

Biópsia do Gânglio Sentinela Guiada por Fluorescência no Cancro da Mama: Taxa de Detecção e Performance Diagnóstica



Fluorescence-Guided Sentinel Lymph Node Biopsy in Breast Cancer: Detection Rate and Diagnostic Accuracy

Teresa VAZ¹, Susy COSTA², Bárbara PELETEIRO^{3,4,5}
Acta Med Port 2018 Dec;31(12):706-713 • <https://doi.org/10.20344/amp.10395>

RESUMO

Introdução: A biópsia do gânglio sentinela é atualmente o procedimento cirúrgico *standard* para o estadiamento ganglionar em doentes com cancro da mama em estágio precoce, sendo realizado com recurso a diferentes técnicas, como a injeção de corantes vitais e/ou de radioisótopos e, mais recentemente, guiada por fluorescência utilizando o verde de indocianina. O objetivo deste estudo é avaliar a acuidade global do verde de indocianina na identificação do gânglio sentinela em doentes com cancro da mama e de acordo com fatores relacionados com a doente e com o tumor.

Material e Métodos: Estudo retrospectivo numa amostra aleatória de doentes com cancro da mama seguidas e tratadas no Centro Hospitalar São João no período entre 2012 e 2016.

Resultados: Obtivemos uma taxa de deteção do gânglio sentinela no cancro da mama pelo verde de indocianina superior a 90% e uma *performance* diagnóstica deste método similar às outras técnicas descritas na presença de metástases ganglionares.

Discussão: Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os três métodos relativamente às taxas de deteção no subgrupo de mulheres mais velhas, normoponderais, nas que tinham realizado tratamento prévio à mama ou à axila e nas que foram submetidas a quimioterapia neo-adjuvante.

Conclusão: O verde de indocianina é um potencial método alternativo a outras técnicas de pesquisa do gânglio sentinela, afigurando-se como opção futura para os hospitais que não possuem serviço de Medicina Nuclear. Contudo, é essencial a realização de novos estudos no sentido de definir o perfil das doentes que maximiza a sua eficácia.

Palavras-chave: Biópsia do Gânglio Sentinela; Neoplasias da Mama; Verde de Indocianina

ABSTRACT

Introduction: Sentinel lymph node biopsy is currently the standard surgical procedure for lymph node staging in patients with early stage breast cancer. It is performed using different techniques, such as the injection of vital dyes and / or radioisotopes and, more recently, guided by fluorescence using Indocyanine green. The aim of this study is to assess the detection rate of sentinel lymph node using Indocyanine green in breast cancer patients according to factors related to the patient and the tumor.

Material and Methods: Retrospective study of a random sample of patients with breast cancer, treated and followed at Centro Hospitalar São João, in Porto, between 2012 and 2016.

Results: Indocyanine green detection rate was over 90% and its diagnostic accuracy was similar to other methods described in the presence of metastatic involvement of lymph nodes.

Discussion: There was no statistically significant difference between the three methods in the detection rates in subgroups of older women, with normal weight and in those who underwent previous surgery in breast or axilla or neo-adjuvant chemotherapy.

Conclusion: Indocyanine green is a potential alternative method to other sentinel lymph node screening techniques, appearing as a future option for breast cancer centers with no nuclear medicine department. However, it is essential to carry out further research in order to define the ideal patients' profile that maximizes the method's effectiveness.

Keywords: Breast Neoplasms; Indocyanine Green; Sentinel Lymph Node Biopsy

INTRODUÇÃO

O cancro da mama é o segundo tipo de cancro mais comum em todo o mundo e o mais frequente em mulheres, com incidência crescente.^{1,2} É a quinta causa de morte por cancro a nível mundial. Nos países em desenvolvimento é a principal causa de morte por cancro nas mulheres, enquanto nos desenvolvidos ocupa o segundo lugar, sendo ultrapassado apenas pelo cancro do pulmão.¹

O *status* ganglionar axilar é um dos mais importantes fatores de prognóstico em doentes com cancro da mama

inicial e aquele que determina um maior impacto no estadiamento e na decisão terapêutica.²⁻⁶

O exame histológico continua a ser o método com maior acuidade para avaliar a extensão da doença à axila.^{3,7-9} Tradicionalmente, o estadiamento ganglionar era efetuado através do esvaziamento axilar.^{2,10,11} Contudo, esta abordagem radical está associada a morbilidade significativa incluindo dor, linfedema do membro superior, rigidez e fraqueza do ombro, seromas, possíveis lesões vasculares e

1. Estudante. Faculdade de Medicina. Universidade do Porto. Porto. Portugal.

2. Departamento de Cirurgia. Centro Hospitalar de São João/Faculdade de Medicina. Universidade do Porto. Porto. Portugal.

3. Centro de Epidemiologia Hospitalar. Centro Hospitalar de São João. Porto. Portugal.

4. Unidade de Epidemiologia. EPIUnit, Instituto de Saúde Pública. Universidade do Porto. Porto. Portugal.

5. Departamento de Ciências da Saúde Pública e Forenses, e Educação Médica. Faculdade de Medicina. Universidade do Porto. Porto. Portugal.

✉ Autor correspondente: Teresa Vaz. teresaraquelsvaz@gmail.com

Recebido: 11 de fevereiro de 2018 - Aceite: 24 de setembro de 2018 | Copyright © Ordem dos Médicos 2018



nervosas, entre outras complicações, com consequente repercussão ao nível da mobilidade e função, que afeta negativamente a qualidade de vida dos doentes.¹⁰⁻¹² A introdução da biópsia do gânglio sentinela (GS) - primeiro gânglio (ou grupo de gânglios) para onde ocorre a drenagem linfática do tumor primário - foi um passo fundamental para reduzir a extensão da cirurgia axilar reduzindo a morbilidade associada.¹⁰⁻¹³ É atualmente considerado como o procedimento cirúrgico *standard* em doentes com cancro da mama em estágio precoce, sem evidência clínica ou imagiológica de envolvimento ganglionar axilar.^{2,3,7,8,14,15}

A identificação do GS tem sido feita com recurso a diferentes técnicas, sendo atualmente a técnica tripla, que combina o uso de um radioisótopo Tc-99m (RI) - linfocintigrafia e pesquisa intra-operatória com sonda *gamma* portátil - com um corante azul vital (CA) o método *gold standard*, pois permite atingir uma maior precisão e taxas de deteção mais elevadas do que o uso isolado de cada um deles.^{14,16,17} Porém, ainda não existe consenso acerca de qual a melhor técnica a adotar, pois apesar das inúmeras vantagens, estes métodos também acarretam vários inconvenientes, nomeadamente o recurso a elementos radioativos e a consequente logística envolvida na sua manipulação e preparação pré-operatória, no caso do RI.^{3,5,8,18,19} A possibilidade de reações alérgicas e necrose tecidual são desvantagens apontadas ao CA.²⁰ Nasceu assim a necessidade de explorar técnicas alternativas, nomeadamente o recurso a agentes não radioativos, como é o caso do verde de indocianina (VIC).¹⁸ O VIC é uma substância não tóxica e não radioativa, de baixo peso molecular, atualmente utilizado em diversas áreas médicas.^{6,11,14,20,21} Autores de estudos recentes defendem que a biópsia do GS guiada por fluorescência com VIC é um método seguro e promissor na deteção de metástases ganglionares e com possíveis vantagens comparativamente ao radioisótopo.^{8,11}

O objetivo do presente estudo é avaliar a acuidade global do VIC na identificação do GS em doentes com cancro da mama e de acordo com fatores relacionados com a doente e com o tumor.

MATERIAL E MÉTODOS

Metodologia do estudo

Realizámos um estudo retrospectivo através da análise de processos clínicos de doentes com cancro da mama seguidas e tratadas no Centro de Mama do Centro Hospitalar São João por uma equipa experiente e dedicada ao tratamento desta patologia.

Amostra e recolha de dados

A amostra utilizada no estudo é constituída por 232 doentes com cancro da mama. Incluímos apenas doentes submetidas a cirurgia no período entre 2012 e 2016 e nas quais pelo menos um dos métodos usados para pesquisa do gânglio sentinela tivesse sido o VIC. Em cada ano e por cada mês durante o período em análise, selecionámos até quatro doentes por amostragem aleatória, recorrendo a um programa de aleatorização numérica (www.random.org).

Recolhemos dados relacionados com a doente, com o tumor, com a técnica usada para a identificação e estudo do GS e o número de gânglios identificados por cada técnica, bem como a presença de metástases ganglionares. Avaliámos também dados relativos a terapêuticas locais ou sistémicas prévias.

Técnica cirúrgica

No grupo de doentes em que o RI foi um dos métodos de pesquisa, foi aplicado o protocolo validado na nossa instituição para a utilização do Tc-99m, sendo injetado junto do tumor e aproximadamente 12-18 horas antes da cirurgia.

O corante azul vital patente (S.A.L.F., 50 mg/2 mL, Itália) foi injetado no plexo linfático subareolar, na dose de 1 mL, seguido de massagem durante 3 - 5 minutos.

A deteção do GS guiada pela fluorescência do VIC foi realizada utilizando a *Photodynamic Eye* (PDE) Hamamatsu, Japão. O VIC (*VerDye* 25 mg - 5 mg/mL, Diagnostic Green GmbH, Alemanha) foi diluído em 5 mL de soro fisiológico. Imediatamente antes do início da cirurgia, e independentemente da localização do tumor, os doentes receberam uma injeção peritumoral (intervalo de dose, 0,5 - 2 mL), sob anestesia geral, seguida de uma massagem de cerca de 3 a 5 minutos. A dose selecionada baseou-se no índice de massa corporal (IMC) da doente, volume e ptose mamária e ainda na localização do tumor. Minutos depois, as luzes da sala operatória eram desligadas e a drenagem linfática era visualizada em tempo real até à axila, através da fluorescência emitida pelo VIC e utilizando a sonda de infravermelhos PDE.

Foram considerados GS todos os gânglios azuis, radioativos (quentes) ou fluorescentes, ou com combinações destas marcações, assim como todos aqueles clinicamente suspeitos de envolvimento metastático. As suas características relativamente à marcação (azuis *versus* quentes *versus* verdes/fluorescentes) foram registadas no relato operatório.

Seguidamente, nos casos de carcinoma ductal *in situ* (CDIS) ou pós quimioterapia (QT) neo-adjuvante, os gânglios foram processados pelo método convencional (incluindo em parafina e coloração em hematoxilina-eosina - HE). Os restantes casos foram processados pelo método molecular OSNA (*one-step nucleic acid amplification*).^{22,23}

Análise estatística

Efetuámos a análise estatística dos dados com recurso ao *software* STATA®, versão 11.2 (StataCorp LP, College Station, Texas, EUA). Determinámos a taxa de deteção para cada um dos métodos de identificação de GS através da quantificação do número de gânglios identificados por cada método, dividindo pelo número total de gânglios identificados em cada doente. Estimámos intervalos de confiança a 95% (IC 95%) assumindo uma distribuição binomial e utilizámos o teste binomial para comparar a taxa de deteção entre os diferentes métodos, considerando como hipótese nula a igualdade de *performance* diagnóstica. Para cada método calculámos também a média e desvio-padrão

Tabela 1 – Características das doentes

	n (%)
Total	232
Idade (anos)	
< 70	182 (78,4)
≥ 70	50 (21,6)
IMC (kg/m²)	
< 20	10 (5,0)
20 - 25	94 (47,0)
26 - 30	55 (27,5)
> 30	41 (20,5)
Tratamento prévio à mama ou à axila	
Não	219 (94,4)
Sim	13 (5,6)
Quimioterapia neo-adjuvante	
Não	218 (94,0)
Sim	14 (6,0)

do número de gânglios identificados. As médias entre os grupos foram comparadas utilizando o teste *t* de Student. Efetuámos estes cálculos para a amostra total de doentes e por subgrupos de acordo com as características das doentes, tendo em conta a idade (< 70 e ≥ 70 anos), o IMC (< 20, 20 - 25, 26 - 30 e > 30 kg/m²), a realização de tratamentos prévios à mama ou à axila (não e sim) e ainda a realização de QT neo-adjuvante (não e sim). Efetuámos os mesmos procedimentos na análise da identificação de gânglios metastizados.

Aspetos éticos

O presente trabalho de investigação foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de São João / Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Dada a natureza retrospectiva da colheita dos dados, foi dispensada a obtenção de consentimento informado.

RESULTADOS

Nesta amostra de 232 doentes, a mediana de idade ao diagnóstico era de 58 anos (valor mínimo-valor máximo: 25 - 92 anos) e a mediana do IMC era de 25,71 kg/m² (valor mínimo - valor máximo: 18,29 - 43,28 kg/m²). Dentro do grupo de mulheres analisadas, 13 (5,6%) tinham realizado tratamentos prévios à mama ou à axila, e 14 (6,0%) tinham sido submetidas a QT neo-adjuvante (Tabela 1).

Os resultados relativos à *performance* diagnóstica global de cada um dos três métodos encontram-se descritos na Tabela 2. O número médio (\pm desvio-padrão) de GS identificados pelo VIC foi superior ao do CA ($1,66 \pm 1,09$ vs $1,38 \pm 0,90$, $p < 0,001$) e inferior ao RI ($1,66 \pm 1,09$ vs $1,87 \pm 1,01$, $p = 0,002$).

Relativamente ao VIC, o qual foi aplicado na totalidade da amostra, este identificou o GS em 212 doentes, correspondendo a uma taxa de deteção de 91,4% (IC 95%: 87,0% - 94,6%). Verificou-se a utilização do CA como método de pesquisa do gânglio sentinela em 228 doentes, tendo identificado o GS em 204 destas (taxa de deteção: 89,5%; IC 95%: 85,5% - 93,5%). Já o RI foi utilizado em 71 doentes, tendo detetado o GS em 69 destas (taxa de deteção: 97,2%; IC 95%: 90,2% - 99,6%). Comparando o VIC com os outros dois métodos, constatámos que este método de pesquisa do GS não é inferior ao CA em termos de taxa de deteção ($p = 0,852$), não se observando o mesmo em relação ao RI, o qual se revela superior ($p < 0,001$).

Quando se compara a taxa de deteção dos três métodos de acordo com as características das doentes (Tabela 1 e Fig. 1), verifica-se que o VIC não é inferior ao CA para identificação do GS em qualquer um dos subgrupos considerados, enquanto que a deteção por RI é superior nas doentes com idade inferior a 70 anos ($p < 0,001$), sem tratamento prévio à mama ou à axila ($p < 0,001$) e naquelas que não foram submetidas a QT neo-adjuvante ($p < 0,001$).

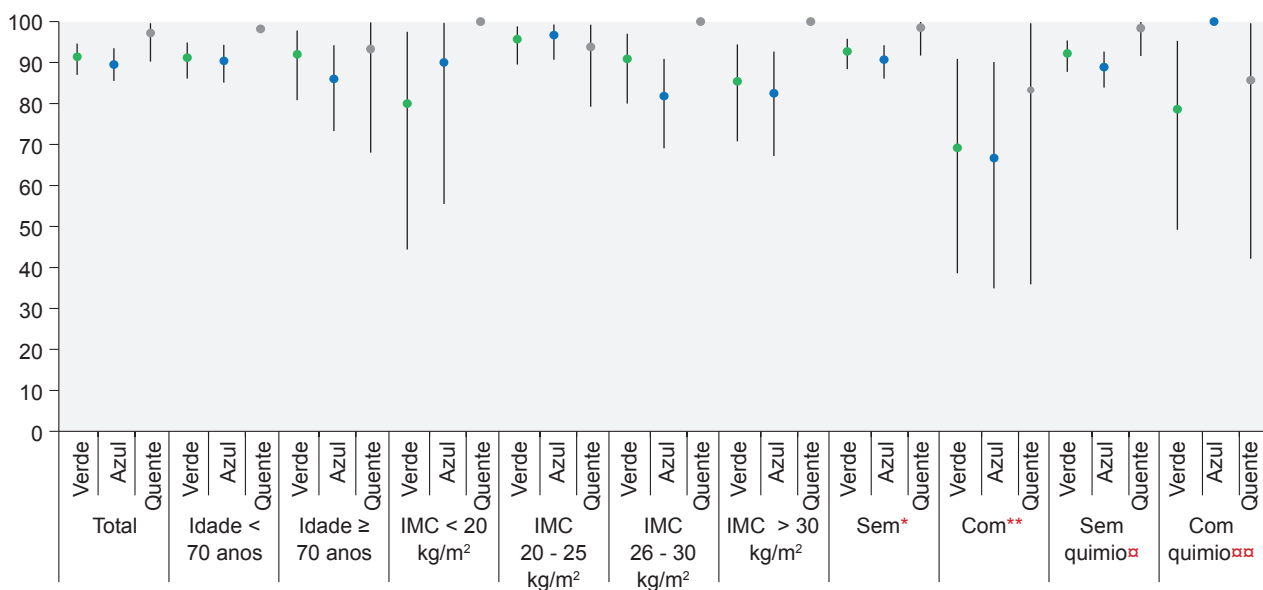


Figura 1 – Taxa de deteção de gânglios e intervalos de confiança a 95%, de acordo com as características das doentes

* Sem tratamento prévio à mama ou à axila; ** Com tratamento prévio à mama ou à axila; □ Sem quimioterapia neo-adjuvante, □□ Com quimioterapia neo-adjuvante

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas na performance dos testes no subgrupo de mulheres mais velhas ($p = 0,433$), normoponderais (IMC 20 - 25 kg/m²) ($p = 0,841$), nas que tinham realizado tratamento prévio à mama ou à axila ($p = 0,159$) e nas que foram submetidas a QT neo-adjuvante ($p = 0,323$).

No que concerne à identificação de gânglios metastizados, os resultados da performance diagnóstica de cada um dos três métodos encontram-se descritos na Tabela 3. O número médio (\pm desvio-padrão) de gânglios metastizados identificados pelo VIC foi semelhante ao CA ($0,42 \pm 0,66$ vs $0,37 \pm 0,60$, $p = 0,110$) e superior ao RI ($0,42 \pm 0,66$ vs $0,39 \pm 0,62$, $p = 0,033$).

No global observaram-se taxas de deteção de 33,0% (IC 95%: 26,7% - 39,8%), 31,4% (IC 95%: 25,1% - 38,2%) e 31,9% (IC 95%: 21,2% - 44,2%) para os métodos VIC, CA e RI, respetivamente. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas na taxa de deteção de gânglios metastizados entre os três testes, no global e de acordo com as características das doentes (Fig. 2).

Nos casos em que foi usada a combinação do VIC com o CA, 188 GS eram fluorescentes e azuis (83,6%), 21 eram fluorescentes mas não azuis (9,3%) e 16 eram azuis mas não fluorescentes (7,1%), de um total de 225 GS identificados. No que respeita aos gânglios metastizados, 58 dos 73 encontrados eram fluorescentes e azuis (79,5%), nove eram apenas fluorescentes (12,3%) e seis eram azuis mas não fluorescentes (8,2%).

Nas doentes em que foi usada a combinação CA e RI foram identificados 67 gânglios. Destes, 61 eram azuis e quentes (91,0%), dois eram azuis mas não quentes (3,0%) e quatro eram quentes mas não azuis (6,0%). Analisando os gânglios metastizados pesquisados por esta combinação, observamos que dos 20 identificados, 14 deles eram azuis e quentes (70,0%), dois apenas azuis (10,0%) e três eram quentes mas não azuis (15,0%).

Nas doentes submetidas à combinação VIC e RI foram identificados 69 gânglios. Destes, 61 eram fluorescentes e quentes (88,4%) e apenas oito eram quentes mas não fluorescentes (11,6%). Neste grupo foram encontrados 22 gânglios metastizados, dos quais 19 eram fluorescentes e quentes (86,4%) e três eram quentes mas não fluorescentes (13,6%).

Nos casos em que foram usados os três métodos verificámos que foram identificados 67 GS. Destes, 56 eram fluorescentes, azuis e quentes (83,6%), dois eram verdes e quentes (3,0%), cinco eram azuis e quentes (7,5%), dois apenas azuis (3,0%) e dois apenas quentes (3,0%). Relativamente aos gânglios metastizados, de um total de 16 verificámos que 12 eram fluorescentes, azuis e quentes (75,0%), um verde e quente (6,3%), um azul e quente (6,3%), um apenas azul (6,3%) e um apenas quente (6,3%).

DISCUSSÃO

Os principais resultados do nosso trabalho mostram que a biópsia do GS no cancro da mama guiada por fluorescência com o VIC tem uma taxa de deteção superior a

Tabela 2 – Número de gânglios identificados e taxa de deteção de acordo com as características das doentes

	Número de doentes com gânglios identificados/ Número total de doentes			Número de gânglios identificados (média \pm desvio-padrão)			Taxa de deteção (%; intervalo de confiança a 95%)				
	Verde	Azul	Quente	Verde	Azul	Quente	Verde < Azul	Quente	Verde < Quente		
Total	212/232	204/228	69/71	1,66 \pm 1,09	1,38 \pm 0,90	1,87 \pm 1,01	0,002	91,4 (87,0 - 94,6)	89,5 (85,5 - 93,5)	97,2 (90,2 - 99,6)	< 0,001
Idade (anos)											
< 70	166/182	161/178	55/56	1,62 \pm 1,05	1,32 \pm 0,79	1,91 \pm 0,98	< 0,001	91,2 (86,1 - 94,9)	90,4 (85,1 - 94,3)	98,2 (90,4 - 99,9)	< 0,001
\geq 70	46/50	43/50	14/15	1,82 \pm 1,22	1,58 \pm 1,20	1,73 \pm 1,16	0,697	92,0 (80,8 - 97,8)	86,0 (73,3 - 94,2)	93,3 (68,0 - 99,8)	0,433
IMC (Kg/m²)											
< 20	8/10	9/10	2/2	1,90 \pm 1,66	1,50 \pm 0,97	3,00 \pm 1,41	0,033	80,0 (44,4 - 97,5)	90,0 (55,5 - 99,7)	100,0	-
20 - 25	90/94	88/91	30/32	1,80 \pm 1,06	1,49 \pm 0,85	2,06 \pm 1,13	0,009	95,7 (89,5 - 98,8)	96,7 (90,7 - 99,3)	93,8 (79,2 - 99,2)	0,841
26 - 30	50/55	45/55	13/13	1,49 \pm 0,98	1,22 \pm 0,80	1,62 \pm 1,04	0,166	90,9 (80,0 - 97,0)	81,8 (69,1 - 90,9)	100,0	-
> 30	35/41	33/40	15/15	1,66 \pm 1,24	1,38 \pm 1,10	1,67 \pm 0,62	0,476	85,4 (70,8 - 94,4)	82,5 (67,2 - 92,7)	100,0	-
Tratamento prévio à mama ou à axila											
Não	203/219	196/216	64/65	1,68 \pm 1,08	1,41 \pm 0,90	1,91 \pm 0,98	0,001	92,7 (88,4 - 95,8)	90,7 (86,1 - 94,2)	98,5 (91,7 - 99,9)	< 0,001
Sim	9/13	8/12	5/6	1,31 \pm 1,25	0,83 \pm 0,72	1,50 \pm 1,38	0,295	69,2 (38,6 - 90,9)	66,7 (34,9 - 90,1)	83,3 (35,9 - 99,6)	0,159
Quimioterapia neo-adjuvante											
Não	201/218	192/216	63/64	1,67 \pm 1,08	1,37 \pm 0,91	1,94 \pm 1,02	< 0,001	92,2 (87,8 - 95,4)	88,9 (83,9 - 92,7)	98,4 (91,6 - 99,9)	< 0,001
Sim	11/14	12/12	6/7	1,50 \pm 1,22	1,50 \pm 0,67	1,28 \pm 0,76	0,743	78,6 (49,2 - 95,3)	100,0	85,7 (42,1 - 99,6)	0,323

Foi utilizado o teste t para a comparação de médias do número de gânglios identificados e o teste binomial para a comparação de taxas de deteção.

90% e que na presença de metástases a *performance* diagnóstica deste método é similar à das outras técnicas descritas.

O *status* ganglionar axilar mantém-se como um importante fator de prognóstico em doentes com cancro da mama em estadio inicial e determina a seleção do tratamento adjuvante mais adequado, apesar da crescente importância da biologia tumoral na decisão terapêutica.⁸ O mapeamento linfático e a biópsia do GS permitem o estadiamento ganglionar com elevada eficácia e de forma pouco invasiva, tendo sido aceite como alternativa à disseção ganglionar axilar, reduzindo a morbilidade associada.²

A técnica combinada que associa o CA e o RI tecnécio (Tc-99m) (linfocintigrafia e pesquisa intra-operatória) é considerada o método *standard*, com taxas de deteção de 95% a 97%, segundo a literatura.^{2,24} No entanto, a utilização de RI requer equipamento dispendioso e logística na manipulação de material radioativo e na preparação pré-operatória, o que limita a sua utilização aos grandes centros (com elevado número de doentes) que dispõem de um serviço de Medicina Nuclear.^{3,5,11,18,19} De referir ainda que esta técnica não providencia informação visual intra-operatória nem a disseção ordenada e sequencial, pois os gânglios são detetados como pontos quentes, independentemente do fluxo linfático anatómico.^{15-18,24}

Relativamente ao CA, apesar do seu baixo custo e da ausência de radiação, poderá estar associado a reações alérgicas e anafiláticas e ao aparecimento de nódulos e necrose gorda no local da injeção.^{12,20} Além disso, o CA nem sempre é facilmente visualizável através da pele e do tecido adiposo, pois não penetra na derme, não permitindo localizar o GS antes da incisão cutânea.⁴

O VIC é um corante não radioativo com capacidade de emitir fluorescência e, quando libertado no organismo, liga-se a proteínas e macromoléculas que alteram o espectro de emissão para próximo ao infravermelho.¹⁴ Esta irradiação, que se desenvolve segundos após a injeção, é invisível ao olho humano mas os vasos linfáticos subcutâneos podem ser detetados através de uma câmara fotodinâmica de elevada sensibilidade, permitindo seguir o fluxo em direção à axila e aos GS.^{12,15,25} O VIC apresenta diversas vantagens relativamente aos métodos convencionais.²¹ A sua penetração tecidual possibilita a visualização percutânea, intraoperatória e em tempo real dos vasos linfáticos, orientando a incisão e localização dos potenciais GS.^{3,4,21} Além disso, com o VIC é possível estabelecer uma ordem anatómica na pesquisa dos GS e, consequentemente, a sua disseção ordenada e sequencial guiada pela visualização do tecido linfático.^{15,16,18,24} Apesar de ter baixa taxa de complicações e poucos efeitos adversos, a técnica de fluorescência pelo VIC apresenta algumas limitações, como a identificação de GS mais profundos devido à baixa penetração tecidual (até uma profundidade de apenas 10 a 20 mm), o que torna difícil seguir o fluxo linfático em tecidos mais profundos.^{13,20,25} Existe ainda a possibilidade de extravasamento

Tabela 3 – Número de gânglios metastizados e taxa de deteção de acordo com as características das doentes

	Número de doentes com gânglios metastizados/ Número de doentes com gânglios identificados			Número de gânglios metastizados (média ± desvio-padrão)					Taxa de deteção (%; intervalo de confiança a 95%)				
	Verde	Azui	Quente	Verde	Azui	Verde < Azui	Quente	Verde < Quente	Verde	Azui	Verde < Azui	Quente	Verde < Quente
Total	70/212	64/204	22/69	0,42 ± 0,66	0,37 ± 0,60	0,110	0,39 ± 0,62	0,033	33,0 (26,7 - 39,8)	31,4 (25,1 - 38,2)	0,721	31,9 (21,2 - 44,2)	0,666
Idade (anos)													
< 70	53/166	49/161	17/55	0,39 ± 0,63	0,34 ± 0,56	0,284	0,40 ± 0,66	0,014	31,9 (24,9 - 39,6)	30,4 (23,4 - 38,2)	0,698	30,9 (19,1 - 44,8)	0,648
≥ 70	17/46	15/43	5/14	0,50 ± 0,75	0,46 ± 0,74	0,108	0,36 ± 0,50	0,553	37,0 (23,2 - 52,4)	34,9 (21,0 - 50,9)	0,677	35,7 (12,8 - 64,9)	0,635
IMC (kg/m²)													
< 20	3/8	3/9	0/2	0,50 ± 0,76	0,44 ± 0,73	0,366	-	-	37,5 (8,5 - 75,5)	33,3 (7,5 - 70,1)	0,742	0,0	-
20 - 25	33/90	31/88	12/30	0,42 ± 0,62	0,40 ± 0,60	0,258	0,50 ± 0,68	0,005	36,7 (26,8 - 47,5)	35,2 (25,3 - 46,1)	0,659	40,0 (22,6 - 59,4)	0,297
26 - 30	15/50	14/45	3/13	0,34 ± 0,56	0,31 ± 0,47	0,440	0,31 ± 0,63	0,440	30,0 (17,9 - 44,6)	31,1 (18,2 - 46,6)	0,502	23,1 (5,0 - 53,8)	0,904
> 30	15/35	13/33	6/15	0,66 ± 0,87	0,54 ± 0,79	0,099	0,47 ± 0,64	0,314	42,8 (26,3 - 60,6)	39,4 (22,9 - 57,9)	0,725	40,0 (16,3 - 67,7)	0,700
Tratamento prévio à mama ou à axila													
Não	69/203	63/196	21/64	0,42 ± 0,66	0,38 ± 0,61	0,115	0,39 ± 0,61	0,067	34,0 (27,5 - 41,0)	32,1 (25,7 - 39,2)	0,744	32,8 (21,6 - 45,7)	0,671
Sim	1/9	1/8	1/5	0,22 ± 0,67	0,12 ± 0,35	0,469	0,40 ± 0,89	0,016	11,1 (0,3 - 48,2)	12,5 (0,3 - 52,6)	0,687	20,0 (0,5 - 71,6)	0,436
Quimioterapia neo-adjuvante													
Não	66/201	63/192	19/63	0,41 ± 0,65	0,38 ± 0,60	0,061	0,36 ± 0,60	0,171	32,8 (26,4 - 39,8)	32,8 (26,2 - 39,9)	0,538	30,2 (19,2 - 43,0)	0,814
Sim	4/11	1/12	3/6	0,54 ± 0,82	0,17 ± 0,58	0,884	0,67 ± 0,82	0,036	36,4 (10,9 - 69,2)	8,3 (0,2 - 38,5)	0,999	50,0 (11,8 - 88,2)	0,274

Foi utilizado o teste t de Student para a comparação de médias do número de gânglios metastizados e o teste binomial para a comparação de taxas de deteção.

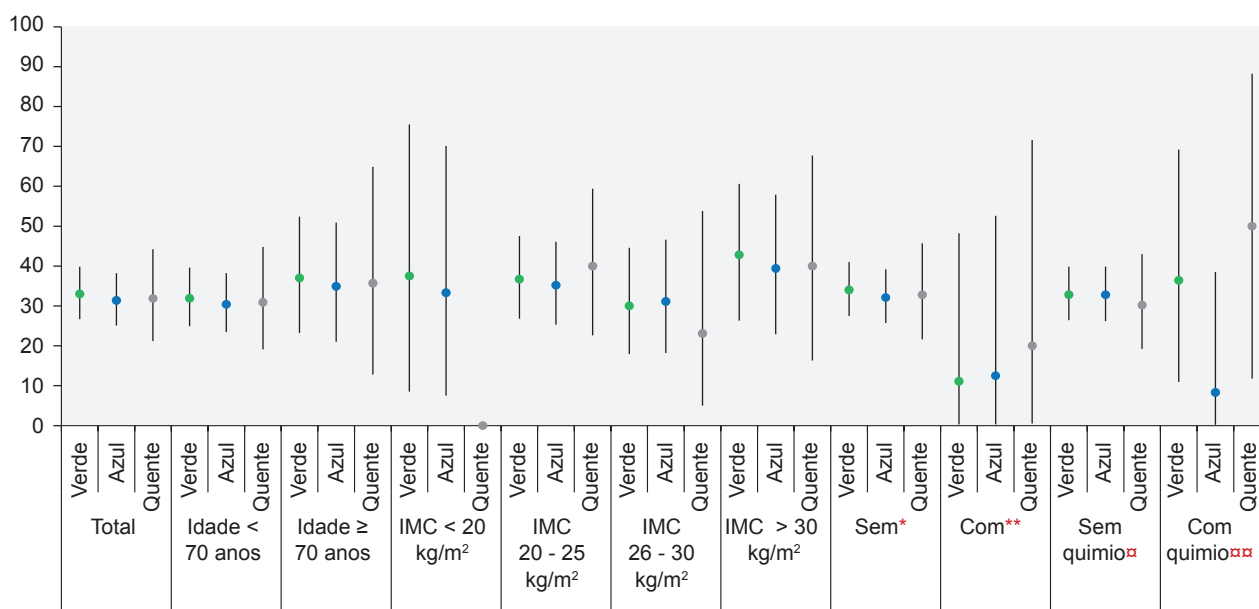


Figura 2 – Taxa de detecção de gânglios metastizados e intervalos de confiança a 95%, de acordo com as características das doentes
 * Sem tratamento prévio à mama ou à axila; ** Com tratamento prévio à mama ou à axila; □ Sem quimioterapia neoadjuvante, □□ Com quimioterapia neoadjuvante

do VIC, se os linfáticos que o contêm se romperem ou forem seccionados, o que acaba por contaminar o tecido adjacente, dificultando a distinção entre a fluorescência proveniente dos vasos linfáticos íntegros daquela do tecido envolvente.¹³ O material necessário à execução do método pelo VIC não é dispendioso.¹² Todavia, não deixa de constituir uma desvantagem a necessidade de se possuir uma câmara fotodinâmica.²⁰ Alguns cirurgiões e autores levantam ainda a questão acerca do número excessivo de gânglios fluorescentes e, conseqüentemente, classificados como sentinela, o que aumentaria a média de gânglios removidos e a morbilidade do procedimento.^{13,15} Ainda assim, isso não se verificou no nosso estudo, cujo número de GS detetados pelo VIC foi inferior ao RI.

Existem alguns fatores que poderão influenciar a detecção do gânglio sentinela pelos métodos descritos, nomeadamente a idade e o IMC do doente, alguns procedimentos prévios, como as cirurgias mamárias homolaterais, a pesquisa do GS homolateral e a radioterapia (RT) homolateral e ainda a realização de QT neoadjuvante.²⁶⁻²⁹

Com o avançar da idade, a diminuição do nível de estrogénios e as alterações anatómicas com deposição de tecido adiposo na mama podem comprometer a função dos vasos linfáticos.^{27,28} Aliás, a capacidade dos gânglios linfáticos para reter os corantes e/ou radiocolóides diminui quando estes são substituídos por gordura.^{27,28} Não obstante, no presente estudo, quando estratificámos as doentes consoante a idade, constatámos que no grupo de mulheres com idade igual ou superior a 70 anos o VIC não foi inferior ao azul nem ao radioisótopo na detecção do GS.

O IMC pode influenciar a pesquisa do GS, pois um elevado conteúdo de tecido adiposo subcutâneo e axilar pode dificultar a visibilidade do campo cirúrgico, bem como exercer pressão mecânica nos vasos linfáticos, impedindo o fluxo linfático dos marcadores usados.^{28,29} À semelhança

do que acontece em idades avançadas, também em indivíduos com IMC elevado, os gânglios linfáticos perdem a capacidade de reter os corantes e/ou radioisótopos.²⁹ Quando estudámos a taxa de detecção dos três métodos consoante o IMC e analisando particularmente as doentes obesas, nas quais poderia ser expectável uma menor taxa de detecção, verificámos que o VIC não foi inferior ao corante azul, o mesmo não se verificando em relação ao RI. No entanto, nas doentes normoponderais, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os três métodos.

Tratamentos ao cancro da mama prévios como cirurgia e/ou a RT na mama e axila podem levar à formação de fibrose e, conseqüentemente, alterar o fluxo linfático, o que pode influenciar a pesquisa do GS em doentes com recidiva.³⁰⁻³³ Do mesmo modo, também a QT neoadjuvante pode dificultar a correta identificação do GS devido às alterações que induz na estrutura do sistema de drenagem linfático.^{34,35} De facto, a QT pode induzir alterações anatómicas axilares importantes, nomeadamente bloqueio de canais linfáticos (por células em necrose, células tumorais em apoptose e por fibrose) e criação de vias de drenagem linfática colaterais, o que, em última análise, pode levar a uma taxa superior de falsos negativos.³⁶⁻³⁸ Assim, estas limitações devem ser tidas em conta se a biópsia do GS for feita após estes procedimentos. Neste estudo, nas doentes submetidas a tratamento prévio à mama ou axila constatámos que o VIC não foi inferior ao azul nem ao RI na pesquisa do GS dessas doentes. Quanto às doentes submetidas a QT neoadjuvante, o VIC não se revelou inferior ao RI na identificação do GS. Uma possível justificação para estes resultados favoráveis prende-se com o fato do VIC ter um baixo peso molecular, o que lhe permite, quando ligado à albumina, fluir através de vasos linfáticos parcialmente obliterados por células neoplásicas, inflamação, fibrose por cirurgia ou RT prévias, o que poderá constituir uma

vantagem relativamente aos RI neste subgrupo de doentes.⁶

O objetivo da biópsia do GS é a identificação de metástases axilares. Os nossos resultados mostraram que os três métodos são igualmente válidos na identificação de gânglios metastizados, não se verificando diferenças estatisticamente significativas nos vários subgrupos analisados.

Dada a natureza retrospectiva deste estudo, não foi possível analisar um grupo de doentes em que todas tivessem sido submetidas aos três métodos de pesquisa do GS, o que permitiria uma comparação válida entre os diferentes métodos. Além disso, verificámos que alguns dos subgrupos por nós estudados são compostos por um número reduzido de doentes, o que pode inviabilizar algumas comparações. Assim, seria premente aumentar o número de doentes que compõem a amostra, utilizando um desenho de estudo prospetivo.

CONCLUSÃO

A biópsia do GS é uma técnica muito vantajosa, permitindo a evicção de intervenções cirúrgicas radicais no estadiamento do cancro da mama. É no entanto um procedimento que varia entre as diferentes instituições e os cirurgiões devem estar cientes das características de cada doente, do tumor e dos métodos de pesquisa disponíveis, no sentido de evitar falhas na identificação do GS e consequentemente condicionar a terapêutica e o prognóstico da doente.

O nosso trabalho permitiu demonstrar que o VIC é uma técnica promissora para a deteção do GS no cancro da mama dada a sua elevada acuidade global e comparabilidade com os outros métodos disponíveis, independentemente de fatores relacionados com a doente e com o tumor. Tendo em conta os aspetos discutidos, acreditamos que é um método aparentemente reprodutível e seguro que

pode vir a eliminar a necessidade de exposição do doente à radiação ionizante e com potencial para reduzir os custos do procedimento de pesquisa do GS, afigurando-se como uma opção futura para os hospitais que não possuem serviço de Medicina Nuclear, limitados em termos de realização da linfocintigrafia com RI.

Consideramos essencial que novos estudos sejam desenvolvidos no sentido de identificar o perfil das doentes que maximiza a eficácia do VIC.

Esperamos que este estudo contribua para investigações futuras em termos de aplicação e otimização do VIC na biópsia do GS guiada por fluorescência no cancro da mama.

PROTEÇÃO DE PESSOAS E ANIMAIS

Os autores declaram que os procedimentos seguidos estavam de acordo com os regulamentos estabelecidos pelos responsáveis da Comissão de Investigação Clínica e Ética e de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial.

CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS

Os autores declaram ter seguido os protocolos do seu centro de trabalho acerca da publicação de dados. Todos os dados foram colhidos e armazenados numa base de dados de forma anónima.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não ter qualquer conflito de interesse relativamente ao presente artigo.

FONTES DE FINANCIAMENTO

Os autores declaram não ter recebido subsídios ou bolsas para a elaboração do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136:E359-86.
2. Gherghe M, Bordea C, Blidaru A. Sentinel lymph node biopsy (SLNB) vs. axillary lymph node dissection (ALND) in the current surgical treatment of early stage breast cancer. *J Med Life*. 2015;8:176-80.
3. Toh U, Iwakuma N, Mishima M, Okabe M, Nakagawa S, Akagi Y. Navigation surgery for intraoperative sentinel lymph node detection using Indocyanine green (ICG) fluorescence real-time imaging in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2015;153:337-44.
4. Jung SY, Kim SK, Kim SW, Kwon Y, Lee ES, Kang HS, et al. Comparison of sentinel lymph node biopsy guided by the multimodal method of indocyanine green fluorescence, radioisotope, and blue dye versus the radioisotope method in breast cancer: a randomized controlled trial. *Ann Surg Oncol*. 2014;21:1254-9.
5. Guo W, Zhang L, Ji J, Gao W, Liu J, Tong M. Breast cancer sentinel lymph node mapping using near-infrared guided indocyanine green in comparison with blue dye. *Tumour Biol*. 2014;35:3073-8.
6. Stoffels I, Dissemmond J, Poppel 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.
7. Grischke EM, Rohm C, Hahn M, Helms G, Brucker S, Wallwiener D. ICG fluorescence technique for the detection of sentinel lymph nodes in breast cancer: results of a prospective open-label clinical trial. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2015;75:935-40.
8. Samorani D, Fogacci T, Panzini I, Frisoni G, Accardi FG, Ricci M, et al. The use of indocyanine green to detect sentinel nodes in breast cancer: a prospective study. *Eur J Surg Oncol*. 2015;41:64-70.
9. Xiong L, Gazyakan E, Yang W, Engel H, Hunerbein M, Kneser U, et al. Indocyanine green fluorescence-guided sentinel node biopsy: a meta-analysis on detection rate and diagnostic performance. *Eur J Surg Oncol*. 2014;40:843-9.
10. Zhang X, Li Y, Zhou Y, Mao F, Lin Y, Guan J, et al. Diagnostic performance of indocyanine green-guided sentinel lymph node biopsy in breast cancer: A meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11:e0155597.
11. Sugie T, Ikeda T, Kawaguchi A, Shimizu A, Toi M. Sentinel lymph node biopsy using indocyanine green fluorescence in early-stage breast cancer: a meta-analysis. *Int J Clin Oncol*. 2017;22:11-7.
12. Sugie T, Sawada T, Tagaya N, Kinoshita T, Yamagami K, Suwa H, et al. Comparison of the indocyanine green fluorescence and blue dye methods in detection of sentinel lymph nodes in early-stage breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2013;20:2213-8.
13. Cong BB, Sun X, Song XR, Liu YB, Zhao T, Cao XS, et al. Preparation study of indocyanine green-rituximab: A new receptor-targeted tracer for sentinel lymph node in breast cancer. *Oncotarget*. 2016;7:47526-35.
14. Coufal O, Fait V. Use of indocyanine green and the HyperEye system for detecting sentinel lymph nodes in breast cancer within a population

- of European patients: a pilot study. *World J Surg Oncol.* 2016;14:299.
15. Pitsinis V, Provenzano E, Kaklamanis L, Wishart GC, Benson JR. Indocyanine green fluorescence mapping for sentinel lymph node biopsy in early breast cancer. *Surg Oncol.* 2015;24:375-9.
 16. Sugie T, Kinoshita T, Masuda N, Sawada T, Yamauchi A, Kuroi K, et al. Evaluation of the clinical utility of the ICG fluorescence method compared with the radioisotope method for sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2016;23:44-50.
 17. van der Vorst JR, Schaafsma BE, Verbeek FP, Hutteman M, Mieog JS, Lowik CW, et al. Randomized comparison of near-infrared fluorescence imaging using indocyanine green and 99(m) technetium with or without patent blue for the sentinel lymph node procedure in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol.* 2012;19:4104-11.
 18. Benson J. Indocyanine green fluorescence for sentinel lymph node detection in early breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2016;23:6-8.
 19. Wishart GC, Loh SW, Jones L, Benson JR. A feasibility study (ICG-10) of indocyanine green (ICG) fluorescence mapping for sentinel lymph node detection in early breast cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2012;38:651-6.
 20. Aydogan F, Arıkan AE, Aytac E, Velidedeoglu M, Yılmaz MH, Sager MS, et al. Sentinel lymph node biopsy under fluorescent indocyanin green guidance: Initial experience. *Ulus Cerrahi Derg.* 2016;32:50-3.
 21. He K, Chi C, Kou D, Huang W, Wu J, Wang Y, et al. Comparison between the indocyanine green fluorescence and blue dye methods for sentinel lymph node biopsy using novel fluorescence image-guided resection equipment in different types of hospitals. *Transl Res.* 2016;178:74-80.
 22. Raia-Barjat T, Trombert B, Khaddage A, Douchet C, Seffert P, Peoc'h M, et al. OSNA (one-step nucleic acid amplification) sentinel lymph node intraoperative molecular analysis in breast cancer: a cost-benefit analysis. *Med Oncol.* 2014;31:322.
 23. Osako T, Iwase T, Kimura K, Yamashita K, Horii R, Yanagisawa A, et al. Intraoperative molecular assay for sentinel lymph node metastases in early stage breast cancer: a comparative analysis between one-step nucleic acid amplification whole node assay and routine frozen section histology. *Cancer.* 2011;117:4365-74.
 24. Takeuchi M, Sugie T, Abdelazeem K, Kato H, Shinkura N, Takada M, et al. Lymphatic mapping with fluorescence navigation using indocyanine green and axillary surgery in patients with primary breast cancer. *Breast J.* 2012;18:535-41.
 25. Ballardini B, Santoro L, Sangalli C, Gentilini O, Renne G, Lissidini G, et al. The indocyanine green method is equivalent to the (9)(9) mTc-labeled radiotracer method for identifying the sentinel node in breast cancer: a concordance and validation study. *Eur J Surg Oncol.* 2013;39:1332-6.
 26. Boughey JC, Suman VJ, Mittendorf EA, Ahrendt GM, Wilke LG, Taback B, et al. Factors affecting sentinel lymph node identification rate after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer patients enrolled in ACOSOG Z1071 (Alliance). *Ann Surg.* 2015;261:547-52.
 27. Gschwantler-Kaulich D, Riegler-Keil M, Ruecklinger E, Singer CF, Seifert M, Kubista E. Factors influencing the identification rate of the sentinel node in breast cancer. *Eur J Cancer Care.* 2011;20:627-31.
 28. Straalman K, Kristoffersen US, Galatius H, Lanng C. Factors influencing sentinel lymph node identification failure in breast cancer surgery. *Breast.* 2008;17:167-71.
 29. Goyal A, Newcombe RG, Chhabra A, Mansel RE, Group AT. Factors affecting failed localisation and false-negative rates of sentinel node biopsy in breast cancer-results of the ALMANAC validation phase. *Breast Cancer Res Treat.* 2006;99:203-8.
 30. Vugts G, Maaskant-Braat AJ, Voogd AC, van Riet YE, Luiten EJ, Rutgers EJ, et al. Repeat sentinel node biopsy should be considered in patients with locally recurrent breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2015;153:549-56.
 31. Vugts G, Maaskant-Braat AJ, Voogd AC, van Riet YE, Roumen RM, Luiten EJ, et al. Improving the success rate of repeat sentinel node biopsy in recurrent breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2015;22:S529-35.
 32. Maaskant-Braat AJ, Voogd AC, Roumen RM, Nieuwenhuijzen GA. Repeat sentinel node biopsy in patients with locally recurrent breast cancer: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;138:13-20.
 33. Matsumoto A, Jinno H, Nakamura T, Saito J, Takahashi M, Hayashida T, et al. Technical feasibility of sentinel lymph node biopsy in patients with ipsilateral breast tumor recurrence and previous axillary surgery. *Int J Surg.* 2015;22:28-31.
 34. Pilewskie M, Morrow M. Axillary nodal management following neoadjuvant chemotherapy: a review. *JAMA Oncol.* 2017;3:549-55.
 35. Pinero-Madrone A, Escudero-Barea MJ, Fernandez-Robayna F, Alberro-Aduriz JA, Garcia-Fernandez A, Vicente-Garcia F, et al. Selective sentinel lymph node biopsy after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: results of the GEICAM 2005-07 study. *Cir Esp.* 2015;93:23-9.
 36. Aguiar PH, Pinheiro LG, Mota RM, Margotti NH, Rocha JI. Sentinel lymph node biopsy in patients with locally advanced breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Acta Cir Bras.* 2012;27:912-6.
 37. Pecha V, Kolarik D, Kozevnikova R, Hovorkova K, Hrabetova P, Halaska M, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Cancer.* 2011;117:4606-16.
 38. Kuehn T, Bauerfeind I, Fehm T, Fleige B, Hausschild M, Helms G, et al. Sentinel-lymph-node biopsy in patients with breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy (SENTINA): a prospective, multicentre cohort study. *Lancet Oncol.* 2013;14:609-18.