de elevado contraste y alta resolución que facilitan el reconocimiento del ganglio centinela y su exéresis precisa. Este trazador híbrido ha demostrado una detección más eficiente y precisa de la localización de los ganglios centinela, con respecto al colorante azul y a los compuestos por separado^{60,63-67} en otras patologías.

El trazador híbrido ha sido utilizado en la detección de diferentes tipos de tumor, incluyendo neoplasias urológicas como el cáncer de próstata^{57,120} y cáncer de pene^{61,64}, mejorando la detección en áreas con elevada actividad de fondo; sin embargo en ginecología, sólo se ha evaluado en el cáncer de vulva^{62,121}. En esta indicación, este marcador híbrido proporciona una alta tasa de detección del ganglio centinela (96–100%), con la ventaja añadida de que reduce hasta cinco veces la dosis de ICG administrada, en relación a cuando se utiliza en solitario. Los resultados son excelentes, y han demostrado un rendimiento igual o superior al uso exclusivo de los trazadores por separado.

En este proyecto de investigación se ha evaluado el papel del trazador híbrido en las neoplasias ginecológicas del cuello uterino y del endometrio, así como técnicas específicas de detección de este trazador, también híbridas.

Actualmente, la biopsia selectiva del ganglio centinela en el **cáncer de cérvix** está indicada en etapas precoces de la enfermedad (estadio IA1 con invasión linfovascular, IA2, IB1, IB2 o IIA1)². La fiabilidad de la técnica en este grupo de pacientes ha sido publicada en varios estudios multicéntricos y revisiones sistemáticas^{128,129}. La mayor tasa de detección se obtiene mediante la combinación de un radiotrazador con un colorante vital (97%) frente al uso por separado del radiotrazador (88%) y/o del colorante (84%)¹³⁰.

En nuestro trabajo, se analizó la tasa de detección intraoperatoria del ganglio centinela obtenida con el trazador híbrido ([^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG) en el grupo de pacientes con cáncer de cérvix, a las que además de inyectarles el trazador híbrido se les inyectó azul de metileno al comienzo de la cirugía. Se observó que el colorante azul fue el trazador menos útil para la identificación de los ganglios centinela, con una media de 2,5 ganglios centinela por paciente, en contraste con 4,1 y 4,2 ganglios centinela por paciente para las señales gamma y de fluorescencia, respectivamente. Estos datos están en consonancia con los hallazgos previamente descritos en la literatura^{64,131,132}. Se identificaron, además, ganglios centinela de forma bilateral en el 100% de las pacientes con el trazador híbrido mediante ambos componentes (señal gamma y señal de fluorescencia). Sin embargo, el colorante azul mostró drenaje bilateral en tan solo el 67% de las pacientes. Todos los ganglios centinela azules también fueron radiactivos y / o fluorescentes, por lo que el colorante azul no aumentó la tasa de detección del ganglio centinela en relación con el trazador híbrido.

A pesar de que el trazador híbrido es un trazador único, tres ganglios centinela de tres pacientes diferentes fueron detectados solamente por una de las señales, un ganglio centinela por solo la señal gamma del radiotrazador y dos ganglios centinela por la señal de fluorescencia del ICG solamente. En el primer caso, la falta de detección de fluorescencia puede ser explicada por el límite de la sensibilidad de la cámara óptica.

En el examen histopatológico de los ganglios centinela, se observó enfermedad micrometastásica en dos pacientes, en una de ellas el tamaño de las células metastásicas era de 1 mm, lo suficientemente pequeñas como para ser infradiagnosticadas en un examen patológico de rutina. El ganglio centinela infiltrado fue detectado por ambas señales (gamma y de fluorescencia) y de los ganglios disecados en esta paciente, fue el único ganglio afectado. En la otra paciente, el tamaño de las células metastásicas fue de 1,5 mm. La detección de metástasis ganglionares de bajo volumen ha demostrado tener un papel pronóstico en el cáncer de cuello uterino¹³³, por lo que el análisis histológico convencional resulta insuficiente y es la razón por la que la biopsia selectiva del ganglio centinela no puede omitirse en la evaluación del estado ganglionar del cáncer de cérvix.

Este trabajo constituye el primer estudio que valora el trazador híbrido en este tipo de cáncer hasta el momento. Nuestros resultados están de acuerdo con los publicados en otras patologías

como el cáncer de próstata^{134,135} y confirman la viabilidad del procedimiento en pacientes con cáncer cervical en estadio precoz. Con estos datos, el trazador híbrido podría convertirse en una alternativa a la técnica combinada actual, ya que proporciona una tasa de detección más alta que la del colorante azul.

En el **cáncer de endometrio** de bajo riesgo, la biopsia selectiva del ganglio centinela está incluida en las guías clínicas, basándose en las elevadas tasas de detección reportadas (del 80 al 100%)^{111,136,137} pese a la baja incidencia de metástasis ganglionares. Históricamente, realizar la biopsia selectiva del ganglio centinela en los casos de alto riesgo había sido una cuestión controvertida. Evidencias recientes indican que la biopsia selectiva del ganglio centinela puede aplicarse en casos con histología de alto riesgo (grado 3, carcinoma seroso, carcinoma de células claras o carcinosarcoma) con resultados prometedores, con tasas de detección del 89% y tasas de falsos negativos del 5%, pudiendo ser, por tanto, una alternativa a la linfadenectomía^{8,113,138,139}. Por otro lado, el manejo de las pacientes con cáncer de endometrio de riesgo intermedio depende de cada centro, aunque suelen manejarse como los tumores de alto riesgo.

En nuestra serie, hemos utilizado este trazador híbrido inyectado mediante técnica TUMIR para la biopsia selectiva del ganglio centinela en pacientes con histología de riesgo alto e intermedio, obteniendo una tasa de detección intraoperatoria del 71,4%, similar al publicado con el radiotrazador únicamente, inyectado por la vía TUMIR (74%)¹⁴⁰.

El 68,5% de los ganglios centinela biopsiados fueron detectados intraoperatoriamente por ambos componentes (señal gamma y señal de fluorescencia). El resto de los ganglios centinela se identificaron solo mediante la detección de uno de los dos componentes. La falta de detección de fluorescencia (28,1%) podría explicarse por el límite de sensibilidad de la cámara óptica laparoscópica NIR in vivo, igual que había ocurrido en el cáncer de cérvix. Artículos anteriores en cáncer de vulva y próstata han referido tasas de detección in vivo inferiores a las tasas ex vivo, debido a la atenuación de la señal de fluorescencia por el tejido adiposo adyacente^{132,134} y éste podría ser uno de los motivos. La falta de detección radiactiva (3,4%) podría deberse a la desintegración del ^{99m}Tc, puesto que en un paciente en el que existe un ganglio centinela con baja actividad prequirúrgica, que es sometido a procedimientos en los que hay un intervalo largo entre la inyección y la cirugía, es posible que esta actividad no pueda detectarse con la sonda gamma, ya sea por baja actividad o por la escasa relación en la actividad ganglio centinela/fondo. Esto apoya el desarrollo de dispositivos detectores de fluorescencia intraoperatorios y que tanto el desarrollo como la implementación clínica de nuevos trazadores son esenciales para mejorar y promover la eficacia quirúrgica. Además, no se puede descartar que con la inyección de TUMIR pueda existir una cierta disociación del trazador híbrido, que hasta la fecha no ha sido descrita en otros tumores, y que puede estar relacionada con el contacto con sangre, el suero fisiológico y la dilución en general. Como posible explicación planteamos la hipótesis de que podría deberse a que la inyección que se realiza en el miometrio, que es una estructura muy vascularizada, probablemente con menor volumen de tejido intersticial, podría requerir un mayor volumen de trazador inyectado. Además, algunos estudios han analizado las causas de la menor tasa de detección en este grupo de pacientes^{141,142}. Para el enfoque TUMIR en particular, se ha demostrado la asociación de una menor detección del radiotrazador con la edad avanzada, el tamaño del tumor mayor de 2 cm y los volúmenes bajos de radiotrazador¹⁴³.

Muchos estudios han utilizado ICG exclusivamente para la identificación visual del ganglio centinela en el cáncer de endometrio, con tasas de detección superiores al 96%^{40,105}, lo que permite un alto contraste visual entre el ganglio centinela y los tejidos adyacentes. Uno de los inconvenientes del uso aislado del ICG es que, a diferencia de la señal gamma del radiotrazador, la señal de fluorescencia es fácilmente atenuada por el tejido graso circundante, pudiendo dificultar la detección de algunos ganglios centinela. Es por ello que el radiotrazador combinado

con el ICG permite una identificación rápida y eficaz del ganglio centinela durante la búsqueda a través del tejido graso, gracias a la mayor capacidad de penetración de la señal gamma en los tejidos. Una vez que se identifica la localización del punto de máxima actividad, el alto contraste visual proporcionado por la señal de fluorescencia del ICG, ofrece una óptima resección del ganglio centinela. Otra de las limitaciones del ICG es que tiene una rápida difusión por el sistema linfático y tiñe todas las estructuras linfáticas de un territorio, siendo difícil discernir el verdadero ganglio centinela, puesto que no siempre son los primeros ganglios linfáticos visibles y que hasta en un 7-8% de los casos pueden tratarse de *empty packets*⁵¹. También impide la obtención de un mapeo linfático preoperatorio, que se puede corregir si se inyecta junto con un radiotrazador que le permite depositarse y permanecer retenido en mayor cantidad en el primer ganglio que recibe el drenaje tumoral, identificando así el verdadero ganglio centinela. El uso de los radiotrazadores nos permite realizar imágenes preoperatorias (imágenes linfogammagráficas planares e imágenes tridimensionales de SPECT/TC), esenciales para obtener el mapa linfático que será la guía durante la cirugía, indicando la precisa localización anatómica de ganglios centinela pelvianos y paraaórticos, e incluso detectando ganglios centinela en localizaciones inesperadas que serían obviadas en las linfadenectomías de rutina¹⁴⁴. Además, en nuestra serie, en más del 17% de las pacientes se detectó el ganglio centinela únicamente mediante la señal gamma. Por todas estas razones, consideramos importante no descartar el componente radiactivo en las cirugías de cáncer de endometrio. Las guías deberían incluir la utilización de los radiotrazadores junto con el ICG, ya sea de forma secuencial o a través de trazadores híbridos; asimilándose a las recomendaciones de las guías europeas para la detección de ganglio centinela en cáncer de vulva y cáncer de cérvix, que incluyen la utilización de radiotrazadores de forma aislada o combinada con colorantes^{33,145}. En conjunto, ambos componentes de este trazador híbrido son de especial relevancia en casos de tumores del cuerpo uterino, debido a la presencia de una compleja red de vasos linfáticos pelvianos en los que el conocimiento del drenaje previo a la cirugía ayuda en la planificación quirúrgica.

La sensibilidad y el valor predictivo negativo para la detección de metástasis linfáticas en nuestro estudio con las pacientes de cáncer de endometrio fue del 100%, siendo superior a la de estudios previos realizados en tumores de alto riesgo después de la inyección cervical^{112,146}, histeroscópica o miometrial intraoperatoria¹¹⁹.

El trazador híbrido agrega los beneficios de la planificación prequirúrgica con una guía intraoperatoria dual, lo que permite un aumento potencial en la tasa de detección del ganglio centinela (hasta en un 20% de las pacientes de nuestra serie). Hasta donde sabemos, éste es el primer estudio sobre el uso del trazador híbrido para la detección del ganglio centinela en cáncer de endometrio de riesgo intermedio y alto que, además, se inyecta mediante vía TUMIR. Nuestros resultados del uso de este trazador híbrido confirman la viabilidad de este procedimiento y son consistentes con los descritos en otras neoplasias de la pelvis, como el cáncer de próstata y de cuello uterino^{134,147}.

Según nuestros resultados, en todas las pacientes con **cáncer de cérvix**, el trazador híbrido (^{99m}Tc)Tc-nanocoloide de albúmina-ICG) fue capaz de detectar preoperatoriamente al menos un ganglio centinela, observando drenaje linfático pelviano bilateral en la linfogammagrafía de las 16 pacientes e incluso una paciente mostró drenaje paraaórtico.

Tal y como se ha publicado en estudios previos, en las imágenes de SPECT/TC se obtuvo una tasa de detección del ganglio centinela preoperatoria más elevada que con la linfogammagrafía planar¹⁴⁸.

Estudios previamente publicados sobre el uso de ICG, tienden a usar fluorescencia en lugar de radiotrazadores para evitar la realización de la linfogammagrafía^{105,149}. En nuestra opinión, no se

puede omitir el uso del radiotrazador porque se prescinde de la imagen preoperatoria que es un mapa de ruta para los cirujanos que es utilizado posteriormente como guía intraoperatoria, con especial interés cuando se detecta drenaje en territorios inesperados^{150,151}. Además, en los tumores con drenaje linfático hacia la cavidad abdominal, debido a la compleja localización de los ganglios centinela, se requiere más tiempo para el procedimiento quirúrgico y aumenta el riesgo de que ocurran complicaciones tempranas.

Por otro lado, en las pacientes con **cáncer de endometrio**, en las que se utilizó el trazador híbrido (^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG) para la detección del ganglio centinela, se observó drenaje hacia las cadenas pelvianas y/o paraaórticas con una tasa de detección preoperatoria del ganglio centinela del 69%, inferior a la publicada con el radiotrazador solo inyectado por la vía TUMIR (71%-82%)^{140,143}. En ningún caso el drenaje fue paraaórtico exclusivamente, sin embargo, encontramos una mayor tasa de detección preoperatoria pelviana bilateral (56%), en comparación con los trabajos mencionados anteriormente (29%-37%).

De acuerdo con los estudios previamente publicados, la SPECT/TC demostró un incremento significativo de la detección del ganglio centinela respecto a la linfogammagrafía planar (69% frente al 48%) y una correlación significativa con la detección quirúrgica. Estas imágenes preoperatorias permiten realizar una cirugía más dirigida, que además ayuda a reducir el número de complicaciones^{144,152}.

Es de destacar, que en este grupo de pacientes con cáncer de endometrio hubo ausencia de drenaje preoperatorio en casi el 31% de las mujeres, y hasta en un 6% se asoció con difusión peritoneal del trazador inyectado. Esto último sería explicable por la curva de aprendizaje de los diferentes ecografistas, ya que se trata de una técnica dependiente del operador y se ha demostrado asociación entre la experiencia del ecografista y la tasa de detección preoperatoria del ganglio centinela¹⁴³. Además, es de destacar que el trazador híbrido ha sido utilizado en tumores de cérvix uterino, con tasas de drenaje preoperatorio y bilateralidad pelviana del 100%. Por lo tanto, podría inferirse que existen otros factores relacionados con este tipo de inyección TUMIR y con el cáncer de endometrio que, a diferencia de otros tumores, interfieren en el drenaje y, por tanto, no puede atribuirse la ausencia de drenaje al trazador híbrido, sino a un origen multifactorial^{143,147}.

En los últimos años, además de las mejoras en los trazadores, ha habido una gran evolución de diferentes técnicas quirúrgicas radioguiadas, la tecnología y el diseño de los dispositivos que combinan las señales acústicas y visuales. Todo ello, con el fin de identificar de forma precisa y más sencilla el ganglio centinela, lo que permitirá elevar su tasa de detección, mejorando con ello la estadificación ganglionar de las pacientes afectadas¹⁴⁵.

Para la detección intraoperatoria del trazador híbrido, se necesitan cámaras NIR especializadas para la detección de la ICG y la sonda gamma para la detección del radiotrazador. En la actualidad, se ha desarrollado una sonda de detección dual, conocida con el nombre de sonda opto-nuclear capaz de detectar con un único dispositivo, tanto la emisión gamma del ^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina como la emisión lumínica en el espectro de casi infrarrojos del ICG. Este dispositivo detecta, incluso, la fluorescencia sin tener que atenuar las luces de quirófano, ya que tiene señal auditiva/acústica en lugar de visual. Al igual que las sondas detectoras convencionales, proporciona una señal acústica proporcional a la intensidad del trazador híbrido detectado. Este dispositivo ha sido utilizado para cirugía abierta en cáncer de mama, pene y tumores de cabeza y cuello¹⁰⁰, pero no ha sido probada con anterioridad en cánceres ginecológicos.

En un subgrupo de las pacientes con cáncer de cérvix de nuestro trabajo, se valoró también la detección dual intraoperatoria del ganglio centinela utilizando una **sonda opto-nuclear durante el procedimiento quirúrgico por laparoscopia**.

Esta modalidad de sonda de detección híbrida permite la detección dual de las señales gamma y de fluorescencia intraoperatoriamente, con un único dispositivo.

En la literatura, estudios previos han demostrado la viabilidad de la sonda opto-nuclear en 9 pacientes con cáncer de pene y de cabeza y cuello, en los que se utilizó el trazador híbrido, y en 21 pacientes con cáncer de mama en las que se aplicaron inyecciones separadas de ICG y [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina^{100,153}. En nuestro estudio se ha utilizado esta tecnología ampliando su uso a otros casos de cirugía abierta (melanoma) y extendiéndose al entorno laparoscópico en pacientes con cáncer de cérvix, identificando al menos un ganglio centinela en todos los pacientes y obteniendo una tasa de detección del ganglio centinela del 100%.

En la cirugía laparoscópica, la señal de fluorescencia pudo localizar in vivo el 62% de los ganglios centinela del cáncer de cérvix, resultados inferiores a los obtenidos mediante cirugía abierta para el resto de tumores (melanoma, cáncer de mama, cabeza y cuello), en los que detectó el 83% de los ganglios centinela. La limitada libertad de movimientos de la sonda en los procedimientos laparoscópicos, podría explicar esta menor tasa de detección de fluorescencia en pacientes de cáncer de cérvix puesto que, tal como se ha publicado previamente, el posicionamiento de la sonda es crítico para una correcta detección de la fluorescencia¹⁰⁰. Nuestra experiencia, por tanto, también confirma esta limitación ya descrita, incluso añade que en los procedimientos laparoscópicos parece que esta dificultad se acentúa todavía más.

El personal de Medicina Nuclear y los cirujanos que manejaron la sonda, calificaron la utilización de la opción de detección de fluorescencia como fácil de usar, cómoda y similar a una sonda detectora de rayos gamma convencional. Por otro lado, el hecho de que el modo de detección de fluorescencia de este dispositivo pueda utilizarse sin atenuar las luces en el quirófano, también fue valorado positivamente por los cirujanos.

En línea con los hallazgos previamente publicados, este estudio subraya la viabilidad de utilizar la tecnología de la sonda dual opto-nuclear para la biopsia selectiva del ganglio centinela en cirugías abiertas y, aunque con ciertas limitaciones, la extiende al entorno laparoscópico en pacientes con cáncer de cérvix.

El principal **punto fuerte** de los estudios que conforman la presente tesis es que incluyen una cohorte homogénea de pacientes con cáncer de cérvix en estadio precoz (IA1 con invasión linfovascular, IA2 o IB1) y cáncer de endometrio de riesgo preoperatorio intermedio y alto. Por otro lado, el manejo de todas las pacientes incluidas en nuestros estudios también fue homogéneo, puesto que todas las cirugías fueron realizadas por el mismo equipo quirúrgico y, en todas las pacientes con cáncer de endometrio, se realizó una estadificación ganglionar completa mediante una linfadenectomía pelviana bilateral y paraaórtica hasta los vasos renales. Esto es de gran interés, puesto que en la mayoría de estudios previos que evalúan la técnica de detección del ganglio centinela mediante la inyección cervical en pacientes con cáncer de endometrio de alto riesgo, la linfadenectomía paraaórtica no se realiza de forma sistemática, sino en función de la apreciación del cirujano^{154,155}.

Nuestros estudios también presentan ciertas **limitaciones**. Una limitación importante es el diseño unicéntrico del estudio, lo que no le confiere validez externa ni permite evaluar su reproducibilidad en otros escenarios. Sin embargo, es el diseño unicéntrico el que asegura la homogeneidad de nuestra cohorte, así como del manejo de las pacientes y del procesamiento

de los ganglios linfáticos, incrementando así la validez interna. Otra limitación es el pequeño número de pacientes incluidas, pero en nuestro conocimiento, éste es el primer trabajo que utiliza el trazador híbrido en estos tumores ginecológicos.

Por otro lado, dentro de las **perspectivas de futuro** y con el objetivo de incrementar la tasa de drenaje en las pacientes con cáncer de endometrio, sería interesante realizar una inyección cervical del trazador híbrido en las pacientes sin drenaje que aportaría, al menos, un mapa linfático de drenaje pelviano y permitiría evitar así la linfadenectomía. Si no fuese posible esta opción, y a la espera de los resultados del estudio HYBRID ENDONODE, que compara el mapa linfático cervical y miometrial, todavía en fase de reclutamiento, se podría plantear realizar una doble punción (por vía TUMIR y vía cervical) del trazador híbrido a todas las pacientes.

Idealmente, sería necesario realizar un estudio prospectivo multicéntrico para el cáncer de cérvix y de endometrio, tanto para tumores de bajo riesgo, como de riesgo intermedio y alto, incluyendo un amplio número de pacientes que permitiera evaluar la reproducibilidad de la técnica de detección del ganglio centinela mediante trazador híbrido para cada situación clínica.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. En el cáncer de endometrio, el drenaje observado en la linfogammagrafía prequirúrgica tras la inyección del trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG, sigue un patrón pelviano bilateral en aproximadamente la mitad de las pacientes. En un tercio de los casos con drenaje pelviano, existe también drenaje paraaórtico.
2. La tasa de detección intraoperatoria del ganglio centinela en el cáncer de endometrio, utilizando el trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG ha sido del 71,4%, resultando similar al radiotrazador solo inyectado por la vía TUMIR, pero agregando, con una única inyección, los beneficios de una guía intraoperatoria dual en la detección del ganglio centinela.
3. En el cáncer de cérvix el drenaje observado en la linfogammagrafía prequirúrgica, tras la inyección del trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG, sigue un patrón pelviano bilateral en todas las pacientes, con drenaje paraaórtico esporádico.
4. La tasa de detección intraoperatoria del ganglio centinela en el cáncer de cérvix, utilizando el trazador híbrido [^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina-ICG ha sido del 100%, resultando superior a la obtenida al inyectar la combinación de radiotrazador ([^{99m}Tc]Tc-nanocoloide de albúmina) y colorante azul.
5. La detección intraoperatoria del ganglio centinela utilizando una sonda laparoscópica opto-nuclear, es viable en la cirugía laparoscópica de pacientes con cáncer de cérvix y permite detectar la señal gamma y de fluorescencia de forma simultánea.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71:209-49. doi:10.3322/CAAC.21660
2. Bradley K, Frederick P, Reynolds RK, Tanner E, Comprehensive RHL, Urban R. Cervical Cancer. Version 1.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. 2022. 2022.
3. Buist MR, Pijpers RJ, Van Lingen A, Van Diest PJ, Dijkstra J, Kenemans P, et al. Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes followed by lymph node dissection in patients with early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2003;90:290-6. doi:10.1016/S0090-8258(03)00277-4
4. Lecuru FR, McCormack M, Hillemanns P, Anota A, Leitao M, Mathevet P, et al. SENTICOL III: an international validation study of sentinel node biopsy in early cervical cancer. A GINECO, ENGOT, GCIG and multicenter study. *Int J Gynecol Cancer*. 2019;29:829-34. doi:10.1136/IJGC-2019-000332
5. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martón A, Ledermann J, et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: Diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2016;27:16-41. doi:10.1093/annonc/mdv484
6. Kim CH, Khoury-Collado F, Barber EL, Soslow RA, Makker V, Leitao MM, et al. Sentinel lymph node mapping with pathologic ultrastaging: a valuable tool for assessing nodal metastasis in low-grade endometrial cancer with superficial myoinvasion. *Gynecol Oncol*. 2013;131:714-9. doi:10.1016/J.YGYNO.2013.09.027
7. Altay A, Toptas T, Dogan S, Simsek T, Pestereli E. Analysis of Metastatic Regional Lymph Node Locations and Predictors of Para-aortic Lymph Node Involvement in Endometrial Cancer Patients at Risk for Lymphatic Dissemination. *Int J Gynecol Cancer*. 2015;25:657-64. doi:10.1097/IGC.0000000000000392
8. Soliman PT, Westin SN, Dioun S, Sun CC, Euscher E, Munsell MF, et al. A prospective validation study of sentinel lymph node mapping for high-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2018;146:234-9. doi:10.1016/j.ygyno.2017.05.016.A
9. Touhami O, Grégoire J, Renaud MC, Sebastianelli A, Plante M. Performance of sentinel lymph node (SLN) mapping in high-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2017;147:549-53. doi:10.1016/j.ygyno.2017.09.014
10. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, Cibula D, Mirza MR, Marnitz S, et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2021;31:12-39. doi:10.1136/ijgc-2020-002230
11. Willard-Mack CL. Normal structure, function, and histology of lymph nodes. *Toxicol Pathol*. 2006;34:409-24. doi:10.1080/01926230600867727
12. Lécuru F, Neji K, Robin F, Darles C, De Bièvre P, Taurelle R. Lymphatic drainage of the uterus. Preliminary results of an experimental study. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 1997;26:418-23.
13. Nieweg OE, Estourgie SH. What is a sentinel node and what is a false-negative sentinel node? *Ann Surg Oncol*. 2004;11:169-73. doi:10.1007/BF02523623
14. E A Gould, T Winship, P H Philbin HHK. Observations on a "sentinel node" in cancer of

- the parotid. *Cancer*. 1960;13:77-8. doi: 10.1002/1097-0142(196001/02)13:1<77::aid-cncr2820130114>3.0.co;2-d
15. Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer*. 1977;39:456-66.
 16. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*. 1992;127:392-9. doi:10.1001/ARCHSURG.1992.01420040034005
 17. Alex JC, Krag DN. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. *Surg Oncol*. 1993;2:137-43. doi:10.1016/0960-7404(93)90001-F
 18. Alex JC, Weaver DL, Fairbank JT, Rankin BS, Krag DN. Gamma-probe-guided lymph node localization in malignant melanoma. *Surg Oncol*. 1993;2:303-8. doi:10.1016/S0960-7404(06)80006-X
 19. Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairbank JT. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol*. 1993;2:335-40. doi:10.1016/0960-7404(93)90064-6
 20. Levenback C, Burke TW, Gershenson DM, Morris M, Malpica A, Ross MI. Intraoperative lymphatic mapping for vulvar cancer. *Obstet Gynecol*. 1994;84:163-7
 21. Kinney WK, Hodge DO, Egorshin E V., Ballard DJ, Podratz KC. Surgical treatment of patients with stages IB and IIA carcinoma of the cervix and palpably positive pelvic lymph nodes. *Gynecol Oncol*. 1995;57:145-9. doi:10.1006/GYNO.1995.1116
 22. Burke TW, Levenback C, Tornos C, Morris M, Wharton JT, Gershenson DM. Intraabdominal lymphatic mapping to direct selective pelvic and paraaortic lymphadenectomy in women with high-risk endometrial cancer: results of a pilot study. *Gynecol Oncol*. 1996;62:169-73. doi:10.1006/GYNO.1996.0211
 23. Albertini JJ, Wayne Cruse C, Rapaport D, Wells K, Ross M, Deconti R, et al. Intraoperative radio-lympho-scintigraphy improves sentinel lymph node identification for patients with melanoma. *Ann Surg*. 1996;223:217-24. doi:10.1097/00000658-199602000-00016
 24. Leiter U, Stadler R, Mauch C, Hohenberger W, Brockmeyer N, Berking C, et al. Complete lymph node dissection versus no dissection in patients with sentinel lymph node biopsy positive melanoma (DeCOG-SLT): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17:757-67. doi:10.1016/S1470-2045(16)00141-8
 25. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, Mozzillo N, Elashoff R, Essner R, et al. Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Engl J Med*. 2006;355:169-70. doi:10.1056/NEJM0A060992
 26. Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, Brown AM, Harlow SP, Costantino JP, et al. Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2010;11:927-33. doi:10.1016/S1470-2045(10)70207-2
 27. Stehman FB, Bundy BN, Thomas G, Varia M, Okagaki T, Roberts J, et al. Groin dissection versus groin radiation in carcinoma of the vulva: a Gynecologic Oncology Group study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1992;24:389-96. doi:10.1016/0360-3016(92)90699-I

28. Levenback CF, Ali S, Coleman RL, Gold MA, Fowler JM, Judson PL, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in women with squamous cell carcinoma of the vulva: a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol.* 2012;30:3786-91. doi:10.1200/JCO.2011.41.2528
29. Oonk MH, van Hemel BM, Hollema H, de Hullu JA, Ansink AC, Vergote I, et al. Size of sentinel-node metastasis and chances of non-sentinel-node involvement and survival in early stage vulvar cancer: results from GROINSS-V, a multicentre observational study. *Lancet Oncol.* 2010;11:646-52. doi:10.1016/S1470-2045(10)70104-2
30. Echt ML, Finan MA, Hoffman MS, Kline RC, Roberts WS, Fiorica J V. Detection of sentinel lymph nodes with lymphazurin in cervical, uterine, and vulvar malignancies. *South Med J.* 1999;92:204-8. doi:10.1097/00007611-199902000-00008
31. Barranger E, Grahek D, Cortez A, Talbot JN, Uzan S, Darai E. Laparoscopic sentinel lymph node procedure using a combination of patent blue and radioisotope in women with cervical carcinoma. *Cancer.* 2003;97:3003-9. doi:10.1002/CNCR.11423
32. Jewell EL, Huang JJ, Abu-Rustum NR, Gardner GJ, Brown CL, Sonoda Y, et al. Detection of sentinel lymph nodes in minimally invasive surgery using indocyanine green and near-infrared fluorescence imaging for uterine and cervical malignancies. *Gynecol Oncol.* 2014;133:274-7. doi:10.1016/J.YGYNO.2014.02.028
33. Cibula D, Pötter R, Planchamp F, Avall-Lundqvist E, Fischerova D, Haie Meder C, et al. The European Society of Gynaecological Oncology/European Society for Radiotherapy and Oncology/European Society of Pathology Guidelines for the Management of Patients With Cervical Cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2018;28:641-55. doi:10.1097/IGC.0000000000001216
34. Frumovitz M, Plante M, Lee PS, Sandadi S, Lilja JF, Escobar PF, et al. Near-infrared fluorescence for detection of sentinel lymph nodes in women with cervical and uterine cancers (FILM): a randomised, phase 3, multicentre, non-inferiority trial. *Lancet Oncol.* 2018;19:1394-403. doi:10.1016/S1470-2045(18)30448-0
35. Kim SI, Lim MC, Lee JS, Lee Y, Park KB, Joo J, et al. Impact of lower limb lymphedema on quality of life in gynecologic cancer survivors after pelvic lymph node dissection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;192:31-6. doi:10.1016/J.EJOGRB.2015.06.011
36. Hayes SC, Janda M, Ward LC, Reul-Hirche H, Steele ML, Carter J, et al. Lymphedema following gynecological cancer: Results from a prospective, longitudinal cohort study on prevalence, incidence and risk factors. *Gynecol Oncol.* 2017;146:623-9. doi:10.1016/J.YGYNO.2017.06.004
37. Delgado G, Bundy BN, Fowler WC, Stehman FB, Sevin B, Creasman WT, et al. A prospective surgical pathological study of stage I squamous carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecol Oncol.* 1989;35:314-20. doi:10.1016/0090-8258(89)90070-X
38. Henriksen E. Distribution of metastases in stage I carcinoma of the cervix; a study of 66 autopsied cases. *Am J Obstet Gynecol.* 1960;80:919-32. doi:10.1016/0002-9378(60)90470-1
39. Creasman WT, Morrow CP, Bundy BN, Homesley HD, Graham JE, Heller PB. Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer. A Gynecologic Oncology Group Study. *Cancer.* 1987;60:2035-41. doi:10.1002/1097-0142(19901015)60:8+<2035::aid-cncr2820601515>3.0.co;2-8

40. Rossi EC, Kowalski LD, Scalici J, Cantrell L, Schuler K, Hanna RK, et al. A comparison of sentinel lymph node biopsy to lymphadenectomy for endometrial cancer staging (FIRES trial): a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Oncol.* 2017;18:384-92. doi:10.1016/S1470-2045(17)30068-2
41. Geppert B, Lönnerfors C, Bollino M, Persson J. Sentinel lymph node biopsy in endometrial cancer-Feasibility, safety and lymphatic complications. *Gynecol Oncol.* 2018;148:491-8. doi:10.1016/J.YGYNO.2017.12.017
42. Suidan RS, Sun CC, Cantor SB, Mariani A, Soliman PT, Westin SN, et al. Three Lymphadenectomy Strategies in Low-Risk Endometrial Carcinoma: A Cost-Effectiveness Analysis. *Obstet Gynecol.* 2018;132:52-8. doi:10.1097/AOG.0000000000002677
43. Ouldamer L, Marret H, Acker O, Barillot I, Body G. Unusual localizations of sentinel lymph nodes in early stage cervical cancer: a review. *Surg Oncol.* 2012;21:153-7. doi:10.1016/J.SURONC.2012.04.003
44. How J, Boldeanu I, Lau S, Salvador S, How E, Gotlieb R, et al. Unexpected locations of sentinel lymph nodes in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2017;147:18-23. doi:10.1016/J.YGYNO.2017.07.125
45. Niikura H, Okamoto S, Otsuki T, Yoshinaga K, Utsunomiya H, Nagase S, et al. Prospective study of sentinel lymph node biopsy without further pelvic lymphadenectomy in patients with sentinel lymph node-negative cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2012;22:1244-50. doi:10.1097/IGC.0B013E318263F06A
46. Gortzak-Uzan L, Jimenez W, Nofech-Mozes S, Ismiil N, Khalifa MA, Dubé V, et al. Sentinel lymph node biopsy vs. pelvic lymphadenectomy in early stage cervical cancer: is it time to change the gold standard? *Gynecol Oncol.* 2010;116:28-32. doi:10.1016/J.YGYNO.2009.10.049
47. Multinu F, Casarin J, Cappuccio S, Keeney GL, Glaser GE, Cliby WA, et al. Ultrastaging of negative pelvic lymph nodes to decrease the true prevalence of isolated paraaortic dissemination in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2019;154:60-4. doi:10.1016/J.YGYNO.2019.05.008
48. Backes FJ, Cohen D, Salani R, Cohn DE, O'Malley DM, Fanning E, et al. Prospective clinical trial of robotic sentinel lymph node assessment with isosulfane blue (ISB) and indocyanine green (ICG) in endometrial cancer and the impact of ultrastaging (NCT01818739). *Gynecol Oncol.* 2019;153:496-9. doi:10.1016/J.YGYNO.2019.03.252
49. Thevarajah S, Huston TL, Simmons RM. A comparison of the adverse reactions associated with isosulfan blue versus methylene blue dye in sentinel lymph node biopsy for breast cancer. *Am J Surg.* 2005;189:236-9. doi:10.1016/J.AMJ SURG.2004.06.042
50. Van Den Berg NS, Van Leeuwen FWB, Van Der Poel HG. Fluorescence guidance in urologic surgery. *Curr Opin Urol.* 2012;22:109-20. doi:10.1097/MOU.0B013E3283501869
51. Thomaier L, Jager L, Stone R, Wethington S, Fader A, Tanner EJ. Risk of empty lymph node packets in sentinel lymph node mapping for endometrial cancer using indocyanine green. *Int J Gynecol Cancer.* 2019;29:513-7. doi:10.1136/IJGC-2019-000215
52. Bergqvist L, Strand SE, Persson BRR. Particle sizing and biokinetics of interstitial lymphoscintigraphic agents. *Semin Nucl Med.* 1983;13:9-19. doi:10.1016/S0001-2998(83)80031-2

53. Van Den Berg NS, Buckle T, Kleinjan GI, Klop WM, Horenblas S, Van Der Poel HG, et al. Hybrid tracers for sentinel node biopsy. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;58:193-206. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24835293/>. Accessed December 12, 2021.
54. Torrenga H, Meijer S, Fabry H, van der Sijp J. Sentinel node biopsy in breast cancer patients: triple technique as a routine procedure. *Ann Surg Oncol*. 2004;11:231-5. doi:10.1007/BF02523635
55. Tiffet O, Perrot JL, Gentil-Perret A, Prevot N, Dubois F, Alamartine E, et al. Sentinel lymph node detection in primary melanoma with preoperative dynamic lymphoscintigraphy and intraoperative gamma probe guidance. *Br J Surg*. 2004;91:886-92. doi:10.1002/BJS.4548
56. Chung YA, Kim SH, Sohn HS, Chung SK, Rhim CC, Namkoong SE. Usefulness of lymphoscintigraphy and intraoperative gamma probe detection in the identification of sentinel nodes in cervical cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30:1014-7. doi:10.1007/S00259-003-1195-0
57. van der Poel HG, Buckle T, Brouwer OR, Valdés Olmos RA, van Leeuwen FWB. Intraoperative Laparoscopic Fluorescence Guidance to the Sentinel Lymph Node in Prostate Cancer Patients: Clinical Proof of Concept of an Integrated Functional Imaging Approach Using a Multimodal Tracer. *Eur Urol*. 2011;60:826-33. doi:10.1016/j.eururo.2011.03.024
58. Brouwer OR, Klop WMC, Buckle T, Vermeeren L, Van Den Brekel MWM, Balm AJM, et al. Feasibility of sentinel node biopsy in head and neck melanoma using a hybrid radioactive and fluorescent tracer. *Ann Surg Oncol*. 2012;19:1988-94. doi:10.1245/S10434-011-2180-7
59. Van Den Berg NS, Brouwer OR, Klop WMC, Karakullukcu B, Zuur CL, Tan IB, et al. Concomitant radio- and fluorescence-guided sentinel lymph node biopsy in squamous cell carcinoma of the oral cavity using ICG-99mTc- nanocolloid. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012;39:1128-36. doi:10.1007/s00259-012-2129-5
60. Schaafsma BE, Verbeek FPR, Rietbergen DDD, van der Hiel B, van der Vorst JR, Liefers GJ, et al. Clinical trial of combined radio- and fluorescence-guided sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Br J Surg*. 2013;100:1037-44. doi:10.1002/bjs.9159
61. Brouwer OR, Buckle T, Vermeeren L, Klop WMC, Balm AJM, van der Poel HG, et al. Comparing the hybrid fluorescent-radioactive tracer indocyanine green-99mTc-nanocolloid with 99mTc-nanocolloid for sentinel node identification: a validation study using lymphoscintigraphy and SPECT/CT. *J Nucl Med*. 2012;53:1034-40. doi:10.2967/jnumed.112.103127
62. Mathéron HM, van den Berg NS, Brouwer OR, Kleinjan GH, van Driel WJ, Trum JW, et al. Multimodal surgical guidance towards the sentinel node in vulvar cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;131:720-5. doi:10.1016/j.ygyno.2013.09.007
63. Buckle T, Chin PTK, van Leeuwen FWB. (Non-targeted) radioactive/fluorescent nanoparticles and their potential in combined pre- and intraoperative imaging during sentinel lymph node resection. *Nanotechnology*. 2010;21:482001. doi:10.1088/0957-4484/21/48/482001
64. Brouwer OR, van den Berg NS, Mathéron HM, van der Poel HG, van Rhijn BW, Bex A, et al. A hybrid radioactive and fluorescent tracer for sentinel node biopsy in penile carcinoma as a potential replacement for blue dye. *Eur Urol*. 2014;65:600-9.

doi:10.1016/j.eururo.2013.11.014

65. van den Berg NS, Brouwer OR, Schaafsma BE, Mathéron HM, Klop WMC, Balm AJM, et al. Multimodal Surgical Guidance during Sentinel Node Biopsy for Melanoma: Combined Gamma Tracing and Fluorescence Imaging of the Sentinel Node through Use of the Hybrid Tracer Indocyanine Green-(99m)Tc-Nanocolloid. *Radiology*. 2015;275:521-9. doi:10.1148/radiol.14140322
66. Stoffels I, Dissemmond J, Pöppel T, Schadendorf D, Klode J. Intraoperative Fluorescence Imaging for Sentinel Lymph Node Detection: Prospective Clinical Trial to Compare the Usefulness of Indocyanine Green vs Technetium Tc 99m for Identification of Sentinel Lymph Nodes. *JAMA Surg*. 2015;150:617-23. doi:10.1001/jamasurg.2014.3502
67. Christensen A, Juhl K, Charabi B, Mortensen J, Kiss K, Kjær A, et al. Feasibility of Real-Time Near-Infrared Fluorescence Tracer Imaging in Sentinel Node Biopsy for Oral Cavity Cancer Patients. *Ann Surg Oncol*. 2016;23:565-72. doi:10.1245/s10434-015-4883-7
68. Buda A, Papadia A, Zapardiel I, Vizza E, Ghezzi F, De Ponti E, et al. From Conventional Radiotracer Tc-99(m) with Blue Dye to Indocyanine Green Fluorescence: A Comparison of Methods Towards Optimization of Sentinel Lymph Node Mapping in Early Stage Cervical Cancer for a Laparoscopic Approach. *Ann Surg Oncol*. 2016;23:2959-65. doi:10.1245/S10434-016-5227-Y
69. Sinno AK, Fader AN, Roche KL, Giuntoli RL, Tanner EJ. A comparison of colorimetric versus fluorometric sentinel lymph node mapping during robotic surgery for endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2014;134:281-6. doi:10.1016/j.ygyno.2014.05.022
70. Frumovitz M, Bodurka DC, Broaddus RR, Coleman RL, Sood AK, Gershenson DM, et al. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in women with high-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2007;104:100-3. doi:10.1016/J.YGYNO.2006.07.033
71. Niikura H, Kaiho-Sakuma M, Tokunaga H, Toyoshima M, Utsunomiya H, Nagase S, et al. Tracer injection sites and combinations for sentinel lymph node detection in patients with endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;131:299-303. doi:10.1016/J.YGYNO.2013.08.018
72. Holloway RW, Ahmad S, Kendrick JE, Bigsby GE, Brudie LA, Ghurani GB, et al. A Prospective Cohort Study Comparing Colorimetric and Fluorescent Imaging for Sentinel Lymph Node Mapping in Endometrial Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2017;24:1972-9. doi:10.1245/s10434-017-5825-3
73. Sawicki S, Lass P, Wydra D. Sentinel lymph node biopsy in endometrial cancer - Comparison of 2 detection methods. *Int J Gynecol Cancer*. 2015;25:1044-50. doi:10.1097/IGC.0000000000000447
74. Pelosi E, Arena V, Baudino B, Bellò M, Giusti M, Gargiulo T, et al. Pre-operative lymphatic mapping and intra-operative sentinel lymph node detection in early stage endometrial cancer. *Nucl Med Commun*. 2003;24:971-5. doi:10.1097/00006231-200309000-00005
75. Bats AS, Clément D, Larousserie F, Le Frère-Belda MA, Pierquet-Ghazzar N, Hignette C, et al. Does sentinel node biopsy improve the management of endometrial cancer? Data from 43 patients. *J Surg Oncol*. 2008;97:141-5. doi:10.1002/JSO.20857
76. Delpech Y, Coutant C, Darai E, Barranger E. Sentinel lymph node evaluation in endometrial cancer and the importance of micrometastases. *Surg Oncol*. 2008;17:237-

45. doi:10.1016/J.SURONC.2008.04.001
77. Mariani A, Dowdy SC, Cliby WA, Gostout BS, Jones MB, Wilson TO, et al. Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: a paradigm shift in surgical staging. *Gynecol Oncol*. 2008;109:11-8. doi:10.1016/J.YGYNO.2008.01.023
78. Gien LT, Kwon JS, Carey MS. Sentinel node mapping with isosulfan blue dye in endometrial cancer. *J Obstet Gynaecol Can*. 2005;27:1107-12. doi:10.1016/S1701-2163(16)30393-0
79. Maccauro M, Lucignani G, Aliberti G, Villano C, Castellani MR, Solima E, et al. Sentinel lymph node detection following the hysteroscopic peritumoural injection of 99mTc-labelled albumin nanocolloid in endometrial cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2005;32:569-74. doi:10.1007/S00259-004-1709-4
80. Watabe T, Tatsumi M, Watabe H, Isohashi K, Kato H, Yanagawa M, et al. Intratumoral heterogeneity of F-18 FDG uptake differentiates between gastrointestinal stromal tumors and abdominal malignant lymphomas on PET/CT. *Ann Nucl Med*. 2012;26:222-7. doi:10.1007/s12149-011-0562-3
81. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, Simopoulos C, Gatter KC, Harris AL, et al. LYVE-1 immunohistochemical assessment of lymphangiogenesis in endometrial and lung cancer. *J Clin Pathol*. 2005;58:202-6. doi:10.1136/JCP.2004.019174
82. Red-Horse K. Lymphatic vessel dynamics in the uterine wall. *Placenta*. 2008;29 Suppl A:55-9. doi:10.1016/J.PLACENTA.2007.11.011
83. Berman CG, Norman J, Cruse CW, Reintgen DS, Clark RA. Lymphoscintigraphy in malignant melanoma. *Ann Plast Surg*. 1992;28:29-32. doi:10.1097/0000637-199201000-00010
84. O'Brien CJ, Uren RF, Thompson JF, Howman-Giles RB, Petersen-Schaefer K, Shaw HM, et al. Prediction of potential metastatic sites in cutaneous head and neck melanoma using lymphoscintigraphy. *Am J Surg*. 1995;170:461-6. doi:10.1016/S0002-9610(99)80330-4
85. Alazraki NP, Eshima D, Eshima LA, Herda SC, Murray DR, Vansant JP, et al. Lymphoscintigraphy, the sentinel node concept, and the intraoperative gamma probe in melanoma, breast cancer, and other potential cancers. *Semin Nucl Med*. 1997;27:55-67. doi:10.1016/S0001-2998(97)80036-0
86. Martínez A, Zerdoud S, Mery E, Bouissou E, Ferron G, Querleu D. Hybrid imaging by SPECT/CT for sentinel lymph node detection in patients with cancer of the uterine cervix. *Gynecol Oncol*. 2010;119:431-5. doi:10.1016/J.YGYNO.2010.08.001
87. Balaya V, Mathevet P, Magaud L, Bonsang-Kitzis H, Delomenie M, Montero Macias R, et al. Predictive factors of unexpected lymphatic drainage pathways in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2019;154:102-9. doi:10.1016/J.YGYNO.2019.04.008
88. Marnitz S, Köhler C, Bongardt S, Braig U, Hertel H, Schneider A. Topographic distribution of sentinel lymph nodes in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2006;103:35-44. doi:10.1016/J.YGYNO.2006.01.061
89. Takeshita S, Todo Y, Okamoto K, Sudo S, Yamashiro K, Kato H. Incidence of metastasis in circumflex iliac nodes distal to the external iliac nodes in cervical cancer. *J Gynecol Oncol*. 2016;27:42. doi:10.3802/JGO.2016.27.E42
90. Cibula D, Kuzel D, Sláma J, Fischerova D, Dunder P, Freitag P, et al. Sentinel node (SLN)

- biopsy in the management of locally advanced cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2009;115:46-50. doi:10.1016/J.YGYNO.2009.06.017
91. Benedetti-Panici P, Maneschi F, Scambia G, Greggi S, Cutillo G, D'Andrea G, et al. Lymphatic spread of cervical cancer: an anatomical and pathological study based on 225 radical hysterectomies with systematic pelvic and aortic lymphadenectomy. *Gynecol Oncol*. 1996;62:19-24. doi:10.1006/GYNO.1996.0184
 92. Plante M, Renaud MC, Têtu B, Harel F, Roy M. Laparoscopic sentinel node mapping in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2003;91:494-503. doi:10.1016/J.YGYNO.2003.08.024
 93. Dostálek L, Zikan M, Fischerova D, Kocian R, Germanova A, Frühauf F, et al. SLN biopsy in cervical cancer patients with tumors larger than 2cm and 4cm. *Gynecol Oncol*. 2018;148:456-60. doi:10.1016/J.YGYNO.2018.01.001
 94. Salvo G, Ramirez PT, Levenback CF, Munsell MF, Euscher ED, Soliman PT, et al. Sensitivity and negative predictive value for sentinel lymph node biopsy in women with early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2017;145:96-101. doi:10.1016/J.YGYNO.2017.02.005
 95. Khoury-Collado F, Glaser GE, Zivanovic O, Sonoda Y, Levine DA, Chi DS, et al. Improving sentinel lymph node detection rates in endometrial cancer: how many cases are needed? *Gynecol Oncol*. 2009;115:453-5. doi:10.1016/J.YGYNO.2009.08.026
 96. Balaya V, Bresset A, Guani B, Magaud L, Montero Macias R, Delomenie M, et al. Risk factors for failure of bilateral sentinel lymph node mapping in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2020;156:93-9. doi:10.1016/J.YGYNO.2019.10.027
 97. Matsuo K, Shimada M, Yamaguchi S, Matoda M, Nakanishi T, Kikkawa F, et al. Association of Radical Hysterectomy Surgical Volume and Survival for Early-Stage Cervical Cancer. *Obstet Gynecol*. 2019;133:1086-98. doi:10.1097/AOG.0000000000003280
 98. Zanzonico P, Heller S. The intraoperative gamma probe: basic principles and choices available. *Semin Nucl Med*. 2000;30:33-48. doi:10.1016/S0001-2998(00)80060-4
 99. Tiourina T, Arenas B, Huysmans D, Rutten H, Lemaire B, Muller S. Evaluation of surgical gamma probes for radioguided sentinel node localisation. *Eur J Nucl Med*. 1998;25:1224-31. doi:10.1007/S002590050288
 100. van den Berg NS, Simon H, Kleinjan GH, Engelen T, Bunschoten A, Welling MM, et al. First-in-human evaluation of a hybrid modality that allows combined radio- and (near-infrared) fluorescence tracing during surgery. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;42:1639-47. doi:10.1007/s00259-015-3109-3
 101. Wu Y, Li Z, Wu H, Yu J. Sentinel lymph node biopsy in cervical cancer: A meta-analysis. *Mol Clin Oncol*. 2013;1:1025-30. doi:10.3892/MCO.2013.168
 102. Kadkhodayan S, Hasanzadeh M, Treglia G, Azad A, Yousefi Z, Zarifm Mahmoudi L, et al. Sentinel node biopsy for lymph nodal staging of uterine cervix cancer: a systematic review and meta-analysis of the pertinent literature. *Eur J Surg Oncol*. 2015;41:1-20. doi:10.1016/J.EJSO.2014.09.010
 103. Lécuru F, Mathevet P, Querleu D, Leblanc E, Morice P, Daraï E, et al. Bilateral negative sentinel nodes accurately predict absence of lymph node metastasis in early cervical cancer: results of the SENTICOL study. *J Clin Oncol*. 2011;29:1686-91.

doi:10.1200/JCO.2010.32.0432

104. Cormier B, Diaz JP, Shih K, Sampson RM, Sonoda Y, Park KJ, et al. Establishing a sentinel lymph node mapping algorithm for the treatment of early cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2011;122:275-80. doi:10.1016/J.YGYNO.2011.04.023
105. Ruscito I, Gasparri ML, Braicu EI, Bellati F, Raio L, Sehouli J, et al. Sentinel Node Mapping in Cervical and Endometrial Cancer: Indocyanine Green Versus Other Conventional Dyes—A Meta-Analysis. *Ann Surg Oncol*. 2016;23:3749-56. doi:10.1245/s10434-016-5236-x
106. Cibula D, Dusek J, Jarkovsky J, Dunder P, Querleu D, Van Der Zee A, et al. A prospective multicenter trial on sentinel lymph node biopsy in patients with early-stage cervical cancer (SENTIX). *Int J Gynecol Cancer*. 2019;29:212-5. doi:10.1136/IJGC-2018-000010
107. Tu H, Huang H, Xian B, Li J, Wang P, Zhao W, et al. Sentinel lymph node biopsy versus pelvic lymphadenectomy in early-stage cervical cancer: a multi-center randomized trial (PHENIX/CSEM 010). *Int J Gynecol Cancer*. 2020;30:1829-33. doi:10.1136/IJGC-2020-001857
108. Panici PB, Basile S, Maneschi F, Lissoni AA, Signorelli M, Scambia G, et al. Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100:1707-16. doi:10.1093/JNCI/DJN397
109. Kitchener H, Swart AMC, Qian Q, Amos C, Parmar MKB. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet (London, England)*. 2009;373:125-36. doi:10.1016/S0140-6736(08)61766-3
110. Dinkelspiel HE, Wright JD, Lewin SN, Herzog TJ. Contemporary clinical management of endometrial cancer. *Obstet Gynecol Int*. 2013;2013:1-11. doi:10.1155/2013/583891
111. Bradley K, Clark R, Crispens MA, Frederick P. Uterine Neoplasms. Version 1.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. 2022. 2022.
112. Soliman PT, Westin SN, Dioun S, Sun CC, Euscher E, Munsell MF, et al. A prospective validation study of sentinel lymph node mapping for high-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2017;146:234-9. doi:10.1016/J.YGYNO.2017.05.016
113. Schiavone MB, Scelzo C, Straight C, Zhou Q, Alektiar KM, Makker V, et al. Survival of Patients with Serous Uterine Carcinoma Undergoing Sentinel Lymph Node Mapping. *Ann Surg Oncol*. 2017;24:1965-71. doi:10.1245/s10434-017-5816-4
114. Daraï E, Dubernard G, Bats AS, Heitz D, Mathevet P, Marret H, et al. Sentinel node biopsy for the management of early stage endometrial cancer: long-term results of the SENTI-ENDO study. *Gynecol Oncol*. 2015;136:54-9. doi:10.1016/J.YGYNO.2014.09.011
115. Ji Q, Wang X, Jiang J, Chen L. Sentinel lymph node mapping in high-risk endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gland Surg*. 2020;9:2091-105. doi:10.21037/GS-20-807
116. Barlin JN, Khoury-Collado F, Kim CH, Leitao MM, Chi DS, Sonoda Y, et al. The importance of applying a sentinel lymph node mapping algorithm in endometrial cancer staging: beyond removal of blue nodes. *Gynecol Oncol*. 2012;125:531-5. doi:10.1016/j.ygyno.2012.02.021
117. Eriksson AGZ, Ducie J, Ali N, McGree ME, Weaver AL, Bogani G, et al. Comparison of a

- sentinel lymph node and a selective lymphadenectomy algorithm in patients with endometrioid endometrial carcinoma and limited myometrial invasion. *Gynecol Oncol.* 2016;140:394-9. doi:10.1016/J.YGYNO.2015.12.028
118. Holloway RW, Ahmad S, Kendrick JE, Bigsby GE, Brudie LA, Ghurani GB, et al. A Prospective Cohort Study Comparing Colorimetric and Fluorescent Imaging for Sentinel Lymph Node Mapping in Endometrial Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2017;24:1972-9. doi:10.1245/S10434-017-5825-3
 119. Holloway RW, Abu-Rustum NR, Backes FJ, Boggess JF, Gotlieb WH, Lowery JW, et al. Sentinel lymph node mapping and staging in endometrial cancer: A Society of Gynecologic Oncology literature review with consensus recommendations. *Gynecol Oncol.* 2017;146:405-15. doi:10.1016/j.ygyno.2017.05.027
 120. KleinJan GH, Bunschoten A, van den Berg NS, Olmos RAV, Klop WMC, Horenblas S, et al. Fluorescence guided surgery and tracer-dose, fact or fiction? *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2016;43:1857-67. doi:10.1007/s00259-016-3372-y
 121. Verbeek FPR, Tummers QRJG, Rietbergen DDD, Peters AAW, Schaafsma BE, van de Velde CJH, et al. Sentinel Lymph Node Biopsy in Vulvar Cancer Using Combined Radioactive and Fluorescence Guidance. *Int J Gynecol Cancer.* 2015;25:1086-93. doi:10.1097/IGC.0000000000000419
 122. Broglie MA, Stoeckli SJ. Relevance of sentinel node procedures in head and neck squamous cell carcinoma. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2011;55:509-20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22019708>. Accessed September 8, 2019.
 123. Van Den Berg NS, Buckle T, Kleinjan GI, Klop WM, Horenblas S, Van Der Poel HG, et al. Hybrid tracers for sentinel node biopsy. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2014;58:193-206. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24835293>. Accessed September 8, 2019.
 124. Guo J, Yang H, Wang S, Cao Y, Liu M, Xie F, et al. Comparison of sentinel lymph node biopsy guided by indocyanine green, blue dye, and their combination in breast cancer patients: a prospective cohort study. *World J Surg Oncol.* 2017;15:196. doi:10.1186/s12957-017-1264-7
 125. Sadeghi R, Alesheikh G, Zakavi SR, Fattahi A, Abdollahi A, Assadi M, et al. Added value of blue dye injection in sentinel node biopsy of breast cancer patients: do all patients need blue dye? *Int J Surg.* 2014;12:325-8. doi:10.1016/j.ijsu.2014.01.014
 126. Holloway RW, Gupta S, Stavitzski NM, Zhu X, Takimoto EL, Gubbi A, et al. Sentinel lymph node mapping with staging lymphadenectomy for patients with endometrial cancer increases the detection of metastasis. *Gynecol Oncol.* 2016;141:206-10. doi:10.1016/j.ygyno.2016.02.018
 127. Hope-Ross M, Yannuzzi LA, Gragoudas ES, Guyer DR, Slakter JS, Sorenson JA, et al. Adverse Reactions due to Indocyanine Green. *Ophthalmology.* 1994;101:529-33. doi:10.1016/S0161-6420(94)31303-0
 128. Verheijen R. Sentinel node detection in cervical cancer. *Obstet Gynecol.* 2000;96:135-8. doi:10.1016/S0029-7844(00)00831-0
 129. Altgassen C, Hertel H, Brandstädt A, Köhler C, Dürst M, Schneider A, et al. Multicenter validation study of the sentinel lymph node concept in cervical cancer: AGO Study Group. *J Clin Oncol.* 2008;26:2943-51. doi:10.1200/JCO.2007.13.8933
 130. Ayhan A, Celik H, Dursun P. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in

- gynecological cancers: a critical review of the literature. *World J Surg Oncol*. 2008;6:53. doi:10.1186/1477-7819-6-53
131. Diab Y. Sentinel Lymph Nodes Mapping in Cervical Cancer a Comprehensive Review. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27:154-8. doi:10.1097/IGC.0000000000000853
 132. Mathéron HM, Van Den Berg NS, Brouwer OR, Kleinjan GH, Van Driel WJ, Trum JW, et al. Multimodal surgical guidance towards the sentinel node in vulvar cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;131:720-5. doi:10.1016/J.YGYNO.2013.09.007
 133. Cibula D, Abu-Rustum NR, Dusek L, Zikán M, Zaal A, Sevcik L, et al. Prognostic significance of low volume sentinel lymph node disease in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2012;124:496-501. doi:10.1016/J.YGYNO.2011.11.037
 134. Van Der Poel HG, Buckle T, Brouwer OR, Valdés Olmos RA, Van Leeuwen FWB. Intraoperative laparoscopic fluorescence guidance to the sentinel lymph node in prostate cancer patients: clinical proof of concept of an integrated functional imaging approach using a multimodal tracer. *Eur Urol*. 2011;60:826-33. doi:10.1016/J.EURURO.2011.03.024
 135. KleinJan GH, van den Berg NS, de Jong J, Wit EM, Thygessen H, Vegt E, et al. Multimodal hybrid imaging agents for sentinel node mapping as a means to (re)connect nuclear medicine to advances made in robot-assisted surgery. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016;43:1278-87. doi:10.1007/S00259-015-3292-2
 136. Bodurtha Smith AJ, Fader AN, Tanner EJ. Sentinel lymph node assessment in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;216:459-76. doi:10.1016/j.ajog.2016.11.1033
 137. Cormier B, Rozenholc AT, Gotlieb W, Plante M, Giede C. Sentinel lymph node procedure in endometrial cancer: A systematic review and proposal for standardization of future research. *Gynecol Oncol*. 2015;138:478-85. doi:10.1016/j.ygyno.2015.05.039
 138. Koh WJ, Abu-Rustum NR, Bean S, Bradley K, Campos SM, Cho KR, et al. Uterine Neoplasms, Version 1.2018: Clinical practice guidelines in oncology. *JNCCN J Natl Compr Cancer Netw*. 2018;16:170-99. doi:10.6004/jnccn.2018.0006
 139. Bradley, Kristin RC, Crispens MA, Frederick P. 50 Uterine Neoplasms. 2019.
 140. Torné A, Pahisa J, Vidal-Sicart S, Martínez-Roman S, Paredes P, Puerto B, et al. Transvaginal ultrasound-guided myometrial injection of radiotracer (TUMIR): a new method for sentinel lymph node detection in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;128:88-94. doi:10.1016/j.ygyno.2012.10.008
 141. Sahbai S, Taran F-A, Staebler A, Wallwiener D, la Fougère C, Brucker S, et al. Sentinel lymph node mapping using SPECT/CT and gamma probe in endometrial cancer: an analysis of parameters affecting detection rate. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2017 449. 2017;44:1511-9. doi:10.1007/S00259-017-3692-6
 142. Martínez Bravo WR, García Vicente AM, Noriega Álvarez E, González García B, López-de la Manzanara C, Cordero García JM SCA. Failure of scintigraphy lymphatic mapping in endometrial cancer. Causes and solutions. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol*. 2022;41:78-85. doi:10.1016/J.REMN.2021.02.016
 143. Angeles MA, Migliorelli F, León Ramírez LF, Ros C, Perissinotti A, Tapias A, et al. Predictive factors of preoperative sentinel lymph node detection in intermediate and high-risk endometrial cancer. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2020;64. doi:10.23736/S1824-

144. Perissinotti A, Paredes P, Vidal-Sicart S, Torné A, Albela S, Navales I, et al. Use of SPECT/CT for improved sentinel lymph node localization in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;129:42-8. doi:10.1016/j.ygyno.2013.01.022
145. Giammarile F, Bozkurt MF, Cibula D, Pahisa J, Oyen WJ, Paredes P, et al. The EANM clinical and technical guidelines for lymphoscintigraphy and sentinel node localization in gynaecological cancers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41:1463-77. doi:10.1007/s00259-014-2732-8
146. Papadia A, Gasparri ML, Siegenthaler F, Imboden S, Mohr S, Mueller MD. FIGO stage IIIC endometrial cancer identification among patients with complex atypical hyperplasia, grade 1 and 2 endometrioid endometrial cancer: laparoscopic indocyanine green sentinel lymph node mapping versus frozen section of the uterus, why get arou. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2017;143:491-7. doi:10.1007/s00432-016-2303-4
147. Paredes P, Vidal-Sicart S, Campos F, Tapias A, Sánchez N, Martínez S, et al. Role of ICG-99mTc-nanocolloid for sentinel lymph node detection in cervical cancer: a pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017;44:1853-61. doi:10.1007/s00259-017-3706-4
148. Collarino A, Vidal-Sicart S, Perotti G, Valdés Olmos RA. The sentinel node approach in gynaecological malignancies. *Clin Transl imaging*. 2016;4:411-20. doi:10.1007/S40336-016-0187-6
149. Schaafsma BE, van der Vorst JR, Gaarenstroom KN, Peters AAW, Verbeek FPR, de Kroon CD, et al. Randomized comparison of near-infrared fluorescence lymphatic tracers for sentinel lymph node mapping of cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2012;127:126-30. doi:10.1016/j.ygyno.2012.07.002
150. Pandit-Taskar N, Gemignani ML, Lyall A, Larson SM, Barakat RR, Abu Rustum NR. Single photon emission computed tomography SPECT-CT improves sentinel node detection and localization in cervical and uterine malignancy. *Gynecol Oncol*. 2010;117:59-64. doi:10.1016/j.ygyno.2009.12.021
151. Hövels AM, Heesackers RAM, Adang EM, Jager GJ, Strum S, Hoogeveen YL, et al. The diagnostic accuracy of CT and MRI in the staging of pelvic lymph nodes in patients with prostate cancer: a meta-analysis. *Clin Radiol*. 2008;63:387-95. doi:10.1016/j.crad.2007.05.022
152. Buda A, Elisei F, Arosio M, Dolci C, Signorelli M, Perego P, et al. Integration of hybrid single-photon emission computed tomography/computed tomography in the preoperative assessment of sentinel node in patients with cervical and endometrial cancer: Our experience and literature review. *Int J Gynecol Cancer*. 2012;22:830-5. doi:10.1097/IGC.0b013e318253496f
153. Poumellec MA, Dejode M, Figl A, Darcourt J, Haudebourg J, Sabah Y, et al. Sentinel node detection using optonuclear probe (gamma and fluorescence) after green indocyanine and radio-isotope injections. *Gynecol Obstet Fertil*. 2016;44:207-10. doi:10.1016/J.GYOBFE.2016.02.012
154. Ehrisman J, Secord AA, Berchuck A, Lee PS, Di Santo N, Lopez-Acevedo M, et al. Performance of sentinel lymph node biopsy in high-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol Reports*. 2016;17:69-71. doi:10.1016/j.gore.2016.04.002
155. Baiocchi G, Mantoan H, Kumagai LY, Gonçalves BT, Badiglian-Filho L, de Oliveira

Menezes AN, et al. The Impact of Sentinel Node-Mapping in Staging High-Risk Endometrial Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2017;24:3981-7. doi:10.1245/S10434-017-6132-8