



**ASSOCIAZIONE
OTORINOLARINGOLOGI
OSPEDALIERI
ITALIANI**

Presidente: DOMENICO CUDA

IL LINFONODO SENTINELLA NEI TUMORI CERVICO-FACCIALI

Sentinel lymph node biopsy in head and neck cancer

a cura di/by

Maurizio Giovanni Vigili

torgraf

QUADERNI MONOGRAFICI DI AGGIORNAMENTO



**ASSOCIAZIONE
OTORINOLARINGOLOGI
OSPEDALIERI
ITALIANI**
Presidente: DOMENICO CUDA

IL LINFONODO SENTINELLA NEI TUMORI CERVICO-FACCIALI

Sentinel lymph node biopsy in head and neck cancer

a cura di/by
Maurizio Giovanni Vigili

QUADERNI MONOGRAFICI DI AGGIORNAMENTO

© *Quaderni Monografici di Aggiornamento A.O.O.I.*

IL LINFONODO SENTINELLA NEI TUMORI CERVICO-FACCIALI

Sentinel lymph node biopsy in head and neck cancer

a cura di/by

Maurizio Giovanni Vigili

Direttore UOC di Otorinolaringoiatria, Ospedale "San Carlo", Roma
Director of the Department of Otorhinolaryngology, San Carlo Hospital, Rome



La riproduzione di questo volume o di parte di esso e la sua diffusione in qualsiasi forma o con qualsiasi mezzo, elettronico, meccanico, per mezzo di fotocopie, microfilm, registrazioni od altro, sono proibite senza il permesso scritto della A.O.O.I. (Associazione Otorinolaringologi Ospedalieri Italiani).

Realizzazione editoriale e stampa:

TorGraf

S.P. 362 km. 15.300

73013 Galatina (Le)

Telefono 0836.561417

Fax 0836.569901

e-mail: stampa@torgraf.it

INTRODUZIONE

La metodica del linfonodo sentinella, già affermata e consolidata nel trattamento dei tumori della mammella e del melanoma, ha iniziato ad essere studiata ed applicata ai tumori del cavo orale all'inizio del 2000 e rimane tutt'ora una metodica poco utilizzata, nonostante i numerosi lavori e trial multi-istituzionali ne abbiano validato l'utilizzo.

Il grande vantaggio è una stadiazione più accurata del drenaggio linfatico di ciascun paziente con collo N0 e la possibilità di limitare il ricorso allo svuotamento latero cervicale solo ai casi veramente necessari, quelli con linfonodi sentinella positivi.

Verrebbero in tal modo risparmiati circa il 70% di interventi inutili con diminuzione di morbilità per il paziente e rischi medico legali per il chirurgo, oltre che di costi per la sanità.

Il contributo della scuola italiana ospedaliera è stato importante fin dall'inizio della sua applicazione con i lavori di Mozzillo, Chiesa e Ionna proseguito poi da Barzan, Grandi, Poli e Vigili che sono sempre stati attivi nel gruppo europeo che si occupa di Linfonodo Sentinella.

Il volume, raccogliendo l'esperienza dell'Autore e del suo gruppo, con il contributo di quanti altri in Italia praticano la metodica, vuole essere un piccolo manuale di informazioni anche pratiche per indurre altri ad avere il coraggio di utilizzare la procedura. Traspare l'entusiasmo e la fede che tutti gli autori hanno messo nel coltivare questa metodica e ad attuarla nel corso degli anni cercando di propagandarla come una sfida. È anche un chiaro esempio di lavoro multidisciplinare, perché comporta la partecipazione e collaborazione indispensabile del medico Nucleare, del Chirurgo e del Patologo, oltre che del Radiologo, che solo grazie ad un lavoro di equipe possono conseguire risultati buoni.

L'auspicio è che la tecnologia in un futuro non lontano venga ulteriormente incontro alla utilizzazione del Linfonodo sentinella, migliorando la qualità della visione intraoperatoria del linfonodo da identificare e permettendone l'esame intraoperatorio e non differito.

Domenico Cuda

INTRODUCTION

Sentinel Node Biopsy is a well defined and routinely used technique in breast cancer and melanoma but, despite many successful studies and multi institutional trials since 2000, in Head and Neck cancer treatment it is rarely accepted.

SNB offers the potential for a more anatomically accurate surgery based on each patient's unique lymphatic drainage pattern. It allows to select patients for neck dissection only if the sentinel node is positive, sparing them the morbidity of overtreatment in about 70% of cases, both reducing the medico-legal risk for surgeons, and the costs for the Health System.

The contribution of the members of the Italian Association of Hospital Otolaryngologists (AOOI), has been important since the beginning: Mozzillo, Chiesa, Ionna and Barzan first, published interesting papers on that topic, than Grandi, Poli and Vigili have been very active in the European SENT Group.

The book collects the experience of the Author and of most of the Italian groups dealing with SNB. The aim is to make a series of theoretical and practical information about this topic available for all the specialists, hoping to encourage colleagues to use SNB in their daily practise. The enthusiasm and trust of all the authors appear clearly as a challenge. The success of the procedure is also due to the multidisciplinary approach. Nuclear Medicine Specialist, Surgeon and Pathologist, but Radiologist too, are the members of a Team.

Despite the excellent results obtained in oral cavity cancer treatment, there is still room for improvement and the new technologies in the future could allow better intraoperative visualization of the Sentinel Node and restriction of the procedure to one section instead of two.

Domenico Cuda

AUTORI/AUTHORS

Barzan Luigi

Consulente Chirurgia Cervicale
Centro di Riferimento Oncologico, Aviano (PN)
Cervical Surgery Consultant
Oncological Referral Center, Aviano (PN)

Bernabucci Valerio

Dirigente Medico Dipartimento Medicina Nucleare
Ospedale Cristo Re, Roma
Consultant Nuclear Medicine Department,
Cristo Re Hospital, Rome

Caggiati Alessio

Direttore U.O.C. di Chirurgia Plastica
Istituto Dermopatico dell'Immacolata IRCCS, Roma
Head Plastic Surgery Department
Istituto Dermopatico dell'Immacolata IRCCS, Rome

Celebrini Alessandra

Dirigente Medico U.O.C. di Otorinolaringoiatria
Ospedale San Carlo, Roma
Consultant Department of Otorhinolaryngology,
San Carlo Hospital, Rome

D'Agnese Giampaolo

Dirigente Responsabile Sistemi Informativi Ospedalieri e
Controllo di Gestione, Ospedale San Carlo, Roma
Engineer Information and Comunication Tecnology, Health Economic,
Management Control, San Carlo Hospital, Rome

Di Marco Giampiero

Dirigente Medico U.O.C. di Otorinolaringoiatria
Ospedale San Carlo, Roma
Consultant Department of Otorhinolaryngology
San Carlo Hospital, Rome

Grandi Cesare

Direttore U.O.C. di Otorinolaringoiatria
Ospedale Santa Chiara, Trento
*Director of the Department of Otorhinolaryngology
Santa Chiara Hospital, Trento*

Kayal Ramy

Dirigente Medico SSO Neuroradiologia
Istituto Nazionale Tumori Regina Elena, Roma
*Consultant Neuroradiologist
National Cancer Institute Regina Elena, Rome*

Lanfranco Davide

Unità di Chirurgia Maxillo Facciale, Dipartimento di Scienze Biomediche,
Biotechnologiche e Traslazionali (S.Bi.Bi.T.), Università degli Studi di Parma
*Consultant Maxillo Facial Surgery
Department of Biomedical, Biotechnological and Translational Science
University of Parma*

Mafera Barbara

Dirigente Medico U.O.C. di Otorinolaringoiatria
Ospedale San Carlo, Roma
*Consultant Department of Otorhinolaryngology
San Carlo Hospital, Rome*

Marani Carla

Responsabile Servizio di Istopatologia
Ospedale San Carlo, Roma
*Consultant Histopathologist
San Carlo Hospital, Rome*

Marzetti Andrea

Dirigente Medico U.O.C. di Otorinolaringoiatria
Ospedale San Carlo, Roma
*Consultant Department of Otorhinolaryngology
San Carlo Hospital, Rome*

Micozzi Marco

Dirigente Medico U.O.C. di Otorinolaringoiatria
Ospedale San Carlo, Roma
*Consultant Department of Otorhinolaryngology
San Carlo Hospital, Rome*

Moreschini Gabriele

Dirigente Medico U.O.C. di Otorinolaringoiatria
Ospedale San Carlo, Roma
*Consultant Department of Otorhinolaryngology
San Carlo Hospital, Rome*

Natale Maria Emanuela

Dirigente Medico Servizio di Istopatologia
Ospedale San Carlo, Roma
*Consultant Histopathologist
San Carlo Hospital, Rome*

Pagan Marco

Dirigente Medico Dipartimento Medicina Nucleare
Ospedale Cristo Re, Roma
*Consultant Nuclear Medicine Department
Cristo Re Hospital, Rome*

Percoco Gianluca

Dirigente Sistemi Informativi Ospedalieri e Controllo di Gestione
Ospedale San Carlo, Roma
*Information and Communication Technology, Health Economic,
Management Control, San Carlo Hospital, Rome*

Piludu Francesca

Dirigente Medico S.S.O. Neuroradiologia
Istituto Nazionale Tumori Regina Elena, Roma
*Consultant Neuroradiologist
National Cancer Institute Regina Elena, Rome*

Poli Tito

Dirigente Medico Unità di Chirurgia Maxillo Facciale, Dipartimento di
Scienze Biomediche, Biotecnologiche e Traslazionali (S.Bi.Bi.T.)
Università degli Studi di Parma
*Consultant Maxillo Facial Surgery, Department of Biomedical,
Biotechnological and Translational Science, University of Parma*

Rahimi Siavash

Dirigente Medico Dipartimento di Istopatologia
Queen Alexandra Hospital, Portsmouth UK
*Consultant Histopathologist
Queen Alexandra Hospital, Portsmouth UK*

Tartaglione Girolamo

Direttore Dipartimento Medicina Nucleare
Ospedale Cristo Re, Roma
*Director Nuclear Medicine Department
Cristo Re Hospital, Rome*

Tenna Stefania

Professore associato Dipartimento di Chirurgia Plastica
Università "Campus Biomedico", Roma
*Assistant Professor plastic Surgery Department
"Campus Biomedico" University Rome*

Vidiri Antonello

Responsabile S.S.O. Neuroradiologia
Istituto Nazionale Tumori Regina Elena, Roma
*Head of Neuroradiological Dept.
National Cancer Institute Regina Elena, Rome*

Vigliani Maurizio Giovanni

Direttore U.O.C. di Otorinolaringoiatria
Ospedale San Carlo, Roma
*Director of the Department of Otorhinolaryngology
San Carlo Hospital, Rome*

Villanova Irene

Dirigente Medico U.O.C. di Otorinolaringoiatria
Ospedale San Carlo, Roma
*Consultant Department of Otorhinolaryngology
San Carlo Hospital, Rome*

INDICE/INDEX

Introduzione	pag.	3
Introduction	»	4
Autori/Authors	»	5
Il razionale del linfonodo sentinella	»	11
The sentinel lymph node concept		
M.G. Vigili	»	15
L'imaging del collo N0	»	23
The imaging techniques in the evaluation of N0 neck		
A. Vidiri, F. Piludu, R. Kayal	»	31
Il ruolo della medicina nucleare nel lymphatic mapping per la biopsia del linfonodo sentinella nei tumori del cavo orale	»	47
The role of nuclear medicine in lymphatic mapping for sentinel node biopsy of oral cavity cancer		
G. Tartaglione, M. Pagan, V. Bernabucci	»	51
La chirurgia radioguidata del linfonodo sentinella nei carcinomi del cavo orale	»	59
Radioguided surgery of sentinel node biopsy in oral cavity tumours		
M.G. Vigili, M. Micozzi, A. Marzetti	»	67
L'esame istologico del linfonodo sentinella nei carcinomi del cavo orale	»	79
Histopathological examination of sentinel node in oral cavity squamous cell carcinoma		
C. Marani, M.E. Natale, S. Rahimi	»	87
La letteratura: risultati e problemi nella procedura del linfonodo sentinella nel carcinoma del cavo orale	»	99
The literature: results and problems in sentinel node procedure in oral cavity cancer		
C. Grandi	»	111

Il linfonodo sentinella nei carcinomi di altre sedi testa-collo »	129
<i>The sentinel lymph node in cancer of other head and neck sites</i>	
L. Barzan »	137
Il linfonodo sentinella nei carcinomi squamosi del labbro e della cute cervico facciale. »	149
<i>Sentinel node biopsy in lip and cutaneous head and neck cancer</i>	
M.G. Vigili, G. Moreschini, G.P. Di Marco, A. Caggiati, G. Tartaglione. »	155
Il linfonodo sentinella nei melanomi cervico facciali »	165
<i>Sentinel lymph node dissection for head and neck melanomas</i>	
A. Caggiati, S. Tenna. »	175
L'esperienza personale nella biopsia del linfonodo sentinella nei T1-T2 del cavo orale »	187
<i>Personal experience with sentinel node biopsy for T1-T2 N0 oral cavity squamous cell carcinoma</i>	
M.G. Vigili, A. Celebrini, B. Mafera, I. Villanova, G. Tartaglione, M. Pagan, C. Marani, M.E. Natale, S. Rahimi . . . »	195
La biopsia del linfonodo sentinella nel trattamento dei carcinomi squamosi del cavo orale: analisi dei costi mediante "Balance Economic Health Card" (BEHC) »	205
<i>Sentinel node biopsy in oral cavity squamous cell carcinoma: analysis of cost effectiveness using "Balance Economic Health Card" (BEHC)</i>	
G. D'Agnese, G. Percoco, M.G. Vigili »	215
Le nuove tecnologie nella biopsia del linfonodo sentinella: evoluzione verso il futuro »	229
<i>New technologies in sentinel node biopsy: evolution toward the future</i>	
T. Poli, D. Lanfranco »	237

IL RAZIONALE DEL LINFONODO SENTINELLA

M.G. Vigili

Il termine di linfonodo sentinella è stato utilizzato per la prima volta dall'urologo Ramon Cabanas nel 1977¹, suggerendo che i carcinomi squamosi del pene drenino inizialmente in uno specifico linfonodo della regione inguinale, definito da una precisa posizione anatomica. Verso la fine degli anni '80 Donald Morton ed il suo patologo Alistar J. Cochran enunciarono l'innovativo concetto di "**mappaggio linfatico mediante la biopsia del linfonodo sentinella**" nel melanoma. Essi sostenevano che il drenaggio linfatico di un melanoma si indirizzava direttamente ad uno specifico linfonodo, in una specifica stazione linfonodale, dipendente dalla sede della lesione primitiva, pur con una certa variabilità individuale. Tale linfonodo veniva definito sentinella, in quanto rivelatore dello stato di malattia dei linfonodi di drenaggio, in omaggio al concetto di disseminazione linfatica sequenziale. Nel 1992 Morton e coll.² per primi descrissero l'utilizzo dell'iniezione intradermica di un tracciante, l'isosulfan blu, per il mappaggio linfatico e la localizzazione del linfonodo sentinella in pazienti affetti da melanoma cutaneo senza linfonodi patologici o sospetti.

L'innovazione fondamentale dell'uso di un radionuclide quale tracciante si deve ad Alex e Krag³, che descrissero l'iniezione intradermica peritumorale di sulfo colloide marcato con 99mTc, seguita dallo studio linfoscintigrafico e dalla radiolocalizzazione chirurgica mediante un contatore gamma manuale per identificare il linfonodo sentinella in un caso di melanoma.

Il concetto di linfonodo sentinella da allora è stato studiato estesamente, validato da numerosi studi ed è oggi universalmente considerato procedura standard per il melanoma e per i tumori della mammella. Numerosi studi indicano che il carcinoma squamoso del cavo orale, come il melanoma, è caratterizzato da una progressione metastatica linfonodale regionale sequenziale e pertanto la metodica ha incontrato un ulteriore interessante campo di applicazione.

Il problema del collo N0

Nel corretto approccio verso una neoplasia squamosa del distretto cervico facciale, uno dei fattori decisionali fondamentali è costituito dal

determinare con sicurezza l'assenza o presenza di metastasi linfonodali, ai fini di stadiazione, di terapia e di prognosi. Se non ci sono dubbi sulla necessità di sottoporre il paziente a svuotamento latero cervicale in caso di adenopatia positiva o clinicamente sospetta, il dilemma rimane nei casi N0. L'atteggiamento predominante è di sottoporre comunque a svuotamento un paziente N0 se la probabilità di metastasi è superiore al 15-20%, sulla base dei tradizionali parametri di studio istopatologico del tumore primitivo. Questo approccio è supportato innanzitutto da studi retrospettivi che hanno dimostrato come, in caso di svuotamento, il tasso di recidive regionali e di metastasi a distanza si abbassi dal 33% al 12%⁴⁻⁵. Inoltre uno studio randomizzato⁶ ha dimostrato che in pazienti clinicamente N0 non sottoposti a svuotamento, ma solo seguiti in follow up, spesso la metastatizzazione avviene tardivamente ed in modo aggressivo, tanto che meno del 25% di essi poterono essere sottoposti a chirurgia di salvataggio. Esistono poi studi istopatologici che hanno dimostrato come anche linfonodi metastatici piccoli, non palpabili né sospetti all'imaging, potevano presentare una diffusione extracapsulare con invasione perineurale e linfovaskolare, tutti fattori prognosticamente negativi⁷⁻¹⁰.

È noto che la visualizzazione e valutazione clinica palpatoria intraoperatoria dei linfonodi non è predittiva, né i criteri morfologici o dimensionali dell'imaging (ecografia, TAC, RM PET/TAC, agoaspirato su guida ecografica) hanno una specificità elevata¹¹⁻¹⁴. Oltre 1/3 dei linfonodi metastatici in pazienti affetti da carcinoma del cavo orale hanno infatti dimensioni inferiori a 3 mm, che rappresenta un limite per la sensibilità delle metodiche radiologiche. La probabilità di documentare un coinvolgimento metastatico microscopico, con le tradizionali indagini clinico diagnostiche ed istologiche rimane molto approssimativo: le metastasi occulte continuano ad essere un problema. L'incidenza di rischio del 20-40% riportata in Letteratura deve essere messa a confronto con il dato altrettanto significativo di un 60-70% di svuotamenti inutili e gravati di morbidità, se tutti i casi di collo N0 venissero sottoposti a svuotamento profilattico^{14,15,20}.

La ricerca del Linfonodo Sentinella risulta interessante e significativa proprio in virtù della necessità di disporre di una metodica che permetta di identificare metastasi subcliniche.

Il concetto di Linfonodo sentinella si basa sulla progressione microembolica delle cellule tumorali nella via linfatica, con un drenaggio progressivo e sequenziale dal tumore primitivo alle varie stazioni della rete linfonodale. I linfonodi sentinella rappresentano quelli che per la loro posizione nella via linfatica di drenaggio, hanno la maggiore probabilità di essere colonizzati dalle metastasi occulte del singolo tumore.

Il lavoro originale di Morton definiva il linfonodo sentinella come **“il primo linfonodo nel quale drena il tumore primitivo”**, vale a dire il primo linfonodo situato sulla via di drenaggio linfatica diretta dal tumore (Fig. 1). Altri ricercatori successivamente hanno modificato questa definizione a seconda dei loro punti di vista. Taylor e coll.¹⁶ hanno definito il linfonodo sentinella come **“il linfonodo più vicino alla lesione primitiva”** (Fig. 2). Questa definizione anatomica non tiene però conto della fisiologia del drenaggio linfatico: il linfonodo più vicino al tumore è il primo ad essere coinvolto solo se è quello che riceve direttamente la linfa dalla sede di iniezione. Talvolta infatti la via di drenaggio non si dirige necessariamente per prima al linfonodo più vicino¹⁷.

Lo studio linfo-scintigrafico precoce, immediatamente dopo l'iniezione del tracciante, mostra il pattern di drenaggio di ogni singolo tumore, visualizzando la rete di canali linfatici e di linfonodi propri di ciascun soggetto. La radioattività scende e diminuisce progressivamente dai linfonodi cervicali più alti e le immagini scintigrafiche statiche tardive evidenziano più linfonodi contenenti il tracciante radioattivo. Alcuni Autori, prevalentemente in ambito medico nucleare, hanno definito il linfonodo sentinella come **“il primo linfonodo che appare visibile nelle immagini linfo-scintigrafiche”**. Sebbene questo sia realmente un linfonodo sentinella, tale definizione non tiene conto che possono essere presenti sulla via di drenaggio linfatico diretta, anche più di un singolo linfonodo¹⁷. La Scintigrafia dinamica e l'uso intraoperatorio del blu dye hanno reso più chiaro questo concetto. Talora esistono due canali linfatici che originano nella sede del tumore primitivo e raggiungono due differenti linfonodi, anche se uno può apparire evidente alla scintigrafia prima dell'altro (Fig. 3). Entrambi sono situati sulla via diretta di drenaggio linfatico dal tumore primitivo e le cellule metastatiche possono raggiungerli entrambi, per cui vanno ambedue considerati linfonodi sentinella.

Non è inusuale che alcuni chirurghi tendano a considerare **linfonodo sentinella il linfonodo più caldo** (= più radioattivo).

Come sopra indicato, ci può essere più di un linfonodo che riceve direttamente il drenaggio linfatico diretto dalla sede tumorale. Il linfonodo più caldo è spesso, ma non sempre, quello che riceve per primo la linfa dal tumore. Talora il tracciante passa da un linfonodo a quelli successivi. Un secondo linfonodo più grande o dotato di macrofagi più attivi può accumulare più radioattività rispetto al primo linfonodo più piccolo. La quantità di radio-tracciante accumulata in un linfonodo può dipendere, inoltre, da numerosi fattori, quali la posizione sulla via di drenaggio, il numero di afferenze linfatiche che raggiungono il linfonodo, le sue dimensioni, la forza del flusso linfatico, la distanza dalla gamma camera, direttamente correlata alla profondità del linfonodo nei tessuti cervicali.

Una delle ragioni per cui un linfonodo potenzialmente sentinella riceva poca linfa è l'ostruzione del flusso per l'infiltrazione metastatica¹⁸. In tal caso questo linfonodo non sarebbe in grado di ricevere e trattenere nessun tracciante. È un evenienza più teorica che reale, perché un linfonodo sostituito massivamente dal tessuto metastatico, risulterebbe clinicamente sospetto e rilevabile come tale allo studio ecografico che deve precedere la biopsia.

In conclusione l'ipotesi di Morton è corretta e la disseminazione attraverso la via linfatica avviene in modo sequenziale. Il linfonodo/i sentinella è/sono pertanto il/i primo/i ad essere colonizzato/i dalle cellule tumorali ed il suo/loro stato riflette lo stato dell'intera rete linfonodale¹⁹.

La biopsia del linfonodo sentinella è una metodica minimamente invasiva, praticata dopo l'iniezione di un marcatore radioattivo peritumorale e la linfo-scintigrafia. Questo permette al chirurgo di identificare in modo preciso, con l'avvallo di un probe intraoperatorio, e quindi di asportare quel linfonodo o quei linfonodi che raccolgono direttamente il drenaggio linfatico dalla sede del tumore. L'esame istopatologico multisliced accurato, arricchito dallo studio immunoistochimico e molecolare di questi linfonodi, indubbiamente più dettagliato rispetto alla procedura di esame convenzionale, è in grado di intercettare anche micro metastasi e cellule tumorali isolate. Questo permette una stadiazione migliore e potenzialmente di evitare l'overtreatment dello svuotamento nei casi che risultino negativi²⁰.

Indicazioni

La prima e più frequente indicazione alla biopsia del linfonodo sentinella è la stadiazione del collo omolaterale ad un tumore T1-T2 del cavo orale o dell'orofaringe clinicamente N0. Lo studio dei linfonodi deve prevedere un esame ecografico e/o TC/RM. Sono esclusi tutti i linfonodi di diametro superiore a 1.5 cm, con segni di colliquazione e assenza dell'ilo.

Una seconda indicazione riguarda la stadiazione bilaterale dei colli clinicamente negativi in caso di tumori del cavo orale/orofaringe mediani o in sede prossima alla linea mediana.

La terza indicazione riguarda la stadiazione del collo N0 controlaterale, in caso di tumore vicino alla linea mediana con metastasi linfonodali omolaterali. Lo stato del linfonodo sentinella indicherà se eseguire uno svuotamento bilaterale o solo monolaterale.

THE SENTINEL LYMPH NODE CONCEPT

M.G. Vigili

Historical background

The sentinel node (SLN) concept was first described by the urologist Ramon Cabanas in 1977¹. He suggested that squamous cell carcinoma of the penis initially drains to a particular lymph node in the groin that is defined by its constant anatomic position. In the late 1980s Donald Morton and his pathologist Alistar J. Cochran, proposed the innovative concept of “lymphatic mapping with sentinel node biopsy” for melanoma. They suggested that the node to receive direct drainage from a melanoma could be any one node in a particular lymph node field, depending on the location of the primary tumour and with certain individual variability. Because of the accepted concept of sequential lymphatic dissemination, this “sentinel node” was considered revealing of lymph nodes status. In 1992 Morton et al.² were the first to describe the use of intradermal iso-sulphan blue dye injection for lymphatic mapping and SLN localization in patients with clinically node negative malignant melanoma.

The crucial introduction of radionuclides as the injected tracer is attributed to Alex and Krag³, who described a peritumoral intradermal injection of radioactive tracer (99mTc sulphur colloid), followed by imaging and intra-operative gamma probe radiolocalization to identify sentinel nodes. The SLN concept has since been extensively studied and validated as the standard of care for patients with cutaneous melanoma and breast cancer. Many studies to date have indicated that oral cavity squamous cell carcinoma (OSCC), like melanoma, is characterized by an anatomical stepwise progression of regional lymphatic metastases and there has been an increasing interest in the application of the technique to this disease.

The problem of N0 neck

When approaching a case of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), one of the most crucial management decisions, for staging, treatment and prognosis, is determining the absence or presence of nodal metastasis. If there is no doubt that neck dissection of the draining

lymphatic basin is the current standard approach for clinically suspected or positive lymph nodes, for clinically N0 patients the dilemma remains. The predominant opinion is that a patient with a clinically N0 neck should have a neck dissection if the risk of occult metastasis is more than 15–20% on the basis of the traditional histopathological parameters of the primary tumour.

This approach is supported primarily by retrospective studies that have demonstrated that if a concomitant neck dissection is associated, the rate of regional recurrence and distant metastases is decreased from 33% to 12%⁴⁻⁵. Furthermore, one randomized study⁶ showed that patients with OSCC and a clinically N0 neck, who did not have concomitant neck dissection but only watch and see, often presented later with neck metastases and advanced disease. Salvage surgery was successful in less than 25% of these patients. In addition, pathologic studies have shown that even small lymph node metastases, which are neither palpable nor obvious on imaging studies, can have extracapsular spread, including perineural and lymphovascular invasion, and other poor prognostic indicators⁷⁻¹⁰.

Visualization and palpation of lymph nodes intraoperatively are unreliable predictors of nodal metastases by themselves. Morphological and size criteria are the main determinants of specificity of imaging techniques, including CT, MRI, PET/CT, US and also US-FNAB, whereas sensitivity is limited by the detection threshold¹¹⁻¹⁴. Up to 30% of nodal metastases in patients with OSCC are smaller than the 3 mm, which is the detection threshold that limits sensitivity of available imaging techniques, so that occult neck disease therefore remains a relevant issue.

For OSCC the probability of microscopic involvement of lymph nodes than can be estimated based on clinical findings and routine histopathology is at best an approximation. The reported 20-40% risk of occult metastases must be weighed against the morbidity of dissecting the majority of necks that are not truly involved. 60-70% of patients receive, in fact, unnecessary treatment, which in case of neck dissection encompasses a surgical procedure potentially causing disfigurement and associated morbidity^{14,15,20}.

The need for a better diagnostic technique to identify subclinical cervical metastases and to guide the treatment of these patients has led to the development of Sentinel Node Biopsy (SNB). The SLN concept states that the spread of a tumour is embolic in nature, via the lymphatics to the first echelon lymph nodes encountered in the regional draining basin. These represent the lymph nodes most likely to harbour occult metastases.

Morton's original definition of a sentinel node is "...the *initial lymph node upon which the primary tumor drains*". It means the sentinel node (first-tier node, first echelon node) is the lymph node on the direct drain-

age pathway from the primary tumour (Fig. 1). Some investigators have changed this and have come up with their own definitions. Taylor et al.¹⁶ define the sentinel node as *the lymph node closest to the primary lesion* (Fig. 2). This anatomical definition, however does not take into account the physiology of lymphatic drainage. The node closest to the primary is the first one to be involved only when it receives direct drainage from the injection site¹⁷. Sometimes the lymph from the primary tumour region does not necessarily travel to the nearest node.

Early lymphoscintigraphy, immediately after the injection of the tracer, shows the drainage pattern, visualizing lymphatic channels and nodes. The radioactivity is progressively cleared from lymph nodes and the late static images depict more lymph nodes containing the tracer. Some nuclear medicine investigators define the sentinel node as *the first lymph node that becomes visible on the lymphoscintigraphic images*. Although this is really a sentinel node, this definition does not take in account that more than a single sentinel node can be present¹⁷. Dynamic scintigraphy and intra operative blue dye mapping have made that clear. Sometimes there are two lymphatic channels originating in the region of the primary tumour which run into to two different lymph nodes (Fig. 3), even if one of the two may be depicted on the scintigraphic images before the other. Both nodes are on the direct drainage pathway and tumour cells can travel through either duct and go to either node so they both could be considered sentinel nodes.

Some surgeons tend to regard as *the sentinel node only the hottest node*¹⁸. As previously indicated, there can be more than one node to receive direct drainage from the tumour site. The hottest node is most often, but not always, the first to receive tumour cells. Some of the tracers pass through a sentinel node and move on to subsequent nodes. A large second echelon node, or one with more active macrophages may accumulate more radioactivity than a small first echelon node. The amount of traces accumulated by a node and its brightness at lymphoscintigraphy depends, in fact, on many different factors: the position in the drainage order, the number of lymphatic channels entering the node, the size of the node, the lymph flow rate, the distance from the gamma camera that is directly correlated with the depth of the node in the neck.

One of the reasons for a node to receive a sparse lymph supply is the obstruction of flow by metastatic disease¹⁹. A node may contain so many tumour cells that it does not take up any other tracer. Furthermore nodes containing a large amount of metastatic disease are likely to be clinically detected and identifiable on US.

In conclusion the Morton hypothesis is correct and the lymphatic dissemination generally occurs in a sequential fashion. The SLNs are indeed

the first nodes to be involved and their tumour status reflects the status of the entire lymph node field¹⁸.

SNB is a minimally invasive technique performed in conjunction with lymphoscintigraphy and a radiotracer injection. It allows the surgeon to identify and excise targeted upper echelon lymph nodes that drain the site of the primary malignancy for the pathological detection of what would otherwise be subclinical nodal metastases. Detailed histological, immunohistochemical and molecular examination of at least the first echelon (frequently the second and although rarely the third) lymph node basin for clinically occult metastases, may potentially avoid overtreatment of patients with OSCC who undergo elective neck dissection but who are subsequently declared pathologically N0. This procedure reduces neck dissection associated morbidity²⁰.

Indications

The first and most frequent indication for SNB is to stage the ipsilateral clinically node-negative neck in patients with a unilateral primary T1-T2 Oral cavity/ Oropharyngeal tumour.

A second indication is for assessment of bilateral clinically node negative necks in primary tumours close to, or crossing, the midline.

The third indication is for assessment of the contralateral clinically node-negative neck in primary tumours close to the midline with an ipsilateral clinically node-positive neck, in order to decide if these patients need bilateral neck dissections.

Immagini/Images

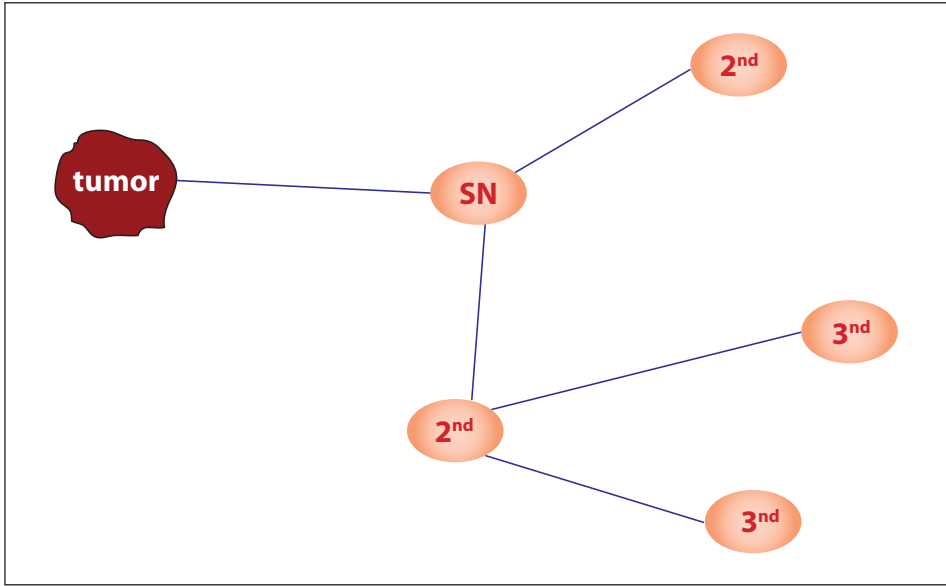


Fig. 1: Il LS è il linfonodo che riceve direttamente il drenaggio dal tumore primitivo. I linfonodi della seconda e terza stazione ricevono il drenaggio linfatico in una fase successiva (da O. Nieweg, Atlas of Lymphoscintigraphy and Sentinel Node Mapping. Springer Verlag Italia, 2013).

Fig. 1: The SN is the lymph node that receives direct drainage from the primary lesion. Second tier and third tier nodes receive drainage on a later phase (from O. Nieweg, Atlas of Lymphoscintigraphy and Sentinel Node Mapping. Springer Verlag Italia, 2013).

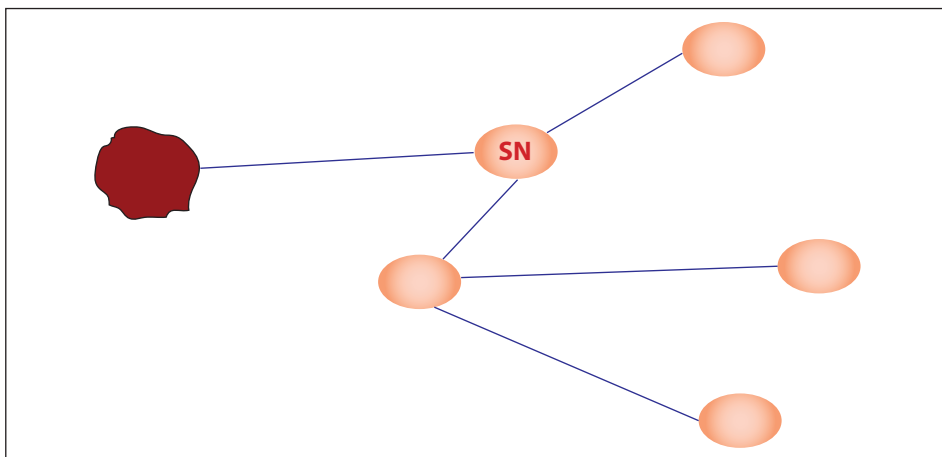


Fig. 2: La linfa dal tumore primitivo non drena necessariamente al linfonodo più vicino (da O. Nieweg, Atlas of Lymphoscintigraphy and Sentinel Node Mapping. Springer Verlag Italia, 2013).

Fig. 2: Lymph from the primary tumour region does not necessarily travel to the nearest node (from O. Nieweg, Atlas of Lymphoscintigraphy and Sentinel Node Mapping. Springer Verlag Italia, 2013).

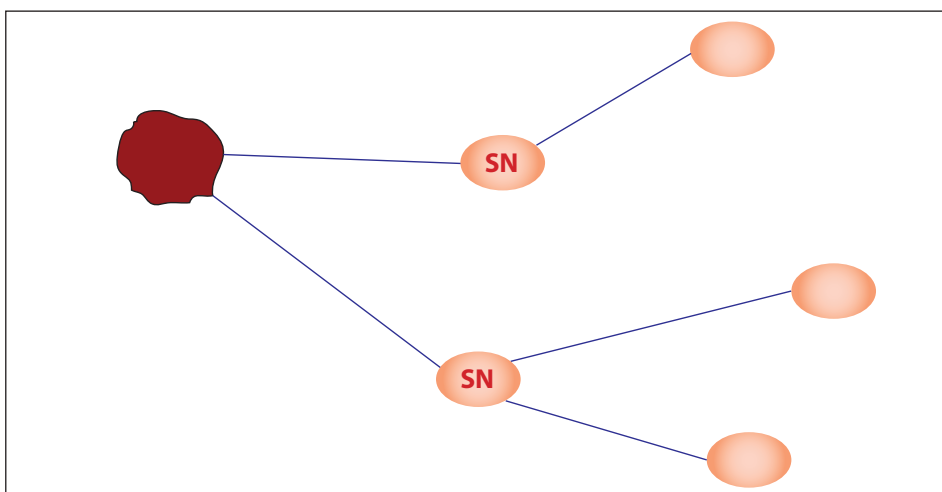


Fig. 3: Due vasi linfatici che originano del tumore drenano in due diversi linfonodi (da O. Nieweg, Atlas of Lymphoscintigraphy and Sentinel Node Mapping. Springer Verlag Italia, 2013).

Fig. 3: Two lymph vessels originating in the tumour drain into separate lymph nodes (from O. Nieweg, Atlas of Lymphoscintigraphy and Sentinel Node Mapping. Springer Verlag Italia, 2013).

Bibliografia/References

1. Cabanas RM. An approach for the treatment of penile cancer. *Cancer* 1977;39:456-66.
2. Morton DL, Wen D, Wong JH et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma *Arch Surg* 1992;127:392-9.
3. Alex JC, Krag DN. Gamma probe guided resection of radiolabeled primary lymph nodes. *Surg Oncol Clin North Am* 1996;5:33-41.
4. Clayman GL, Frank DK. Selective neck dissection of anatomically appropriate levels is as efficacious as modified radical neck dissection for elective treatment of the clinically negative neck in patients with squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1988;124:348-352.
5. Yuen APW, Wei WI, Wong YM, Tang KC. Elective neck dissection versus observation in the treatment of early oral tongue carcinoma. *Head Neck* 1997;19:583-588.
6. Kligerman J, Lima RA, Soares JR et al. Supraomohyoid neck dissection in the treatment of T1/T2 squamous cell carcinoma of oral cavity. *Am J Surg* 1994;168:391-394.
7. Braams JW, Pruijm J, Freling NJM et al. Detection of lymph node metastases of squamous cell cancer of the head and neck with FDG-PET and MRI. *J Nucl Med* 1995;36:211-216.
8. Alvi A, Johnson JT. Extracapsular spread in the clinically negative neck (N0): implications and outcome. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;114:65-70.
9. Mamelle G, Pampurik J, Luboinski B, Lancar R, Lusinchi A, Bosq J. Lymph node prognostic factors in head and neck squamous cell carcinomas. *Am J Surg* 1994; 168:494-498.
10. Rassekh CH, Johnson JT, Myers EN. Accuracy of intraoperative staging of the N0 neck in squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 1995;105:1334-1336.
11. Civantos FJ, Gomez C, Duque C, Pedroso F, et al. Sentinel node biopsy in oral cavity cancer. Correlation with Pet Scan and Immunohistochemistry. *Head & Neck* 2003; 125(1):1-9.
12. Broglie MA, Stoeckli SJ. Relevance of sentinel node procedure in head and neck squamous cell carcinoma. *Q J Nucl Mol Imaging* 2011;55:509-20.
13. Stoeckli SJ, Steinert H, Pfaltz M, Schmidt S. Is there a role for positron emission tomography with 18F-fluorodeoxyglucose in the initial staging of nodal negative oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma *Head Neck* 2002;24:345-9.
14. Stoeckli SJ, Alkureishi LW, Ross GL. Sentinel node biopsy for early oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009;266:787-93.
15. Giordano L, Sarandria D, Fabiano B, Del Carro U, Bussi M. Shoulder function after selective and superselective neck dissection: clinical and functional outcomes. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2012;32(6):376-9.
16. Taylor AT, Murray D, Herda S, Vansant J et al. Dynamic lymphoscintigraphy to identify the sentinel and satellite nodes. *Clin Nucl Med* 1996;21:755-8.
17. Nieweg OE, Tanis PJ, Kroon BBR. The definition of a sentinel node *Ann Surg Oncol* 2001;8:538-41.

18. Nieweg OE. The Sentinel Node Concept in Oncologic Surgery. In G. Mariani et al. Atlas of Lymphoscintigraphy and Sentinel Node Mapping. Springer Verlag Italia, 2013.
19. Nieweg OE, Estourgie SH. What is a sentinel node and what is a false negative sentinel node? *Ann Surg Oncol* 2004;11(3):169-73.
20. Civantos FJ, Stoeckli SJ, Takes SP, Woolgar GA, de Bree R, et al. What is the role of sentinel lymph node biopsy in the management of oral cancer in 2010. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2010;267:839-844.

L'IMAGING DEL COLLO N0

A. Vidiri, F. Piludu, R. Kayal

Introduzione

L'accurata definizione dello stadio linfonodale (N) è necessaria per determinare se il collo deve essere trattato sia ai fini della chirurgia (tipo di dissezione mono o bilaterale) sia per il trattamento radioterapico.

La Risonanza Magnetica (RM) e la Tomografia Computerizzata (TC) sono le tecniche di imaging che noi utilizziamo nel work-up dei carcinomi a cellule squamose (SCC) per valutare l'estensione sottomucosa; tali tecniche possono essere utilizzate simultaneamente nella valutazione dello stadio di N¹⁻³. L'ultrasonografia (US), con o senza ago aspirato (FNAC), può essere impiegata nello studio dei linfonodi⁴.

L'imaging è frequentemente impiegato per confermare lo stadio N0 clinico perché TC, RM, US sono più accurati che la semplice palpazione, ma non sufficientemente accurati da giustificare un cambio di strategia². Anche quando non vi è un evidente coinvolgimento linfonodale, la metastatizzazione occulta è una evenienza comune in molte neoplasie primitive del testa collo: 41% nei SCC del cavo orale, 36% nell'orofaringe, 29% nella sovraglottide e meno del 5% nei carcinomi della parotide, del seno mascellare ed in quelli glottici³.

Circa il 25% delle metastasi occulte sono micro metastasi, definite come depositi tumorali intranodali < 3 mm di diametro; le micro metastasi sono state trovate in circa il 25% degli svuotamenti del collo in pazienti con stadiazione clinica N0 e rappresentavano la sola manifestazione della malattia metastatica nell'8% di questi pazienti⁵. La frequenza definitiva di metastasi occulte dipende dal sito della neoplasia, dalla stadiazione del T, dallo spessore, dal tipo istologico e dal sito della lesione rispetto alla linea mediana.

Per evitare il trattamento inutile di colli istologicamente negativi, una tecnica di imaging dovrebbe essere sufficientemente sensibile, per ridurre il rischio di metastasi occulte a meno del 20%, il che significa un valore predittivo negativo (VPN) superiore a 80%.

Con lo sviluppo delle moderne tecniche di imaging, il Joint Committee on Cancer ha dichiarato che la stadiazione clinica dovrebbe includere un esame clinico, nonché i risultati dell'imaging. La ricerca è ora diretta a trovare un metodo di staging abbastanza sensibile per portare il rischio di metastasi occulte sotto al 20%⁵.

Le caratteristiche di imaging dei linfonodi patologici

Le caratteristiche principali per differenziare il linfonodo patologico da quello non-patologico sono:

- dimensioni;
- forma;
- necrosi;
- diffusione extracapsulare.

Le dimensioni sono ancora utilizzate di routine per discriminare i linfonodi metastatici da quelli normali, attraverso l'imaging multiplanare⁵. La sensibilità del segno può essere aumentata riducendo il cut-off dimensionale, ma a costo di una minore specificità e con l'aumento del tasso di falsi positivi. Ci sono stati numerosi tentativi per determinare la soglia dimensionale ottimale, anche se ampie variazioni nei criteri applicati e nella dimensione utilizzata (massima lunghezza, minima o massima dell'asse corto) rendono difficile trarre conclusioni definitive dalla letteratura.

Nella pratica clinica, la dimensione non è un elemento affidabile di malignità. Piccoli linfonodi possono avere piccole metastasi che non determinano un aumento dimensionale del linfonodo e, viceversa, i linfonodi benigni possono essere ingranditi a causa di una condizione di iperplasia o di flogosi.

I linfonodi inferiori a 1 cm possono ancora essere maligni e devono essere attentamente valutati per altre caratteristiche anomale, soprattutto se in sedi di drenaggio compatibili con il tumore primitivo. I criteri RECIST 1.1 riportano misure dei linfonodi relativi all'asse corto sulle immagini assiali^{3,5,6}. Linfonodi ≥ 15 mm sono considerati patologici come dimensioni e misurabili, e linfonodi tra 10-15 mm come asse corto sono riportati come patologici in sedi non target. I criteri possono variare in rapporto alle diverse sedi e con l'età del paziente. Linfonodi sottomandibolari e jugulodigastrici hanno una maggiore probabilità di iperplasia benigna rispetto ad altri gruppi linfonodali e, infine, i linfonodi possono normalmente essere più grandi e più numerosi nei pazienti più giovani.

Linfonodi di misura maggiore di 1,5 cm di diametro nei livelli I o II e superiore a 1,0 cm in tutti gli altri livelli sono considerati metastatici in circa l'80% dei casi; altri autori considerano patologici i linfonodi con un diametro superiore a 11 mm ai livelli I e II o 10 mm nelle altre sedi; con tali criteri si individua la malattia metastatica in circa il 75% dei casi. I linfonodi retrofaringei devono essere considerati separatamente: quelli che superano i 6-8 mm di diametro sono considerati metastatici soprattutto nei casi di neoplasie del rinofaringe^{2,5,6}.

Un linfonodo normale ha una forma reniforme e margini ben definiti e regolari. La metastasi può cambiare la forma del linfonodo in quanto, infiltrando il tessuto nodale, espande la capsula; pertanto i linfonodi a morfologia rotonda appaiono più sospetti di quelli a morfologia ovalare. La forma di solito è descritta in termini di rapporto tra i diametri massimi longitudinali e trasversali (rapporto L/T). I linfonodi normali sono in genere di forma ellittica con un rapporto $L/T > 2$, mentre i nodi metastatici tendono ad essere più rotondi. L'utilizzo di un rapporto $L/T < 2$ appare sospetto per metastasi; i linfonodi sia benigni che maligni sono stati correttamente identificati con una sensibilità del 95% in un lavoro di Steinkamp et al⁶.

La necrosi linfonodale è segno altamente specifico per le metastasi da SCC. La necrosi si verifica quando una lesione è troppo grande per il suo apporto ematico e può essere coagulativa, con linfonodo che diventa una massa omogenea eosinofila come risultato della coagulazione delle proteine denaturate o colliquativa quando le cellule vengono digerite dai loro enzimi lisosomiali risultante in un aspetto più cistico. I linfonodi necrotici sono spesso circondati da una stroma infiammatorio e possono risultare irregolari. La necrosi è spesso associata ad uno stadio evolutivo avanzato della malattia, espressione di un'estesa infiltrazione tumorale e raramente compare in linfonodi < 1 centimetro. Diversi studi hanno dimostrato tuttavia che la necrosi può essere presente in linfonodi sub-centimetrici²⁻⁶.

La diffusione extracapsulare (ECS) è comune, descritta nel 20-46% dei linfonodi metastatici da SCC. La sua presenza aumenta il rischio di recidiva locale di 10 volte e riduce significativamente la sopravvivenza rispetto ai pazienti che hanno malattie pN0 o PN + senza ECS⁷⁻⁸. La ECS in molti casi è una diagnosi istologica. I segni nell'imaging della diffusione extracapsulare sono rappresentati dai margini irregolari e dalla perdita dei piani adiposi con le strutture adiacenti. La diffusione extracapsulare è più frequente nei linfonodi più grandi ed è presente nella maggior parte di quelli con dimensioni > 3 cm; tuttavia, alcuni autori hanno descritto un numero significativo di pazienti con ECS in stadio precoce e anche pazienti con collo cN0. Coatesworth et al.⁸ ha riportato l'ECS nel 19%, in 63 pazienti clinicamente N0 in neoplasie SCC del tratto aerodigestivo superiore. Utilizzando come parametri i margini irregolari del linfonodo e l'infiltrazione del tessuto adiposo o muscolare la sensibilità e la specificità relativamente alla ECS varia dal 63% al 81% e dal 60% al 72% per la TC, fino al 77%-72% per la risonanza magnetica³.

Definire con esattezza il livello linfonodale, aiuta a migliorare l'accuratezza diagnostica nella stadiazione, soprattutto per quei linfonodi borderline, in quanto ogni sede linfonodale corrisponde ad un preciso dre-

naggio relativamente alla neoplasia primitiva; ciò rappresenta una guida per i radiologi in relazione ai probabili siti di metastasi e migliora il valore predittivo negativo per i linfonodi che non sono in rapporto con la sede di drenaggio del T.

Tecniche di imaging

L'**US** ha la più elevata risoluzione spaziale riguardante i tessuti molli ed è in grado di dimostrare dettagli strutturali subcentimetrici; si può eseguire un imaging multiplanare ed una valutazione del pattern vascolare con Power Doppler e in caso di dubbio può essere eseguito un agoaspirato⁴. La maggior parte dei normali linfonodi hanno un ilo ecogeno espressione delle interfacce tra i seni linfatici che convergono sulla componente midollare, ma né la presenza, né l'assenza dell'ilo è un indicatore affidabile dello stato linfonodale. Nel più grande studio, Yuasa et al.⁷ considerarono 458 linfonodi in pazienti con SCC e trovarono che l'ilo mancava nel 90% dei linfonodi metastatici. Tuttavia, l'ilo mancava anche nel 44% dei linfonodi benigni e pertanto tale segno non può essere considerato specifico, sebbene quando presente, può far classificare il nodo come benigno con alta probabilità, e possa essere sia patologico che non patologico quando assente (Fig. 1,2).

Il Power Doppler è la modalità di scelta per la valutazione del pattern vascolare (VP). Sei sono i VP principali descritti⁹:

- avascolarità;
- un pattern ilare dove i vasi si irradiano fuori dall'ilo dentro il linfonodo;
- distorsione vascolare per la presenza di una lesione intranodale focale;
- un pattern di vascolarizzazione caotica dentro il linfonodo;
- un pattern periferico dove i vasi entrano nel linfonodo attraverso la capsula per un fenomeno di neovascolarizzazione;
- un pattern misto dove i modelli descritti sono variamente combinati tra loro.

L'avascolarità non permette di discriminare le metastasi da linfonodi benigni nei pazienti affetti da SCC. In confronto gli altri modelli, quello ilare e quelli non-ilare appaiono altamente specifici per classificare i linfonodi, rispettivamente, benigni e metastatici.

Ci sono tuttavia delle limitazioni nella valutazione dei linfonodi con l'US:

- i linfonodi retrofaringei e paratracheali sono inaccessibili;
- la tecnica è operatore dipendente.

La **TC** è comunemente la modalità di imaging utilizzata per la valutazione del parametro T nei pazienti con neoplasie testa-collo SCC (HNSCC) ed è, quindi, utilizzata per la stadiazione linfonodale^{2,3,5,7}.

La TC con mdc è utilizzata per i suoi tempi di esame brevi, per la disponibilità, per l'elevata risoluzione spaziale, in particolare con gli scanner multi-detettore. Nel protocollo TC l'esame comprende un campo di vista dalla base del cranio fino alla carena tracheale con spessore dello strato di 0,6-1,25 mm con somministrazione da 90 a 120 ml di contrasto ad una velocità di 2 ml/s dopo un ritardo di 60-80 secondi circa.

La **RM**. Nonostante la risoluzione di contrasto superiore alla TC, la RM convenzionale ha aggiunto poco alla capacità di differenziare il linfonodo benigno da quello maligno nei pazienti con HNSCC^{1,3}.

Nel complesso, la maggior parte degli studi che hanno confrontato l'accuratezza della TC e RM nella valutazione del collo clinicamente N0 non hanno trovato alcuna differenza significativa tra le due modalità, con capacità dell'imaging di rilevare circa il 40%/60% delle metastasi occulte, con impossibilità di dimostrare le micrometastasi⁵.

Il campo di vista in RM nello studio del collo va generalmente dalla base del cranio alla fossa sopraclavicolare. Vengono utilizzate un minimo di 3 sequenze secondo diversi piani di acquisizione. Generalmente comprendono immagini coronali e assiali T1 pesate (T1WI), immagini T2 (T2WI) e con saturazione del grasso (FS) ed immagini post contrasto T1WI con FS su due piani. Lo spessore di strato varia da 3 a 4 mm.

L'intensità di segnale dei linfonodi metastatici non differisce in modo significativo da quella dei linfonodi normali sia in T1 pesate che T2. Anche la misurazione dei tempi di rilassamento T1 e T2 di un linfonodo metastatico e normale ha dimostrato una sostanziale sovrapposizione. Linfonodi reattivi hanno un'intensità di segnale omogeneamente bassa sulle immagini pesate in T1 ed elevata intensità di segnale sulle immagini T2.

Risultati promettenti sembrano offrire le sequenze in diffusione (DWIs), sia per contribuire ad individuare le metastasi linfonodali che distinguere tra linfonodi benigni e maligni¹⁰⁻¹¹.

Le DWIs sono sensibili al movimento di agitazione termica delle molecole d'acqua lungo l'orientamento dei gradienti di diffusione aggiuntivi applicati durante le sequenze di RM. Le DWIs possono fornire informazioni circa l'architettura cellulare su una scala molto piccola (decine di micrometri); il movimento delle molecole di acqua nei tessuti biologici è influenzato dalla presenza di membrane idrofobiche cellulari e strutture macromolecolari, nonché dalla tortuosità del compartimento extracellulare. Lo spostamento delle molecole di acqua durante l'intervallo di misurazione della diffusione causa un'attenuazione dell'ampiezza del

segnale, che, nella sua forma più semplice, può essere descritta tramite un decadimento mono-esponenziale. Il coefficiente di attenuazione del segnale, noto come il coefficiente di diffusione apparente (ADC), può essere derivato analiticamente dopo una rapida post-elaborazione delle sequenze DWIs. Il consenso generale sembra essere che ADC di linfonodi maligni sono significativamente inferiori a quelli dei linfonodi benigni. In un articolo di Vandecaveye e coll.¹¹ su 33 pazienti, la correlazione istopatologica è stata ottenuta per 301 linfonodi. Applicando valori di b di 0-1000 sec/mm² ed una soglia ADC $0,94 \times 10^{-3}$ mm²/sec, è stata ottenuta una sensibilità del 84%, una specificità del 94%, ed una accuratezza del 91% nella differenziazione tra linfonodi benigni/maligni, mentre la sensibilità era del 94% e la specificità del 97% per livello. Per la sensibilità in linfonodi più grandi di 1 cm, l'imaging DWIs non ha fornito un chiaro miglioramento rispetto alle sequenze morfologiche (94% per DWIs e 97% per l'imaging RM morfologico) (Fig. 4-7).

Il reale vantaggio delle sequenze DWIs nel dimostrare le metastasi linfonodali, rispetto ad altre tecniche di imaging, deve ancora essere tuttavia validato.

PET-CT: la tomografia ad emissione di positroni (PET) con fluoro-desossiglucosio F 18 (FDG-18) è stata utilizzata con successo nella valutazione dei SCC della testa e del collo relativamente alle lesioni mucose¹².

FDG, un analogo del glucosio, è un indicatore della attività metabolica del tumore; linfonodi patologici mostrano un uptake di tale tracciante più elevato rispetto ai linfonodi non-patologici. L'integrazione PET-CT ha migliorato l'accuratezza della PET anche nella interpretazione, utilizzando la correzione dell'attenuazione della TC ed con una analisi semi-quantitativa espressa come valore massimo di uptake standardizzato (SUV MAX), corretto per la radioattività iniettata ed il peso corporeo del paziente. In generale, le lesioni ipermetaboliche che presentano un SUV massimo > 2.5 sono considerate maligne (Fig. 4,5).

Nelle metastasi linfonodali la PET-CT ha il potenziale di rilevare piccoli depositi metastatici in linfonodi di dimensioni normali. Tuttavia, la PET e la PET-CT hanno dei limiti precisi. Anche se la risoluzione spaziale della tecnica è 4-5 mm, i depositi metastatici rilevabili sono generalmente da 8 a 10 mm, il che si traduce in una sensibilità inferiore per la PET-CT nella diagnosi di linfonodi inferiori a 10 mm. La necrosi può causare falsi negativi causa la bassa attività glicolitica del materiale necrotico. Falsi risultati negativi sono stati attribuiti alla presenza di metastasi microscopiche o dalla vicinanza di metastasi linfonodali al tumore primitivo che ne oscura il loro rilevamento. Risultati PET falsi-positivi possono invece essere causati da processi infiammatori ed infettivi nei linfonodi benigni.

Diversi studi hanno dimostrato elevata sensibilità e specificità per la PET-CT nella individuazione di metastasi linfonodali cervicali in HNSCC¹²⁻¹⁴. I risultati in letteratura variavano dal 84% al 92% per la sensibilità e dal 95% al 99% per la specificità^{13,14}. La PET-CT FDG, ha una maggiore sensibilità e specificità rispetto alla TC o all RM per il rilevamento di metastasi linfonodali nel carcinoma della testa e del collo¹². Gli studi hanno concluso che la PET-CT non è abbastanza precisa per il rilevamento della malattia linfonodale occulta. In uno studio condotto da Richard e coll.¹³ nel collo N0, il valore predittivo negativo (NPV) della PET-CT è stato dell'89% portando i ricercatori a concludere che, allo stato attuale, la PET-CT non può prevedere in modo affidabile la necessità della dissezione chirurgica del collo in pazienti N0.

In una recente metanalisi di pazienti N0, confrontando diverse modalità di imaging (TC, RM, US e PET), la conclusione è stata che le moderne tecniche di imaging offrono accuratezza diagnostica simile³.

Conclusioni

La stadiazione di N è una combinazione di esame clinico, imaging e patologia.

L'esame clinico del collo è molto impreciso e l'imaging, sia esso TC, RM, US, o PET-CT, ha l'obiettivo di migliorare la precisione, ma tutte le tecniche hanno dei limiti, in particolare nella rilevazione di piccoli linfonodi metastatici. Criteri quali la dimensione, la forma, la necrosi centrale, la diffusione extracapsulare, l'enhancement vascolare sono elementi che aiutano nel definire il coinvolgimento metastatico alla TC ed alla RM. Con l'ecotomografia, l'ecogenicità, le dimensioni, la morfologia, ed il pattern vascolare, possono aiutare a differenziare i linfonodi benigni da quelli maligni, ricorrendo alla FNAC per i casi indeterminati. La PET-CT può essere utile per la stadiazione di N e per la definizione di metastasi a distanza, soprattutto se eseguita con un esame CT morfologico con somministrazione di mezzo di contrasto.

THE IMAGING TECHNIQUES IN THE EVALUATION OF NO NECK

A. Vidiri, F. Piludu, R. Kayal

Introduction

An accurate definition of the N stage is mandatory to determine if the neck should be treated and to plan the extent of surgery (type of neck dissection, unilateral versus bilateral neck dissection) or the radiotherapy fields.

MRI and CT are the imaging techniques used in the work-up of squamous cell carcinomas (SCC) to evaluate the submucosal extent of the tumor and may be used to simultaneously evaluate the metastatic involvement of regional lymph nodes¹⁻³. Ultrasound (US) with or without FNAC and PET-CT may also be used in the evaluation of the neck nodes⁴.

Imaging is frequently obtained to confirm N0 disease because CT, MR and US are more accurate than palpation but are not accurate enough to justify a change of policy². Even with no evident nodal involvement, occult metastasis is common in some primary head-neck (HN) lesions, such as 41% in the oral cavity, 36% in the oral pharynx, 36% in the hypopharynx, 29% in supraglottic carcinomas and less than 5% in the parotid gland, maxillary sinus, and glottic carcinomas³.

About 25% of occult metastases are micrometastases, which are defined as intranodal deposits of tumour < 3mm in size; micrometastases were found in 25% of positive neck dissections from patients with clinically N0 HNSCC and were the only manifestation of metastatic disease in 8% of these patients⁵. The rate of occult metastases depends on tumor site, stage, thickness, pathology and tumor site resect to midline.

To avoid the unnecessary treatment of histologically negative necks, a staging technique must be sensitive enough to reduce the risk of occult metastases to less than 20%, which means a negative predictive value (NPV) of more than 80%.

With the development of modern imaging modalities, the American Joint Committee on Cancer has stated that clinical staging should include physical examination as well as the results of other imaging modalities. Research is now directed toward finding a staging method sensitive enough to bring the risk of occult metastases to below 20%⁵.

The imaging characteristics of pathologic nodes

The main features which differentiate the pathological from non-pathological nodes are:

- size;
- shape;
- necrosis;
- extra-capsular spread.

Size is still routinely used to discriminate metastatic nodes from normal through cross-sectional imaging⁵. Sensitivity can be increased by reducing the cut-off size, but at a cost of lower specificity and an increase in the false positive rate. There have been numerous attempts to determine the optimal size threshold, although wide variations in the criteria applied and in the nodal dimension measured (i.e. maximum long axis, minimum or maximum short axis) make it difficult to draw firm conclusions from the literature.

In clinical practice, size is not a reliable marker of malignancy. Small nodes can harbor small metastases that do not expand the node, and, conversely, benign nodes can commonly be enlarged due to hyperplasia or inflammation.

Nodes less than 1 cm in size can still be malignant and should be carefully evaluated for other abnormal features, particularly if in expected drainage sites of the primary tumor. RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors) 1.1 measures lymph nodes in the short axis on axial images^{3,5,6}. Nodes ≥ 15 mm are pathologically enlarged and measurable, and lymph nodes measuring 10-15 mm in short axis are reported as pathological non target sites. The criteria can vary for different nodal sites and patient age. Submandibular and jugulodigastric nodes are more likely to be affected by benign hyperplasia than other nodal groups, and lymph nodes can normally be larger and more numerous in younger patients.

Nodes measuring more than 1.5 cm in the largest diameter in levels I or II and more than 1.0 cm in all other levels are considered abnormal and harbor metastatic disease in approximately 80% of cases. Other investigators considered abnormal nodes with diameters exceeding 11 mm in levels I and II or 10 mm elsewhere. Nodes meeting these minimal diameter criteria harbor metastatic disease in approximately 75% of cases. Retropharyngeal nodes have been considered separately by some investigators, when the largest diameter exceeds 6 to 8 mm there is cause for concern about metastasis, particularly in the setting of nasopharyngeal tumors^{2,5,6}.

A normal lymph node has a reniform shape and smooth well-defined margins. Metastatic disease can change the shape of the node by infiltrating nodal tissue and expanding the nodal capsule. Thus, rounded rather than oval nodes are suspicious.

Shape is usually described in terms of the ratio between the maximum longitudinal and transverse diameters (L/T ratio). Normal lymph nodes are usually elliptical with an L/T ratio of > 2 , whereas metastatic nodes tend to be rounder. Using an L/T ratio of < 2 to predict metastases, both benign and malignant nodes were correctly identified with a sensitivity of 95% by Steinkamp *et al.*⁶

Lymph node necrosis is common and highly specific for HNSCC metastases. Necrosis occurs when a tumour mass outgrows its blood supply. In coagulative necrosis the node becomes a homogeneous eosinophilic mass as a result of the coagulation of denatured protein; in liquefaction necrosis the cells are digested by their own lysosomal enzymes resulting in a more cystic appearance. Necrotic nodes are often surrounded by an inflammatory stroma and may be matted. Necrosis was thought to occur relatively late in the evolution of disease, characteristically after extensive tumour infiltration and rarely in nodes < 1 cm. However, several studies have now demonstrated necrosis in sub-centimetre nodes²⁻⁶.

Extracapsular spread (ECS) is common, being reported in 20-46% of metastatic nodes from HNSCC. Its presence increases the risk of local recurrence ten fold and significantly decreases survival compared to patients who have pN0 or pN+ disease without ECS⁷⁻⁸. ECS is a histologic diagnosis in many cases. Imaging findings of extracapsular spread are irregular margins, fat stranding, and loss of fat planes with adjacent structures. Extracapsular spread is more likely in larger nodes. It is present in the majority of squamous cell carcinoma nodes > 3 cm, however, some authors described significant numbers of patients with early nodal stage and even patients with cN0 also had ECS. Coatesworth *et al.*⁸ found that ECS was present in 19% of the necks in 63 patients with the clinically N0 upper aerodigestive tract SCC. Imaging features such as blurring of nodal margins and soft tissue infiltration of adjacent fat or muscle produce sensitivities and specificities of only 63% to 81% and 60% to 72% for CT and up to 77% and 72% for MRI, respectively³.

Classifying the nodal site and considering the location also improve diagnostic accuracy for borderline abnormal nodes because each nodal site corresponds with first order drainage locations for specific ipsilateral primary tumors, guiding radiologists to carefully examine the likely sites of metastasis, and improves the negative predictive value for nodes not likely to be draining the tumor.

Imaging Techniques

US has the greatest soft tissue spatial resolution and can demonstrate sub-millimeter structural detail; multiplanar imaging and the assessment of vascular pattern with power Doppler are easy and if in doubt, fine needle aspiration can be performed⁴.

Most normal lymph nodes have an echogenic hilum caused by the interfaces between lymphatic sinuses as they converge on the medulla, but neither the presence nor absence of the hilum is a reliable indicator of nodal status. In the largest study, Yuasa et al.⁷ looked at 458 nodes in patients with N all HNSCC, and found the echogenic hilum was missing in 90% of the metastatic nodes. However, it was also missing in 44% of benign nodes and is therefore non-specific, i.e. when present, the node is highly likely to be benign, but when absent it could be either.

Power Doppler is the modality of choice for the assessment of vascular pattern (VP). Six main VPs are described⁹:

- avascularity;
- a hilar pattern where vessels radiate out from the hilum into the node;
- vascular displacement due to the presence of a focal intranodal lesion;
- a parenchymal pattern where vessels are distributed chaotically within the node;
- a peripheral pattern due to neovascularisation where vessels enter the node via the capsule away from the hilum;
- a mixed pattern in which elements from more than one pattern are combined.

Avascularity is not a good discriminator of metastatic versus benign nodes in HNSCC. By comparison hilar and non-hilar patterns appear highly specific for benign and metastatic nodes respectively.

There are pitfalls however in US evaluation:

- retropharyngeal and paratracheal nodes are inaccessible to US;
- the technique is operator dependent.

CT is commonly the imaging modality used for staging the primary site of HNSCC and is, therefore, used to stage the lymph nodes in the neck^{2,3,5,7}.

Contrast-enhanced CT is widely used because of its short examination times, ubiquitous availability, high spatial resolution with modern multi-detector scanner. The CT imaging protocol provides an examination from the skull base to the carina with a slice thickness of 0.6 to 1.25 mm and

contrast: 90 to 120 mL of contrast medium contrast rate of 2 mL/s after an approximately 60-80 second delay.

MR. Despite the superior contrast resolution of MR imaging over CT, conventional MR imaging has added little to the ability to differentiate benign from malignant lymph nodes in HNSCC^{1,3}.

Overall, most studies comparing the accuracy of CT and MRI in evaluating the important clinically negative (N0) neck have found no significant difference between the 2 modalities, with imaging detecting approximately 40% to 60% of occult metastases and micrometastases go largely undetected⁵.

When imaging the neck with MR, the skull base to at least the supraclavicular fossa should be imaged. A minimum of 3 sequences should be used with each in at least one plane. Recommended sequences include both coronal and axial T1-weighted images (T1WI), T2-weighted images (T2WI) with fat saturation (FS) and post contrasted T1WI with FS in both planes. A slice thickness of 3 to 4 mm should be used.

Signal intensity of metastatic nodes does not differ consistently from that of normal nodes on T1-weighted and T2-weighted images. Even the measurement of T1 and T2 relaxation times of metastatic and normal lymph nodes has demonstrated a substantial overlap. Most reactive lymph nodes have a homogeneously low signal intensity on T1-weighted images and high signal intensity on T2-weighted images.

Promising results with DW imaging to help detect cervical lymph node metastases and differentiate between benign and malignant enlarged nodes have been reported¹⁰⁻¹¹.

DWIs are sensitive to the thermally driven motion of water molecules along the orientation of additional diffusion-sensitizing gradients applied during MR sequences. DWIs may provide information about the cellular architecture on a very small scale (tens of micrometers); water motion in biological tissues being influenced by the presence of cellular hydrophobic membranes and macromolecular structures, as well as the tortuosity of the extracellular compartment. The displacement of the water molecules during the diffusion measurement interval will cause a signal amplitude attenuation which, in its simplest form, can be described through a mono-exponential decay. The signal attenuation coefficient, known as the apparent diffusion coefficient (ADC), can be analytically derived after a rapid post-processing of the DWIs. The general consensus appears to be that ADCs of malignant nodes are significantly lower than those of benign nodes. In an article of Vandecaveye and coll.¹¹ with 33 patients, histopathologic correlation was obtained for 301 lymph nodes. By applying b values of 0-1000 sec/mm² and an ADC threshold of 0.94×10^{-3} sec/mm²,

a sensitivity of 84%, a specificity of 94%, and an accuracy of 91% to differentiate benign from malignant have been reported on a node-by-node basis, whereas sensitivity was 94% and specificity and accuracy were 97% on a per-level basis. For sensitivity in lymph nodes larger than 1 cm, DW imaging did not provide a clear improvement over anatomic MR imaging (94% for DW and 97% for anatomic imaging).

But the benefit of DW imaging in the detection of nodal metastases, as compared with other imaging techniques, still has to be addressed.

PET-CT. Positron emission tomography (PET) using fluoro-deoxyglucose F 18 (FDG-18) has been successfully applied to the evaluation of mucosal HNSCC¹².

FDG, a glucose analog, is a marker of tumor viability reflecting that malignant lymph nodes have higher glucose use than normal nodes. Integrated PET-CT units have improved the accuracy of PET image interpretation, using attenuation correction from the CT imaging and semiquantitative analysis expressed as the maximum standardized uptake value (max-SUV), corrected for the injected radioactivity and patient body weight. In general, hypermetabolic lesions with strong focal uptake (max SUV 2.5) are considered malignant.

For highly hypermetabolic nodal metastases, PET-CT has the potential to detect small metastatic deposits in normal-sized nodes. However, PET and PET-CT have definite limitations. Although the spatial resolution of the technique is 4 to 5 mm, the smallest detectable lymph node metastatic deposits is generally 8 to 10 mm, translating into a lower sensitivity for PET-CT in the diagnosis of lymph nodes less than 10 mm. Nodal necrosis may cause false-negative findings on PET because of the low glycolytic activity of the necrotic material. False negative findings were attributed to the presence of microscopic metastases not detected by PET-CT, or by proximity of nodal metastases to the primary tumor obscuring their detection. False-positive PET results may be caused by inflammatory and infectious processes in benign lymph nodes.

Several studies have demonstrated high sensitivity and specificity for PET-CT in the detection of cervical lymph node metastases in HNSCC¹²⁻¹⁴. These ranged from 84% to 92% for sensitivity and from 95% to 99% for specificity^{13,14}. FDG-PET has a higher sensitivity and specificity than CT or MR imaging for detection of lymph node metastases in head and neck cancer¹². Clinical N0 disease still represents a dilemma for all imaging modalities. Studies have concluded that PET-CT is not accurate enough for detection of occult nodal disease. In a study by Richard and colleagues¹³ for clinically staged N0 neck, the negative predictive value (NPV) of PET-CT was 89% leading the investigators to conclude that, at

present, PET-CT cannot reliably predict the need for surgical neck dissection in patients with a clinically N0 neck.

In a recent metaanalysis in patients with clinically N0 neck, comparing different imaging modalities (CT, MR, US and PET) the conclusion was that all the modern imaging modalities offer similar diagnostic accuracy to define and diagnose cN0 neck³.

Conclusion

The final N stage is a combination of clinical examination, imaging, and pathology.

The physical examination of the neck is highly inaccurate. Imaging by CT, MR imaging, US, and PET-CT improve accuracy of staging but all have limitations, particularly in the detection of small metastatic lymph nodes harboring microscopic metastatic disease. Size criteria, nodal shape and clustering, central necrosis, and findings of ECS and vascular encasement are means of suggesting metastatic involvement on CT and MR imaging. US features, including echo-genicity, size, morphology, and pattern of Doppler flow, help differentiate the benign from malignant nodes, aided by UG-FNA for indeterminate cases. PET-CT can be useful for N staging and for detection of distant metastasis, particularly when performed with a diagnostic quality contrast enhanced-CT.

Immagini/Images

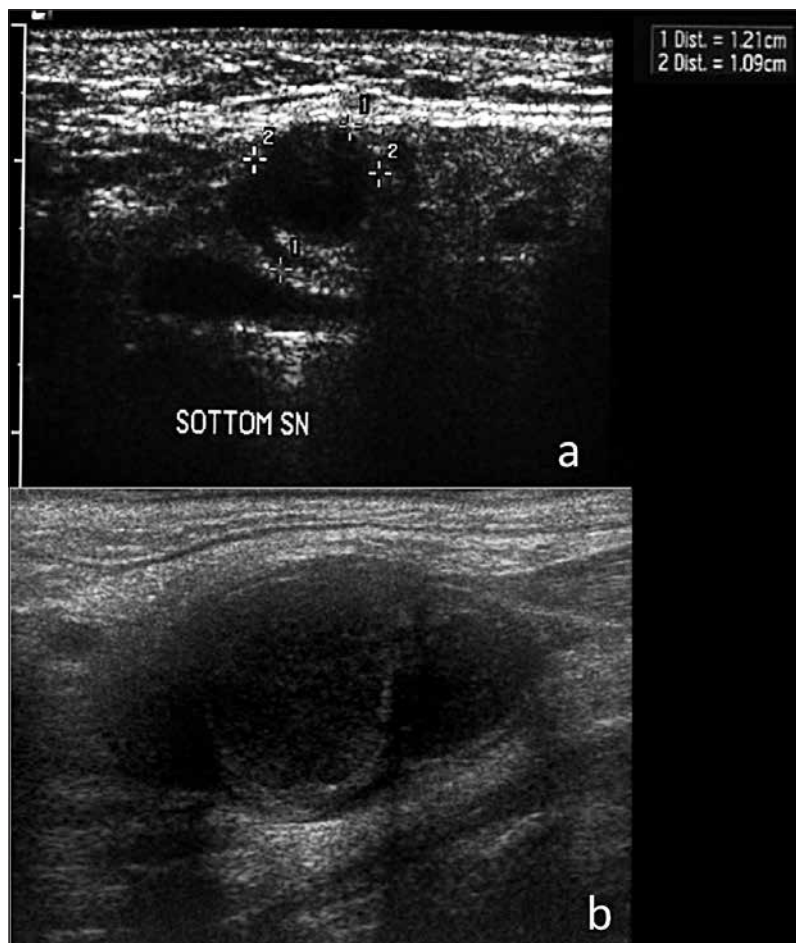


Fig. 1: Tipici reperti ecografici di linfonodi patologici. Millimetrico linfonodo sottomandibolare **(a)** che mostra la perdita della fisiologica iperecogenicità ilare e modificazione della normale morfologia da ovalare a sacciforme, elementi questi suggestivi di coinvolgimento neoplastico. Metastasi linfonodale della catena giugulo-carotidea superiore **(b)** contraddistinto da margini irregolari, perdita dell'iperecogenicità ilare con ecostruttura globalmente disomogenea per la presenza di componenti necrotiche.

Fig. 1: Peculiar findings of pathological lymph nodes on ultrasound examination. Left submandibular cervical millimetric lymph node **(a)** showing loss of central fatty hilum and round shape, suggestive of neoplastic involvement. Metastatic left upper cervical lymph node **(b)** showing sharp nodal borders, absence of echogenic hilum and mixed echotexture for necrosis.

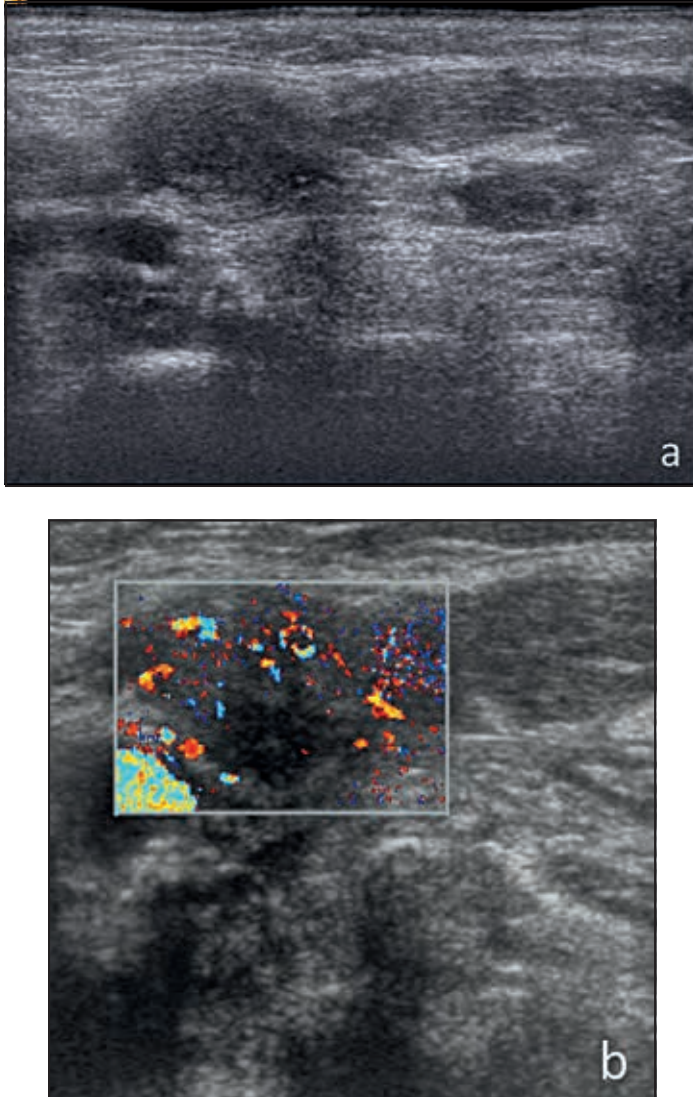


Fig. 2: Linfonodo laterocervicale della catena giugulo-carotidea superiore ad ecostruttura prevalentemente ipoecogena all'esame ecografico **(a)**. Il completamento Eco-Color-Doppler **(b)** ne conferma la natura patologica evidenziando la distorsione della normale architettura vasale, campionando echi vascolari all'interno e alla periferia del linfonodo (pattern vascolare centrale e periferico).

Fig. 2: Predominantly hypoechoic upper cervical lymph node on ultrasound **(a)**. Further Doppler ultrasonographic examination **(b)** shows distortion of internal nodal architecture with flow signals along the periphery and inside the lymph node (central and peripheral vascular pattern) suggestive of malignant infiltration.

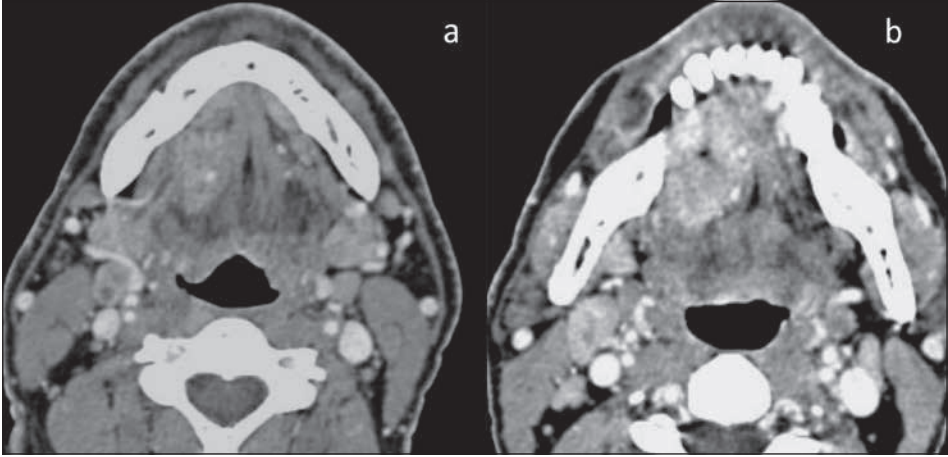


Fig. 3: Tessuto neoplastico infiltrante nel cavo orale di destra alle immagini assiali TC. Si riconosce **(a)** un millimetrico linfonodo della catena giugulo-carotidea superiore (livello IIa) caratterizzato da impregnazione contrastografica disomogenea per parcellare necrosi intranodale. Appena più caudalmente **(b)**, un altro piccolo linfonodo sempre della stazione IIa di destra aderisce al profilo anteriore del muscolo sternocleidomastoideo omolaterale.

Fig. 3: CT axial images show neoplastic infiltrative tissue in the right oral cavity. We recognize **(a)** a millimeter right cranial jugular node (level IIa) with inhomogeneous contrast enhancement for parcellar intranodal necrosis. Just more caudal **(b)**, another right node of level IIa, adherent to anterior bound of the homolateral sternocleidomastoid muscle.

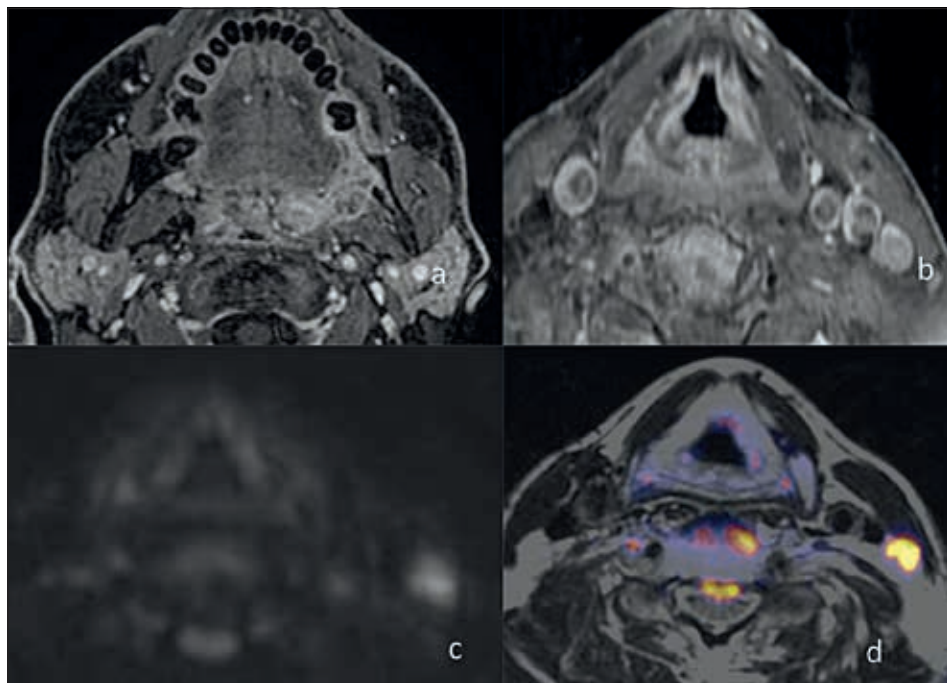


Fig. 4: Nelle immagini assiali T1-dipendenti dopo mdc **(a)** si riconosce la presenza di tessuto infiltrante tumorale ad epicentro nella regione del trigono retromolare di sinistra. Più caudalmente **(b)** dallo stesso lato, si individua inoltre la presenza di un linfonodo subcentimetrico della catena giugulo carotidea inferiore sinistra (livello IVa) contraddistinto da bassi valori di diffusività protonica alle mappe ADC ($<1.0 \times 10^{-3} \text{ sec/mm}^2$) **(c)** e elevato SUV_{max} nelle immagini PET/RM T2 pesate **(d)**. Tali reperti suggeriscono la natura metastatica linfonodale.

Fig. 4: Transverse post-contrast T1 weighted images **(a)** show infiltrative tumour of the left retromolar trigone. More caudal **(b)** we identify a subcentimeter node of the left lower jugular group (IVa level), with low ADC ($<1.0 \times 10^{-3} \text{ sec/mm}^2$) measured on diffusion weighted images **(c)** and high SUV_{max} on PET/T2 weighted MR images **(d)**. These findings are suggestive of lymphatic malignancy.

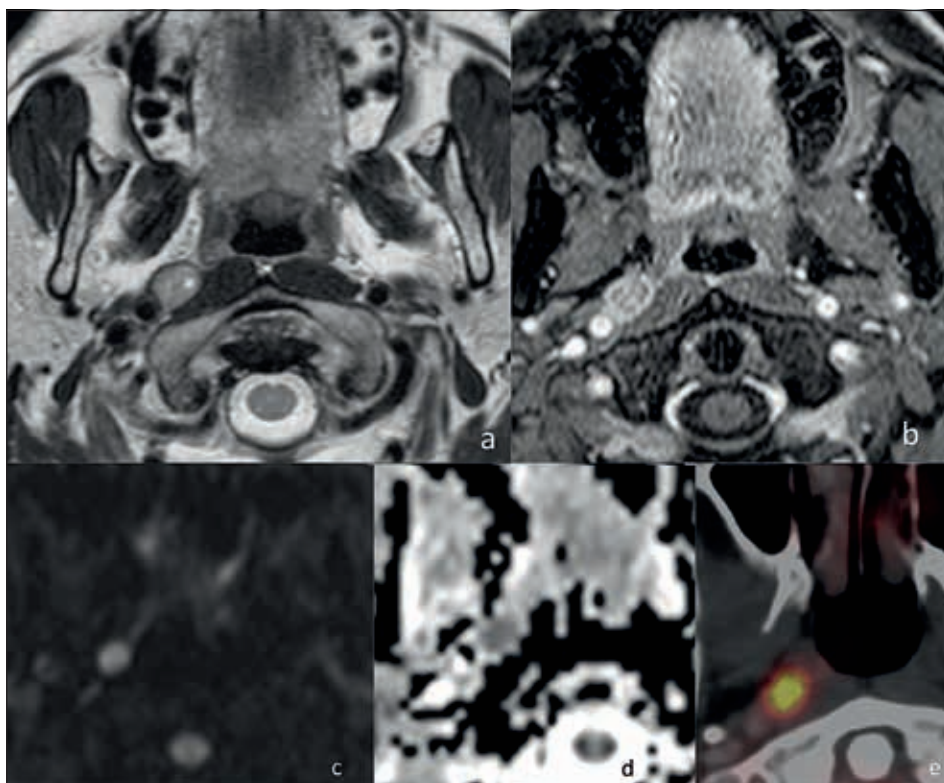


Fig. 5: Nelle immagini assiali T2 dipendenti **(a)** e T1 dipendenti dopo somministrazione di mdc **(b)** si riconosce chiaramente la presenza di un piccolo linfonodo retrolaterofaringeo a destra. All'iperintensità del piccolo linfonodo delle immagini DWI **(c)** corrispondono i bassi valori di diffusività protonica alle mappe ADC pari a $0.9 \times 10^{-3} \text{ sec/mm}^2$ **(d)**. Lo studio PET TC conferma sì la presenza di un'area di ipercaptazione di FDG genericamente nella regione latero-rinofaringea di destra, ma con una evidente perdita del dettaglio anatomico (impossibile con il solo studio PET TC dire se si tratta di un'ipercaptazione da tumore primitivo o da metastasi linfonodale).

Fig. 5: Axial T2 weighted image **(a)** and post-contrast T1 weighted image **(b)** clearly demonstrate the presence of a right millimeter lateral retropharyngeal node. Nodal hyperintensity on diffusion weighted image **(c)** corresponds to low ADC value of $0.9 \times 10^{-3} \text{ sec/mm}^2$ **(d)**. Although axial PET CT scans **(e)** confirm the presence of a small area of abnormal FDG uptake at the right lateral rhinopharyngeal site. The loss of fine anatomical detail (primary tumour or metastatic cervical node?) is evident.

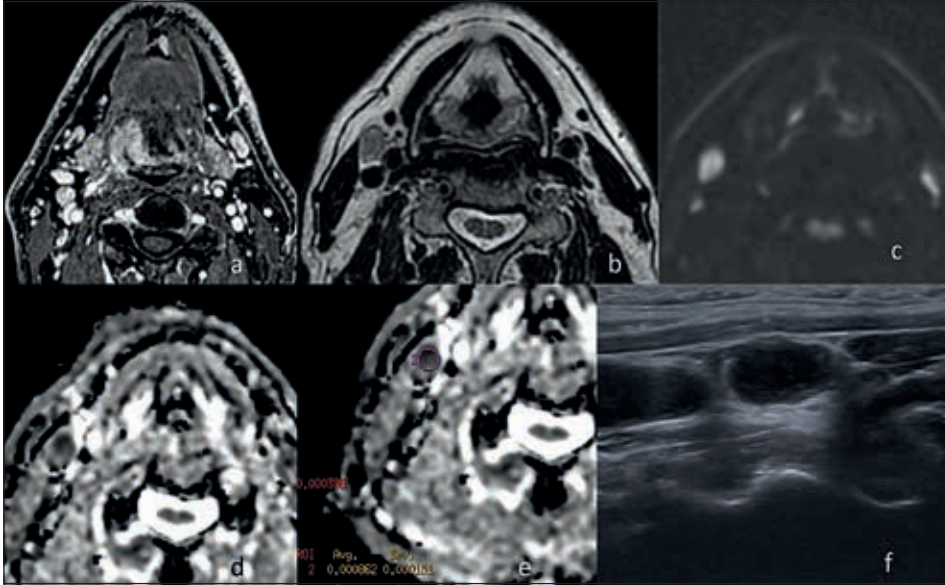


Fig. 6: Le immagini assiali T1 dipendenti dopo contrasto (**a**) evidenziano la presenza di un tumore infiltrante in sede orofaringea destra (sottosede solco amigdaloglosso). Più caudalmente, come si evince dall'immagine assiale T2 dipendente (**b**) si osserva la presenza di un millimetrico linfonodo della catena giugulo carotidea superiore (livello IIa) con bassi valori di ADC ($<1.0 \times 10^{-3} \text{ sec/mm}^2$) all'imaging di diffusione (**c,d,e**). Il sospetto di una metastasi linfonodale trova conferma dall'esame ecografico (**f**) che in tale sede dimostra la presenza di un linfonodo prevalentemente ipoecogeno che ha perso la normale iperecogenicità ilare.

Fig. 6: Transverse post-contrast T1 image (**a**) shows gross primary tumour in the oropharynx (right amigdalo-glossus sulcus). More caudally, as evident on axial T2 weighted image (**b**) there is a subcentimeter node of the homolateral upper jugular group (IIa level), with low ADC ($<1.0 \times 10^{-3} \text{ sec/mm}^2$) measured on diffusion weighted images (**c,d,e**). The suspicion of a lymphatic metastasis is confirmed by ultrasound (**f**) that demonstrates the presence of a predominantly hypoechoic lymph node showing an absence of echogenic hilum.

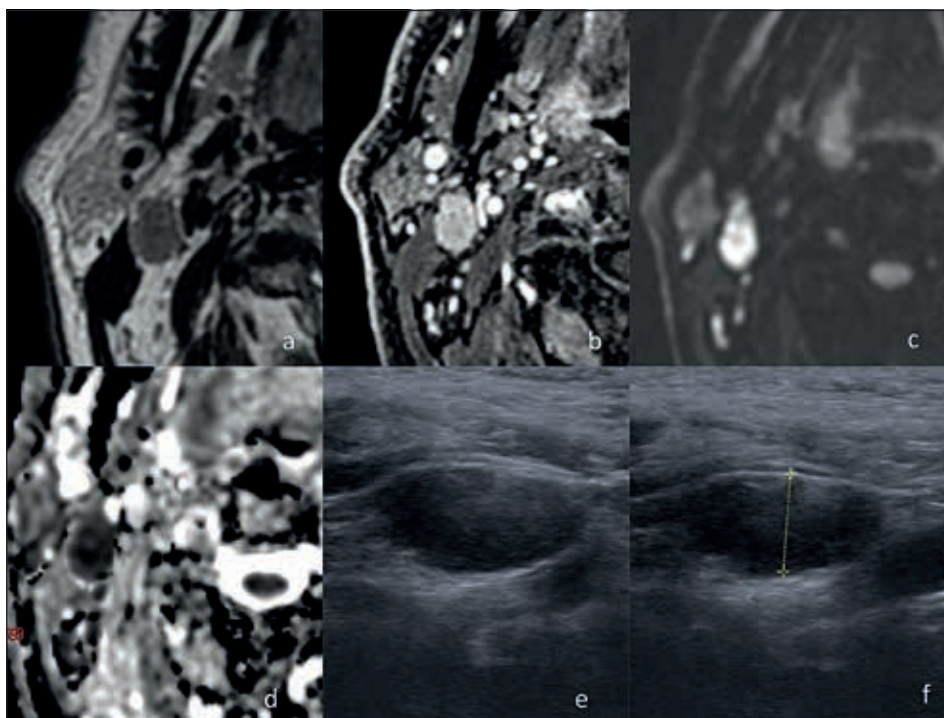


Fig. 7: Carcinoma squamoso della emibase lingua destra con linfonodo omolaterale della catena giugulo-carotidea omolaterale (livello IIa) alle immagini assiali T2 pesate **(a)** e T1 pesate dopo somministrazione di gadolinio **(b)**. Sia il tumore primitivo che il linfonodo laterocervicale sospetto sono contraddistinti da diffusività protonica ristretta **(c)** con analoghi bassi valori ADC $< 1.0 \times 10^{-3} \text{ sec/mm}^2$ **(d)**. Successivamente il completamento ecografico **(e-f)** ne confermerà la natura patologica rilevando i tipici reperti suggestivi di malignità (margini sfumati, perdita dell'iperecogenicità ilare e ecostruttura complessivamente disomogenea).

Fig. 7: Squamous carcinoma of right base of tongue with right cranial jugular node (IIa level) on transverse T2 weighted image **(a)** and post-contrast T1 weighted image **(b)**. Both primary tumour and suspect laterocervical node showed diffusion restriction **(c)** with same low values on ADC maps $< 1.0 \times 10^{-3} \text{ sec/mm}^2$ **(d)**. Further ultrasound examination **(e-f)** confirmed typical findings for lymphatic malignancy (sharp nodal borders, absence of echogenic hilum and mixed echotexture).

Bibliografia/References

1. King AD, Tse GM, Ahuja AT, et al. Necrosis in metastatic neck nodes: diagnostic accuracy of CT, MR imaging, and US. *Radiology* 2004;230:720-6.
2. van den Brekel MW, Stel HV, Castelijns JA, et al. Cervical lymph node metastasis: assessment of radiologic criteria. *Radiology* 1990;177(2):379-84.
3. Li-Jen Liao, Wu-Chia Lo, Wan-LunHsu et al. Detection of cervical lymph node metastasis in Head and neck cancer patients with clinically N0 neck – a meta-analysis comparing different Imaging modalities. *BMC Cancer* 2012,12:236.
4. Hodder SC, Evans RM, Patton DW, Silvester KC: Ultrasound and fine needle aspiration cytology in the staging of neck lymph nodes in oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2000,38:430-436.
5. Castelijns JA, van den Brekel MW. Detection of lymph node metastases in the neck: radiologic criteria. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001;22(1):3-4.
6. Steinkamp HJ, Cornehl M, Hosten N, Pegios W, Vogl T, Felix R. Cervical lymphadenopathy: ratio of long- to short-axis diameter as a predictor of malignancy. *Br J Radiol* 1995;68:266-70.
7. Yuasa K, Kawazu T, Nagata T, Kanda S, Ohishi M, Shirasuna K. Computed tomography and ultrasonography of metastatic cervical lymph nodes in oral squamous cell carcinoma. *Dentomaxillofac Radiol* 2000;29:238-44.
8. Coatesworth AP, MacLennan K. Squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: the prevalence of microscopic extracapsular spread and soft tissue deposits in the clinically N0 neck. *Head Neck*. 2002 Mar;24(3):258-61.
9. Arijji Y, Kimura Y, Hayashi N, et al. Power Doppler sonography of cervical lymph nodes in patients with head and neck cancer. *AJNR Am J Neuroradiol* 1998;19(2):303-7.
10. de Bondt RB, Hoerberigs MC, Nelemans PJ, et al. Diagnostic accuracy and additional value of diffusion weighted imaging for discrimination of malignant cervical lymph nodes in head and neck squamous cell carcinoma. *Neuroradiology* 2009;51(3):183-92.
11. Vandecaveye V, De Keyzer F, Vander Poorten V, et al. Head and neck squamous cell carcinoma: value of diffusion-weighted MR imaging for nodal staging. *Radiology* 2009;251(1):134-146.
12. Schoder H, Carlson DL, Kraus DH, et al. 18F-FDG PET/CT for detecting nodal metastases in patients with oral cancer staged N0 by clinical examination and CT/MRI. *J Nucl Med* 2006;47(5):755-62.
13. Richard C, Prevot N, Timoshenko AP, et al. Preoperative combined 18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography and computed tomography imaging in head and neck cancer: does it really improve initial N staging? *Acta Otolaryngol* 2010; 130(12):1421-4.
14. Kyzas PA, Evangelou E, Denaxa-Kyza D, Ioannidis JP. 18 Ffluorodeoxyglucose positron emission tomography to evaluate cervical node metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2008, 100:712-720.

**IL RUOLO DELLA MEDICINA NUCLEARE
NEL LYMPHATIC MAPPING PER LA BIOPSIA
DEL LINFONODO SENTINELLA NEI TUMORI DEL CAVO ORALE**

G. Tartaglione, M. Pagan, V. Bernabucci

La biopsia del Linfonodo Sentinella è un approccio multidisciplinare per la stadiazione dei linfonodi nei tumori.

Il lymphatic mapping nel cancro ha avuto inizio negli anni '50. I primi studi eseguiti dopo iniezione sottocutanea di Au198 colloidale apparvero promettenti, ma la dose di radiazioni rilasciata nel punto di iniezione (100 rad) fu considerata eccessivamente alta.

Negli anni 60-70 si sviluppò il concetto basato sull'identificazione di un linfonodo che fosse indicatore dello stato dei linfonodi loco regionali.

Nel 1977, Cabanas per primo usò il termine di Linfonodo Sentinella per indicare questo linfonodo nei pazienti con cancro del pene¹.

Alla fine degli anni '80, Donald Morton propose il concetto innovativo di lymphatic mapping con biopsia del linfonodo sentinella usando il Blue dye². La tecnica del Blue dye richiede una iniezione durante l'intervento chirurgico di un colorante patent blue in sede peritumorale. Il Blue passa lungo i vasi linfatici che drenano il tumore. Dieci minuti dopo l'iniezione il chirurgo esegue un'incisione ed una dissezione lungo la traccia del colorante. Il primo linfonodo che diventa blu (il linfonodo sentinella) è quello che con maggiori probabilità contiene eventuali cellule metastatiche provenienti dal tumore e dirette verso quel bacino linfatico. La tecnica con blue dye richiede il sollevamento di un lembo cutaneo e la rimozione di tutti i linfonodi blu.

Questo approccio ha però dimostrato una bassa efficienza nei tumori di testa e collo, perché il Blue attraversa i vasi linfatici troppo rapidamente e si accumula in linfonodi di seconda o terza schiera, rendendo difficoltosa l'identificazione del primo linfonodo sentinella.

Sin dagli anni 90, alcuni autori stimolarono le ricerche di nuove procedure medico nucleari con Tc99m solfo colloidale per identificare il pattern del drenaggio linfatico dei melanomi cutanei.

Nel 1993 Alex e Krag descrissero una tecnica di localizzazione radioguidata non invasiva, basata sull'impiego di una sonda probe (una specie di contatore Geiger adattato per l'uso intraoperatorio) per la chirurgia radioguidata del linfonodo sentinella, dopo iniezione perilesionale di radio colloidali³.

Questo metodo ha il vantaggio di poter localizzare sulla superficie cutanea la posizione del linfonodo sottostante, consentendo al chirurgo la rimozione attraverso una piccola incisione.

Nel 1996 Alex descrisse la rimozione di un linfonodo sentinella in un carcinoma squamoso del primo tratto aerodigestivo, mediante radiolocalizzazione⁴.

Dopo l'intubazione eseguì un'iniezione nella sottomucosa di solfo colloide Tc99m filtrato. Trascorsi circa 30 minuti individuò sulla pelle delle aree focali di ipercaptazione, ed usando il probe in corso di intervento rimosse i linfonodi radioattivi identificati come sentinella.

Alcuni autori definiscono linfonodi sentinella tutti i linfonodi radiocaptanti (o "caldi") che hanno un conteggio superiore al 10% del linfonodo con più alta radioattività.

Il probe è in grado di misurare la radioattività proveniente da una piccola area circostante, in conteggi per secondo. La sua sensibilità è minore rispetto ad una gamma camera e di conseguenza, quando il segnale radioattivo è scarso, l'identificazione del linfonodo sentinella risulta difficoltosa. Usando simultaneamente il Blue ed il Radio-tracciante, i linfonodi sentinella risultano "Blue e Caldi"⁵, tuttavia è controverso il management dei linfonodi solo blu o solo radioattivi.

L'imaging con gamma camera gioca un ruolo importante nel lymphatic mapping dei tumori del cavo orale. La gamma camera ha il vantaggio di studiare in contemporanea l'intero collo, comprendendo nel suo campo di vista più bacini linfatici per un tempo che può essere prolungato fino alla completa visualizzazione dei bacini linfatici interessati⁶⁻⁹.

Diversi fattori influenzano la qualità dell'imaging con gamma camera.

La dimensione delle radio particelle è considerata importante, in quanto le particelle più piccole migrano più velocemente attraverso i linfatici.

Eccellenti risultati sono stati ottenuti in Europa con i nanocolloidi di albumina umana (nanocoll-Tc99m). I nanocolloidi hanno una dimensioni ideale <80 micron e sono fagocitati dai macrofagi contenuti nei linfonodi, rimanendovi intrappolati.

Nel 2013, un nuovo radiofarmaco che ha le caratteristiche di tracciante recettoriale, è stato approvato dalla FDA il tilmanocept-Tc99m per l'impiego in linfoscintigrafia. Questa molecola ha una dimensione di 7 micron ed ha un legame selettivo per i recettori del mannosio (CD206) localizzati sulla superficie dei macrofagi e delle cellule dendritiche contenute nei linfonodi¹⁰.

La tecnica di iniezione ha un grosso impatto sui tempi e sulla qualità dell'imaging nel lymphatic mapping.

I primi studi di ricerca del linfonodo sentinella erano basati sull'iniezione intratumorale e profonda dei radio colloidali, ma studi più recenti consigliano tecniche di iniezione superficiale.

Noi consigliamo 4 iniezioni superficiali perilesionali, perché nello stroma sub epiteliale vi è un'alta concentrazione di capillari linfatici, che offrono una larga superficie di assorbimento ed un più rapido drenaggio linfatico del tracciante, con una migliore identificazione del linfonodo sentinella in tempi rapidi. Normalmente, se la tecnica di iniezione è corretta, il bacino linfatico può essere identificato in meno di 5 minuti¹¹.

Non necessitano particolari preparazioni per la procedura. Nei tumori del cavo orale, dopo anestesia locale con lidocaina spray 10%, si iniettano dosi di 50-80 MBq, disciolte in piccoli volumi (0,4 mL) di soluzione fisiologica.

La posizione del paziente alla scintigrafia rispecchia quella della sala operatoria. L'acquisizione scintigrafica inizia immediatamente dopo l'iniezione del tracciante.

Noi consigliamo di utilizzare un collimatore LEAP per aumentare la sensibilità della gamma camera. Immagini dinamiche (frames 30", 128x128, in anteriore/laterale) possono essere acquisite nei primi 5-20 minuti dopo l'iniezione¹².

Un'acquisizione scintigrafica Dinamica preoperatoria con gamma camera consente la visualizzazione delle vie di drenaggio linfatico, consentendo di distinguere i linfonodi sentinella che ricevono la linfa direttamente dal tumore, dai linfonodi di seconda schiera che ricevono la linfa da altri linfonodi.

Quando il linfonodo sentinella è visibile si interrompe l'acquisizione dinamica e si acquisiscono immagini statiche (256x256, 5 mins, ant/lat, zoom x1.5) per marcare sulla pelle le aree corrispondenti ai linfonodi evidenziati. La linfo-scintigrafia planare (dinamica e statica) ha diversi vantaggi:

1. visualizza le vie di drenaggio linfatico, che spesso sono diverse dai modelli anatomici classici (Linee di Sappey) (Fig. 1);
2. dimostra quali sono i bacini linfatici potenziali sedi di metastasi;
3. determina il numero e la sede dei Linfonodi sentinella;
4. serve a marcare sulla pelle le aree corrispondenti ai Linfonodi sentinella;
5. serve a distinguere i primi linfonodi sentinella dai linfonodi di seconda e terza schiera (Fig. 2).

L'acquisizione SPECT (128x128, collimatore LEHR, 180°x2, L mode, angolo di 3°, 20"-30" per proiezione) consente invece una migliore localizzazione anatomica del SN identificato alla linfo-scintigrafia planare.

Un più accurato studio è richiesto per evidenziare i Linfonodi Sentinella situati nei livelli del collo più vicini alla sede tumorale. La SPECT/CT consente di stimare con maggiore dettaglio la sede anatomica e la profondità del linfonodo.

In alcuni casi la SPECT/CT visualizza un maggior numero di linfonodi radioattivi in sedi distanti del collo (linfonodi di seconda e terza schiera), determinando una dissezione più estesa del collo, in assenza di un beneficio diagnostico per il paziente¹³.

Un altro importante fattore da considerare è la scelta di un intervallo breve tra la scintigrafia e la chirurgia radioguidata. Infatti con il passare delle ore aumenta la radioattività nei linfonodi di seconda e terza schiera, si espande il tracciante nella sede d'iniezione aumentando il segnale di fondo e rendendo difficoltosa l'individuazione dei linfonodi del primo livello del collo.

Per queste ragioni noi consigliamo un protocollo in giornata singola, con un breve intervallo tra l'iniezione del tracciante e la chirurgia¹⁴. Così si ottiene una migliore corrispondenza tra l'imaging preoperatorio e la chirurgia radioguidata, un più alto count rate al momento dell'intervento e si facilita la dissezione dei linfonodi piccoli o profondi.

Nuove tecnologie come la 3D navigation, che consentono un imaging SPECT in sala operatoria, possono aiutare il chirurgo nell'identificazione intraoperatoria di linfonodi¹⁵.

Il ruolo della Indocyanine green fluorescenza è ancora da definire. Tuttavia i primi studi dimostrano che il tracciante fluorescente migra troppo rapidamente verso i linfonodi di seconda e terza schiera, rendendo difficoltosa l'identificazione intraoperatoria del primo SN.

**THE ROLE OF NUCLEAR MEDICINE
IN LYMPHATIC MAPPING FOR SENTINEL NODE BIOPSY
OF ORAL CAVITY CANCER**

G. Tartaglione, M. Pagan, V. Bernabucci

Sentinel Node (SN) mapping is a multidisciplinary approach for staging lymph nodes in cancer.

Lymphatic mapping in cancer patients dates back to the early 50s.

The first studies after subcutaneous injection of colloidal gold (^{198}Au) were promising, but the dose of radiation delivered from an isotope at the injection point (100 Rad) was considered unacceptably high.

During the 60s-70s a concept based on the identification of a lymph node as indicator for the status of the regional lymph nodes was developed.

In 1977, Cabanas first used the term “**sentinel node**” to describe this lymph node in patients with penile cancer¹.

In the late 1980s, Donald L. Morton proposed the innovative concept of “**lymphatic mapping**” with sentinel lymph node biopsy for melanoma using a **Blue Dye**. The *blue dye technique* requires an intraoperative peritumoral injection of patent blue. The Blue passes along the lymphatic channels that drain this tumor².

Ten minutes after injection: the surgeon makes an incision and dissection along the blue trace. The first node to turn blue (the “Sentinel node”) is the node most likely to contain any cancer cells migrating from the primary tumor to the drainage basin. The Blue dye technique requires the raising of a skin flap and the removal of all blue nodes.

This approach demonstrated a lower efficiency in H&N’s cancer, because the blue traverses the lymphatics quickly and accumulates in second-echelon nodes making it difficult to identify the first sentinel node.

Since the ’90s some authors have encouraged researchs for new nuclear medicine procedures using ^{99m}Tc *Sulfo-colloidal* to identify the lymphatic drainage pattern (lymphatic mapping) of cutaneous melanomas.

In 1993, Alex and Krag described a successful radiolocalization of sentinel node with a non-invasive technique based on the radioguided surgery with a Gamma-probe, after a perilesional injection of radiocolloids³.

This method has several advantages: it may locate on the surface of the skin the position of an underlying sentinel node, it may intraoperatively guide the surgeon to the lymph node during dissection and it allows sentinel nodes to be harvested through a small incision.

In 1996, Alex described a successful radiolocalization of sentinel node in the aerodigestive system in a patient with supraglottic squamous cell cancer⁴. A peritumoral submucosal injection of filtered sulfur colloid Tc99m was performed immediately following intubation. After at least 30 minutes, focal areas of accumulation corresponding to a sentinel node were marked on the skin surface. Using the probe intraoperatively, every radioactive node that could be identified with the gamma ray detection probe was defined as a SN.

Some authors define **SN the radioactive nodes (“hot” nodes) that have a count-rate above 10% of the lymph node with the highest radioactivity.**

The hand probe samples only one specific area for a short time and its sensitivity is lower than a Gamma camera, consequentially if the radioactive signal is low the identification of SN could be difficult.

Blue dye and radiocolloids can be used in combination, in order to facilitate SN identification, but they have different pharmacodynamic properties, therefore the results differ as well.

Using both the Blue dye and Radiotracer, the **SNs are identifiable as the “Blue and Hot”⁵ nodes**, however, the management of the lymph nodes, which are only “Blue” or only “Hot”, is controversial.

Imaging with a Gamma Camera plays an important role in lymphatic mapping of oral cavity cancer. A Gamma camera has the advantage of simultaneously sampling the entire neck, providing a wide field of view survey and covering multiple lymph node basins simultaneously for minutes at a time, improving staging⁶⁻⁹.

Several factors can influence the quality of imaging with a gamma camera. First of all the *size of the tracer colloid* is important for the quality of the transport of the lymph flow and secondly it is important how long it has been stored in the lymph nodes.

The size of the colloid shows an *inverse correlation to the velocity* of its transport along the lymphatic channels.

Several radiopharmaceuticals able to identify the SN have been used.

The most frequently used in USA is Tc 99m-sulfur colloid with an average particle size of about 10 to 50 nm showing a relatively fast movement from the tumor to the lymph nodes and a rather fast extraction out of the lymph node.

Interesting results in Europe have been obtained using 99mTc-HSA nanocolloidal. Nanocolloids have an optimal particle size (< 80nm). The colloidal isotopes are phagocytized by the macrophages within the lymph node, keeping the tracer in the draining node.

In 2013, a new radiopharmaceutical **99mTc-tilmanocept** was approved by the FDA. It selectively binds to mannose receptors (CD206) located

on the surface of macrophages and dendritic cells and accumulates in tumor-draining lymph nodes¹⁰.

Also the **injection technique** may have a strong impact on the timing and quality of the lymphatic imaging.

Initial studies of SNB involved the intratumoral injection of radiocolloids, but many recent studies suggest superficial (Intradermal or Subdermal) injection techniques.

In our experience, intratumoral and deep injections should be avoided, because an intense bleeding at injection points may determine a higher background, with a low quality of imaging and consequently more difficult identification of SN.

We advise **perilesional superficial injections** at four sites around the tumour, because in the sub-epithelium stroma there is a high concentration of lymphatic capillaries: this provides a larger surface area for uptake, a faster lymph drainage and a better identification of SN in a shorter time¹¹. This determines a higher success rate in SN identification. Usually, if the injection technique has been correct, the main lymphatic basin will be identified in about 5 mins.

There is no special preparation for the procedure, other than preoperative restrictions. The patient's necklaces, dental prosthesis and all relevant metallic items should be removed. In oral cavity cancer a local anesthetic is given (10% lidocaine spray) before injection.

We suggest to inject a **Low Dose** (30-50 MBq), diluted in a **small volume** of injection <0.4 mL. A mouthwash is used immediately following injection to prevent pooling or swallowing of residual radioactivity by the patient. The position at scintigraphy should mirror the one of the patient at surgery. A scan starts *immediately* after tracer injection. Gamma Camera should be equipped with a LEGP collimator, in order to improve sensitivity¹².

A preoperative **Dynamic lymphoscintigraphy** using a gamma camera may help to visualize the drainage pattern by delineating lymphatic channels and lymph nodes, distinguishing between **the SN receiving lymph directly from the primary lesion, and second-tier nodes receiving lymph during a later phase**. Dynamic images (Pixel matrix 128x128, Anterior/lateral views) may be acquired within 5-20 minutes of the injection. When the SN is visible, Static scan images (matrix 256x256, preset time 5 mins, anterior/ lateral or oblique view, zoom factor x1.5) can be acquired to mark the skin with overlying SN.

The nuclear imaging has several advantages. It may facilitate:

1. to visualize the lymph drainage pathways of tumour. These pathways are frequently different from classical anatomical models such as *Sappey's lines* (Fig. 1);

2. to demonstrate which lymphatic drainage basin(s) are potential sites of metastatic disease;
3. to determine the number and location of SNs within those drainage basins;
4. to mark the skin overlying the SN with an indellible marker pen, for subsequent radioguided surgical dissection;
5. to distinguish first SNs from *second-tier* and *third-tier* lymph nodes (Fig. 2).

A SPECT acquisition (128x128 matrix, LEHR collimator, 180°x2, in the anterior L-mode rotation, 3° angle step, with 20"-30" per projection) may be performed in addition to static planar images with the purpose of a better anatomical localization of SLN already identified by lymphoscintigraphy.

An accurate nuclear imaging is advised to detect SN at neck level closer to the cancer area.

The fused **SPECT/CT** imaging allows a more accurate visualization of the SNs adjacent to the primary lesion. It provides the surgeons with additional preoperative information about their anatomical localization and estimated SNs depth more efficiently. Sometimes, SPECT/CT can visualize more hot lymph nodes in lower neck levels, resulting in a more extensive lymph node dissection, in absence of a clinical advantage for patient¹³.

Another important issue in SN biopsy is to reduce the interval time between scan and radioguided surgery, because the radioactive signal increases with time in second-tier lymph nodes. In addition, the radiotracer injected into the cancer site may spread increasing the background and making the identification of SNs closer to the primary more difficult.

For these reasons we advise a **Same Day protocol** with a short interval between tracer injection and surgery. This provides a better correspondence between preoperative imaging and probe detection, and a higher count rate facilitating radioguided biopsy of deeper or smaller SN¹⁴.

New technologies such as 3D navigation, could help the surgeon with intraoperative identification of SN. Freehand SPECT is a 3D tomographic nuclear imaging modality based on the concepts of SPECT, which can be used for intraoperative visualization of SN in order to facilitate and improve its localization and removal during surgery¹⁵.

The role of Indocyanine green fluorescence-guided for SN biopsy in oral cavity cancer is under evaluation. However, early studies in H&N cancer demonstrated that the fluorescent tracer quickly migrated beyond the SN to second and third tier nodes, making the SN biopsy difficult.

Immagini/Images

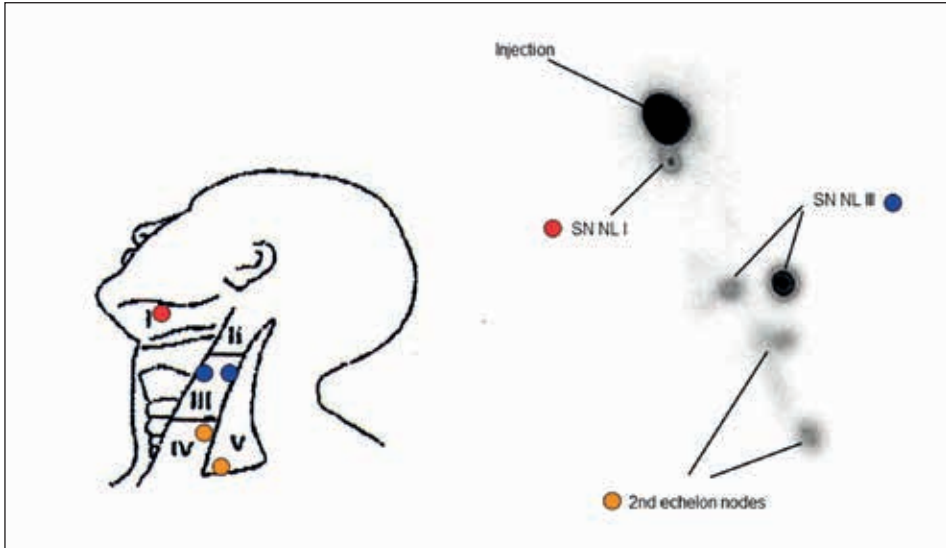


Fig. 1: La scintigrafia mostra il punto d'iniezione del tracciante, tre SN al I e III livello del collo e due linfonodi di seconda schiera (che ricevono la linfa da altri linfonodi) situati ai livelli più bassi del collo.

Fig. 1: The image shows the injection point three SNs at Neck Level I and III and two 2nd echelon-nodes, (which receive lymph from other lymph node) at lower neck levels.

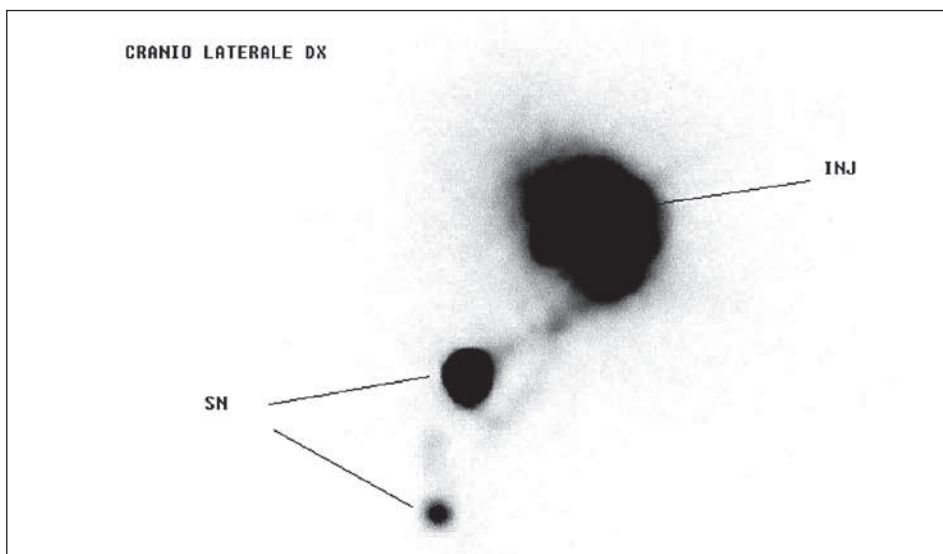


Fig. 2: la scintigrafia mostra il punto d'iniezione del tracciante, le vie di drenaggio linfatico e due SN in un paziente con SCC della lingua.

Fig. 2: the scan shows the injection point, the lymphatic pathways and two SNs in a patient with SCC of the tongue.

Bibliografia/References

1. Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer*. 1977 Feb;39(2):456-66.
2. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, Foshag LJ, Cochran AJ. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*. 1992 Apr;127(4):392-9.
3. Alex JC, Krag DN. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. *Surg Oncol*. 1993;2(3):137-43.
4. Alex JC, Sasaki CT, Krag DN, Wenig B, Pyle PB. Sentinel lymph node radiolocalization in head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2000 Feb;110(2 Pt 1):198-203.
5. Pitman KT, Johnson JT, Brown ML, Myers EN. Sentinel lymph node biopsy in head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2002 Dec;112(12):2101-13.
6. Shoaib T, Soutar DS, MacDonald DG, Camilleri IG, Dunaway DJ, Gray HW, McCurrach GM, Bessent RG, MacLeod TI, Robertson AG. The accuracy of head and neck carcinoma sentinel lymph node biopsy in the clinically N0 neck. *Cancer*. 2001 Jun 1;91(11):2077-83.
7. Ross GL, Shoaib T, Soutar DS, MacDonald DG, Camilleri IG, Bessent RG, Gray HW. The First International Conference on Sentinel Node Biopsy in Mucosal Head and Neck Cancer and adoption of a multicenter trial protocol. *Ann Surg Oncol*. 2002 May;9(4):406-10.
8. Stoeckli SJ, Pfaltz M, Ross GL, Steinert HC, MacDonald DG, Wittekind C, Soutar DS. The second international conference on sentinel node biopsy in mucosal head and neck cancer. *Ann Surg Oncol*. 2005 Nov;12(11):919-24.
9. Alkureishi LW, Burak Z, Alvarez JA, Ballinger J, Bilde A, Britten AJ, Calabrese L, Chiesa C, Chiti A, de Bree R, Gray HW, Hunter K, Kovacs AF, Lassmann M, Leemans CR, Mamelotte G, McGurk M, Mortensen J, Poli T, Shoaib T, Sloan P, Sorensen JA, Stoeckli SJ, Thomsen JB, Trifiro G, Werner J, Ross GL, European Association of Nuclear Medicine Oncology Committee, European Sentinel Node Biopsy Trial Committee. Joint practice guidelines for radionuclide lymphoscintigraphy for sentinel node localization in oral/oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009 Nov;36(11):1915-36.
10. Leong SP, Kim J, Ross M, Faries M, Scoggins CR, Metz WL, Cope FO, Orahod RC. A phase 2 study of (99m)Tc-tilmanocept in the detection of sentinel lymph nodes in melanoma and breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2011 Apr;18(4):961-9.
11. Tartaglione G, Vigili MG, Rahimi S, Celebrini A, Pagan M, Lauro L, Al-Nahhas A, Rubello D. The impact of superficial injections of radiocolloids and dynamic lymphoscintigraphy on sentinel node identification in oral cavity cancer: a same-day protocol. *Nucl Med Commun*. 2008 Apr;29(4):318-22.
12. Tartaglione G, Potenza C, Caggiati A, Maggiore M, Gabrielli F, Migliano E, Pagan M, Concolino F, Ruatti P. Lymphatic mapping and sentinel node identification in squamous cell carcinoma and melanoma of the head and neck. *Tumori*. 2002 May-Jun;88(3):S39-41.

13. Flach GB, van Schie A, Witte BI, Olmos RA, Klop WM, Hoekstra OS, de Bree R. Practice variation in defining sentinel lymph nodes on lymphoscintigrams in oral cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014 Dec;41(12):2249-56.
14. Vigili MG, Tartaglione G, Rahimi S, Mafera B, Pagan M. Lymphoscintigraphy and radioguided sentinel node biopsy in oral cavity squamous cell carcinoma: same day protocol. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2007 Feb;264(2):163-7.
15. Schilling C, Gnanasegaran G, McGurk M. Three-dimensional imaging and navigated sentinel node biopsy for primary parotid malignancy: new application in parotid cancer management. *Head Neck*. 2014 Sep;36(9):E91-3.

LA CHIRURGIA RADIOGUIDATA DEL LINFONODO SENTINELLA NEI CARCINOMI DEL CAVO ORALE

M.G. Vigili, M. Micozzi, A. Marzetti

Cenni storici

Il concetto di chirurgia radioguidata con utilizzo di un probe-sonda radio-rilevatore ha origine alla fine degli anni '20. La prima descrizione di questa tecnologia¹ riguardava l'utilizzo di un rilevatore di gas ionizzanti chiamato tubo di Geiger Muller², dotato di alta sensibilità per le radiazioni beta e bassa sensibilità per le radiazioni gamma emesse da radionuclide. Nel 1956, Harris e coll.³ riportano la prima descrizione dell'utilizzo di un probe rilevatore di raggi gamma in un paziente sottoposto a tiroidectomia totale per un carcinoma della tiroide, dove venne documentata la captazione di iodio radiomarcato nella regione cervicale dopo la iniezione intravenosa di Iodio-131.

Il primo lavoro sull'uso del gamma probe nello studio del linfonodo sentinella si deve a Krag ed Alex nel 1993 che utilizzarono come marcatore l'albumina colloidale marcata con 99m Tecnezio (99mTc) rispettivamente nel tumore della mammella e nel melanoma maligno⁴⁻⁵. Gli stessi autori, nel 1996 furono i primi a riportarne l'utilizzo nei tumori della testa e del collo⁶.

Da quel momento la sensibilità e specificità della biopsia radioguidata del linfonodo sentinella è risultata maggiore rispetto all'esame fisico, alla TC, RM o PET nella stadiazione del collo⁷.

La tecnologia del Probe

Il gamma probe è un rilevatore di radioattività portatile in grado di fornire una valutazione quantitativa dei raggi gamma in conteggi per secondo (cps) (Fig. 1). È composto da: sonda-rilevatore, collimatore, display digitale (per la visualizzazione in tempo reale dei cps) e, nel caso di un sistema counting, di un generatore di segnali acustici. È connesso ad una unità di alimentazione e di analisi che riceve i segnali elettrici dal rilevatore di radioattività⁷. Sul mercato, sono presenti sia rivelatori a cristalli scintillatori (NaI o CsI) sia a semiconduttore (CdZnTe o CdTe). I cristalli scintillatori sono sensibili su un ampio intervallo di energie ma devono essere accop-

piati a tubi fotomoltiplicatori; per tale motivo possono essere ingombranti rispetto a quelli basati su semiconduttori.

Le più importanti caratteristiche fisiche di ogni probe rilevatore di radioattività sono le seguenti⁸:

- a. **sensibilità globale** (efficienza) costituita dal tasso di radioattività rilevata per unità di attività;
- b. **risoluzione spaziale (radiale e laterale)**. La risoluzione laterale è l'ampiezza della misura del cono dove la radioattività viene misurata ad una definita distanza. Con un cono più ampio il segnale basale può superare quello emesso dalla sorgente target; con un cono più stretto il segnale basale viene ridotto e la captazione della sorgente di emissione risulta più accurata. La risoluzione spaziale laterale è la capacità della sonda rilevatrice di localizzare accuratamente la posizione della sorgente di attività e di riconoscere e distinguere due sorgenti di attività localizzate una vicino all'altra;
- c. **risoluzione di energia** è la capacità del sistema di discriminare tra radiazioni emesse da fonti energetiche diverse; questa caratteristica è essenziale per distinguere tra due radionuclidi somministrati contemporaneamente dotati di energia diversa e discriminare l'emissione dai fotoni primari;
- d. **rapporto segnale/rumore**. Questa proprietà riflette l'abilità del probe di distinguere entro un determinato tessuto la radioattività del bersaglio da quella basale circostante.

I gamma probe più comuni disponibili in commercio utilizzati nella ricerca del linfonodo sentinella devono avere una elevata sensibilità globale (efficienza) per poter captare fotoni gamma a bassa energia emittenti, come il ^{99m}Tc , e richiedono una eccezionale risoluzione spaziale. Le sonde devono essere calibrate in base al particolare tipo di radiofarmaco per ottenere dei risultati ottimali. Il probe deve essere in grado di raggiungere una sensibilità in un range di 650-900 cps/MBq di ^{99m}Tc per un linfonodo ad una profondità dalla cute di circa 3 cm. Per un linfonodo simile, con una captazione dell'1% dopo iniezione peritumorale di 40-MBq di radiocolloide, con chirurgia effettuata circa 2 ore dopo, la radioattività documentata dovrebbe essere intorno ai 220 cps. La dose cala rapidamente per linfonodi più profondi e se, a fronte di una captazione più bassa, l'intervallo di tempo fra iniezione e chirurgia aumentasse, la localizzazione del linfonodo diverrebbe molto problematica⁸.

Lo schermaggio e la collimazione alla punta del probe sono caratteristiche importanti da valutare nella scelta: da esse dipendono la risoluzione spaziale e la sensibilità angolare, tali da poter consentire la localizzazione precisa di piccoli linfonodi, soprattutto quando questi siano situati

in stretta prossimità di una fonte di radiazione elevata (sede di iniezione), come ad esempio in caso di tumori del pavimento orale.

La scelta della sonda dipende dal chirurgo ed è basata su diversi parametri come ad esempio, sul suono emesso o sui conteggi o ancora sull'imaging, sull'ingombro, il peso, la facilità di utilizzo e, non ultimo, il costo della stessa. Anche il design e l'ergonomicità della sonda manuale sono importanti: probe sottili, a forma di penna, leggeri con testina angolata della sonda permettono un accesso migliore e più accurato alla sede dei linfonodi da ricercare e sono preferibili per la elevata risoluzione spaziale; sfortunatamente però hanno una minore sensibilità rispetto a sonde più larghe, che generalmente assicurano un grado di schermo e collimazione superiore.

La qualità del segnale sonoro e la visibilità del display dell'unità di controllo sono ulteriori variabili significative nel fornire le informazioni critiche che il chirurgo ha bisogno di acquisire senza essere eccessivamente distratto dall'attenzione sul campo chirurgico durante la procedura. Infine la flessibilità ed adattabilità del probe riguardo alla possibilità di inserire schermi di protezione laterali, l'intercambiabilità di collimatori, e la scelta di menù diversi a seconda dei radionuclidi utilizzati è altrettanto determinante. Recentemente la disponibilità sul mercato di probes manuali dotati direttamente del sistema di rilevazione e quantificazione delle radiazioni gamma senza cavi contribuirà verosimilmente a rendere ulteriormente agevole questa chirurgia (Fig. 2).

Procedura

Al termine della linfoscintigrafia la cute sovrastante i linfonodi sentinella viene marcata con inchiostro indelebile sotto controllo del medico nucleare che ne misura la radioattività con un probe manuale collimato. Al momento del mappaggio sulla cute, la posizione della testa del paziente deve mimare la posizione chirurgica, in modo da fornire all'operatore la miglior corrispondenza di sede (Fig. 3). Per consentire il corretto rilievo della radioattività acquisita dal linfonodo sentinella la chirurgia deve essere fatta al massimo entro 24 ore dal momento della iniezione peritumorale del tracciante⁹⁻¹¹.

La fase successiva della procedura avviene in sala operatoria, dove il paziente viene portato e sottoposto all'anestesia generale ed alla preparazione per l'intervento. Se il chirurgo decidesse di utilizzare il blue dye dovrebbe fare l'iniezione del colorante in questa fase, come dettagliato di seguito. L'asportazione transorale del tumore primitivo del cavo orale può essere fatta prima o dopo la ricerca del linfonodo sentinella. Noi

suggeriamo di effettuarla come primo tempo chirurgico, per consentire di ridurre la dispersione della radioattività ed il problema dell'interferenza del segnale proveniente dalla sede di iniezione. Per i chirurghi che utilizzano il blue dye, viceversa, è preferibile intervenire prima sui linfonodi, dato il tempo di transito estremamente rapido dalla sede di iniezione verso i linfatici.

Sul tavolo operatorio la sonda viene coperta con una busta protettiva in lattice ed utilizzata nella ricerca preoperatoria dell'area a più elevata radioattività, in corrispondenza dei punti marcati dal medico nucleare. Il posizionamento del paziente sul letto operatorio potrebbe infatti aver lievemente modificato la posizione dei linfonodi rispetto al marker cutaneo. Si inizia la ricerca dal punto di iniezione del tracciante tenendo il probe perpendicolare alla cute, muovendosi poi con decorso orizzontale parallelo ogni paio di centimetri e poi secondo un angolo ortogonale alla direzione iniziale. La velocità di scannerizzazione dovrebbe non essere più veloce di pochi centimetri al secondo, anche se un movimento eccessivamente lento può rendere difficoltoso percepire le modificazioni del segnale sonoro in corrispondenza del nodulo caldo. La caduta del segnale, modificando l'angolo della sonda in rapporto al nodulo, ci da conferma della localizzazione⁸.

I linfonodi vengono ricercati facendo una o più incisioni piccole partendo dal punto corrispondente al marker indicato dopo la linfoscintigrafia, tenendo conto delle linee di tensione della cute e della necessità di utilizzare la stessa linea di incisione se dovesse essere necessario il tempo successivo di svuotamento latero cervicale. La posizione del linfonodo sentinella viene ripetutamente confermata nelle manovre di dissezione chirurgica, utilizzando la sonda manualmente entro la ferita, con l'ausilio di un collimatore di 14 mm di diametro montato sulla punta del probe stesso fino all'escissione dello stesso (Fig. 4).

Il collimatore è un piccolo cilindro di piombo con un piccolo foro centrale che viene posizionato sulla estremità della sonda. Esso riduce l'angolo di visuale del probe e la sensibilità di conteggio a vantaggio di una maggiore precisione nel localizzare i linfonodi caldi. In caso di bassa attività il collimatore può essere rimosso, tuttavia questa pratica determina una riduzione della precisione.

Il problema dell'interferenza del segnale proveniente dalla sede di iniezione sui linfonodi vicini ("shine-through") riguarda prevalentemente i tumori del pavimento orale ed il I livello sottomandibolare. Kovács e coll.¹² riportano che in 6 casi su 104 non è stato possibile l'identificazione con gamma probe dei linfonodi segnalati e marcati al momento della linfoscintigrafia preoperatoria. Questa prossimità con la sede di iniezione spiega perché la percentuale di identificazione radioguidata dei linfonodi

sia più bassa per i carcinomi del pavimento orale rispetto alle altre sedi nel cavo orale, orofaringe, ipofaringe e laringe: 86% contro 96%¹³⁻¹⁶.

Un attento posizionamento della sonda durante la ricerca, l'utilizzo giudizioso delle placchette schermanti¹⁷ e l'escissione del tumore prima di asportare il linfonodo, può aiutare a minimizzare il problema⁹.

Un altro suggerimento per migliorare l'identificazione dei linfonodi del I livello è quello di iniziare sempre la dissezione immediatamente al di sotto del nervo marginalis mandibulae, disseccando il tessuto dal bordo del muscolo miloioideo. In questo modo i linfonodi sono allontanati dalla cavità orale e la sonda introdotta nel tunnel così determinatosi e rivolta in basso, risulta molto più sensibile.

Tutti i linfonodi radioattivi andrebbero considerati Linfonodi Sentinella ed asportati. Alcuni autori, tra cui noi, ritengono corretto definire Sentinella ogni linfonodo che presenta una radioattività misurata dal probe almeno tre volte superiore a quella di background, testata generalmente a livello epatico all'inizio della procedura^{9,10}.

Quando il probe intercetta il linfonodo radioattivo, il segnale sonoro si modifica aumentando significativamente la frequenza (es. da 100 a 1000 cps). L'apparecchiatura va settata all'inizio della procedura in modo che il range del segnale sonoro non esca di scala, portando all'errore ed al fallimento della registrazione. Alcuni probe prevedono un adeguamento automatico.

Una volta asportati i linfonodi sentinella, la radioattività viene ritestata per ogni singolo linfonodo su una superficie lontana dal campo chirurgico e confermata ex vivo dal probe, confrontandola con quella basale per poter definire il linfonodo come "caldo" (Fig. 5). È sempre opportuno riportare i valori di radioattività riscontrati per ogni singolo linfonodo e concordare la denominazione con il patologo. Per ogni livello, il linfonodo sentinella n. 1 è quello con la radioattività più alta, il n. 2 quello con il valore immediatamente più basso e così via.

Sebbene i linfonodi non sentinella non devono essere asportati, quando ci si imbatte in linfonodi grandi, clinicamente sospetti vicini a quelli sentinella, anche questi devono essere rimossi, dal momento che un marcato coinvolgimento tumorale del linfonodo potrebbe aver bloccato il flusso del radio-tracciante allo stesso.

Il campo chirurgico del collo viene infine testato con la sonda per accertarsi che non siano rimasti nelle sedi viciniori linfonodi radioattivi. La radioattività basale a questo punto non dovrebbe superare 8-10 cps.

Nuove tecnologie per la localizzazione del Linfonodo Sentinella comprendono metodiche di imaging intraoperatorio in tempo reale con gamma camere portatili, la freehand 3D SPECT, e l'utilizzazione di traccianti fluorescenti e sistemi di videocamere con sensori in grado di registrare fonti

di luce fluorescenti. L'ausilio di queste metodiche potrebbe permettere, secondo alcuni autori¹⁹⁻²⁵, di migliorare l'interpretazione e l'accuratezza diagnostica dell'esame, fornendo l'esatta localizzazione topografica del/i linfonodo/i rispetto alle strutture anatomiche circostanti. Ciò sarebbe particolarmente utile nel rilevare i linfonodi strettamente adiacenti alle aree di iniezione del tracciante, come per il pavimento orale. Sebbene il reale vantaggio clinico sia ancora da dimostrare su un numero di casi elevato, il miglioramento dell'individuazione spaziale del linfonodo sentinella, la sua direzione e profondità rispetto al probe non possono che portare beneficio alla diffusione della metodica.

Rischi

La biopsia del linfonodo sentinella non è totalmente priva di rischi. Sebbene l'esposizione chirurgica sia limitata, lesioni del ramo marginalis mandibulae del nervo facciale e dell'accessorio spinale sono possibili, ovviamente con una probabilità molto inferiore (1%) che in caso di svuotamento latero-cervicale. Inoltre vanno tenuti presenti i teorici maggiori rischi di lesioni nervose e vascolari in caso di svuotamento dopo il riscontro di biopsia linfonodale positiva. Per questo è importante minimizzare il trauma chirurgico nella procedura di prelievo del linfonodo²⁶.

La qualità e rapidità nella ricerca del linfonodo sentinella migliorano se chirurgo e medico nucleare lavorano in equipe anche nella fase del prelievo del linfonodo, come avviene di routine nella nostra esperienza.

Il rischio di esposizione alle radiazioni per il chirurgo ed il personale di sala operatoria è ben documentato per il ^{99m}Tc nanocolloidale^{8,9}. Le dosi assorbite da tutto il personale coinvolto sono nettamente più basse rispetto ai limiti annuali raccomandati, indicati dalla Commissione Internazionale di Radioprotezione (IRCP): le dosi cumulative al corpo del chirurgo (la persona con esposizione più alta) per 100 interventi chirurgici di biopsia radioguidata del linfonodo sentinella, corrispondono a circa l'1% (dose media assorbita) e al 10% (dose media efficace) dei limiti di dose annuale per la popolazione generale (Tab. I).

La dose di radioattività assorbita dal chirurgo è variabile, ma direttamente proporzionale alla dose di iniezione del tracciante ed al tempo intercorso fra l'iniezione e l'inizio della chirurgia radioguidata. Anche le dosi date ai pazienti sono tali che non viene considerata una controindicazione assoluta neppure lo stato di gravidanza. Waddington e coll.²⁷ riportano una dose media per tutto il corpo equivalente di solo 0.34 μ Sv per caso, quando l'iniezione di ^{99m}Tc albumina colloidale compresa fra 0.27 mCi (10 MBq) e 0.41 mCi (15 MBq) veniva iniettata 24 ore prima dell'inizio

	Dose assorbita $\mu\text{Sv} \times 100$ casi	Limiti di dose annui (μSv) per le persone del pubblico iRcp 60 – d.Lgs. 230/95
Mani chirurgo/ferrista	450+/-20	50000
Mani anatomo patologo	80+/-3	
Cristallino chirurgo	110+/-30	15000
Cristallino anatomo patologo	15+/-5	
Esposizione globale chirurgo	90+/-25	1000
Esposizione globale patologo	15+/-4	

Tab. I: Dosimetria nella ricerca del Linfonodo Sentinella: stima delle dosi assorbite dagli operatori nel trattamento di 100 pazienti sottoposti alla tecnica del “linfonodo sentinella” (Mod. da Cremonesi et al. Nucl Med Commun 1999;20:919-9249).

della procedura chirurgica radioguidata. D'altra parte, Stratmann e coll.²⁸ riportano una dose equivalente media per tutto in corpo di 13.3 μSv per caso quando veniva iniettata una dose compresa fra 0.7 mCi (26 MBq) e 1.1 mCi (41 MBq) di $^{99\text{m}}\text{Tc}$ sulfur colloide da 90 a 180 minuti prima dell'inizio della biopsia.

In sostanza, è acclarato il fatto che l'intera dose corporea equivalente assorbita dal personale sanitario esposto durante la chirurgia radioguidata è estremamente bassa.

Uso del blue dye

L'uso del blue dye nella ricerca del linfonodo sentinella nei tumori della testa e del collo è opzionale. Comunque, il suo utilizzo, può essere di aiuto nella localizzazione del linfonodo sentinella anche se non può essere utilizzato da solo, ma va sempre associato alla linfoscintigrafia preoperatoria ed alla ricerca radioguidata con gamma probe.

Dopo l'iniezione che avviene appena prima dell'inizio della procedura chirurgica, il colorante drena attraverso le stesse vie linfatiche del radio colloide, fino a raccogliersi in 10-15 minuti nel linfonodo sentinella e nei linfonodi successivi. Il colorante deve essere iniettato lentamente in due/quattro punti intorno al tumore e profondamente ad esso, rimuovendone l'eccesso con una compressa di garza¹⁴.

Il blue dye è controindicato nei bambini, donne incinte o in allattamento ed in chi ha avuto allergie al blu o a prodotti similari. In Europa si usa il Patent Blue V (Laboratoire Guerbet, Aulnay-Sous-Bois, France) diluito in

2 ml alla concentrazione del 2.5%. Al di fuori dell'Europa si usano altri coloranti quale Isosulphan Blue (Lymphazurin).

Lo svantaggio, riferito da alcuni chirurghi che ne hanno conseguentemente abbandonato l'uso, è che talora il blu può debordare dalla sede di iniezione, alterando la corretta visione dei margini del tumore, che peraltro potrebbero essere preliminarmente marcati. Sono stati inoltre descritti, seppur rari, casi di reazione anafilattica e severe reazioni allergiche²⁹.

RADIOGUIDED SURGERY OF SENTINEL NODE BIOPSY IN ORAL CAVITY TUMOURS

M.G. Vigili, M. Micozzi, A. Marzetti

Background

The concept of radioguided surgery using a radiation-detection probe system originated approximately at the end of the second decade of 1900. The first description of radioguided surgery using a radiation detection probe system¹ involved a gaseous ionization detector called a Geiger-Müller tube², which had a high sensitivity for beta radiation and a very low sensitivity for gamma radiation emitting radionuclides. In 1956, Harris et al.³ reported the first description of a gamma detection probe system used in a patient who had previously undergone a total thyroidectomy for thyroid cancer. He had persistent iodine uptake in the neck region when he was intravenously injected with the gamma radiation emitter, iodine-131.

The first reports on the use of gamma probe for sentinel node biopsy were in 1993 by Krag et al.⁴ using ^{99m}Tc radiocolloid for breast cancer and by Alex et al.⁵ using ^{99m}Tc radiocolloid for malignant melanoma. These Authors in 1996 described the use in head and neck cancer⁶.

Since the time of this initial report, the sensitivity and specificity of radioguided SLN biopsy has become greater than that of the physical exam, CT MR or PET/CT for assessing the N0 neck⁷.

Probe Technology

The gamma probe is a radiation detector, providing a count rate from gamma rays. The hand-held probe contains the radiation detector, either a crystal or a solid-state device, with surrounding metal shielding and collimation to give a restricted field of view (Fig. 1). It is connected to a power supply and an analyser unit which receives electrical signals from the radiation detector. The analyser provides a response related to the detected count rate, usually by audible pitch or volume variation and by a visual display as a dial or digital count rate (counts per second, cps)⁸. The most significant performance variables defining the features of any gamma probes consist of:

- a. overall sensitivity (efficiency): which is the detected count rate per unit of activity, and it is determined at the tip of the probe;
- b. spatial resolution (radial and lateral resolution). Sensitivity Radial resolution is the width of the measurement cone where the radiation is detected at a defined distance. With a wider cone, the background signal may overcome the target source. With a narrower cone, the background will be reduced and detection of the target source will be more accurate. Lateral spatial resolution is the capability to accurately localize the position of a target source and to separate two target sources of activity which are located relatively close to each other.
- c. energy resolution is the capacity of the gamma-detection system to discriminate between radiations of different energy. This property is essential to distinguish between two simultaneously administered radionuclides that have different energies and to discriminate scattered from primary photons.
- d. signal-to-noise ratio. This property relates to the ability of the probe to discriminate the signal from the target with respect to the noise represented by the background radiation within the surrounding tissue.

The most commercially available gamma detection probe systems used for radioguided sentinel lymph node procedures need to have very high sensitivity for predominantly lower energy gamma photon emitting radionuclides (such as ^{99m}Tc), and require exceptional spatial resolution.

A probe should be able to achieve sensitivity in the range 650-900 cps/MBq of ^{99m}Tc for a 3-cm deep node. For a 3-cm deep node with 1% uptake from a 40-MBq injection of radiocolloid, with surgery about 2 h after injection, the count rate seen should be about 220 cps. The detected count rate falls rapidly with deeper nodes, and if this arises with lower percentage uptake and a longer delay to surgery there may be a much lower count rate and a more difficult localization⁸.

The necessity for shielding and collimation of the head of the probe is also critical in the appropriate selection of a particular gamma probe, in order to allow for more precise localization of small lymph nodes. Side and back shielding of the probe head can be rather important when there is a strong and localized radiation source (injection site) which lies close by the intended target.

Many design features of any gamma probe may be important to the surgeon. The weight, shape, and ergonomics are critical: sleekly designed, pencil-thin, lightweight probes and angulation of the detector head for better access to the desired detection location, are favoured for higher

spatial resolution but, unfortunately, they yield a lower sensitivity than do larger-sized detector probes and can limit the degree of attainable shielding and collimation.

The audible signal and digital display of the gamma detection control unit are important variables for providing critical output information to the surgeon without distracting him from the overall activities within the surgical field. Flexibility and adaptability of any given system with regards to removable side shielding, interchangeable collimators, interchangeable detection probes, and user-adjustable energy windows for different radionuclides, is also important to the overall design of a given gamma probe.

Lastly, the recent development of handheld, self-contained gamma detection probe systems, as well as wireless gamma detection probe may help to further advance the technology involved in radioguided surgery, providing the surgeon with more flexibility (Fig. 2).

Intraoperative detection

At the end of the Lymphoscintigraphy (LSG), SLNs are marked on the skin surface with a labelled pen-marker and controlled transcutaneously by the nuclear medicine physician with a collimated, hand-held gamma probe. The skin is marked with the head and neck in a position as similar as possible to the positioning during surgery, in order to facilitate harvesting of the SLN⁹⁻¹¹ (Fig. 3).

Following radiotracer injection and LSG, the patient undergoes general anaesthesia and preparation for operation. Optionally, blue dye may be injected at this time.

Transoral excision of the primary tumour could be performed either before or after SNB. We suggest prior excision to reduce the problem of “shine-through” from the injection site, but for surgeons using blue dye it potentially limits the usefulness of blue, due to rapid transit times through the lymphatics from the injection sites.

In the operating room, the gamma probe is covered with sterile latex and applied transcutaneously to confirm the accuracy of the skin markings, which may have changed due to different position of the patient’s head between LSG and surgery. The theoretically optimal search pattern is to start closest to the injection site, with the probe perpendicular to the skin, using a raster pattern of parallel lines 2 cm apart at right angles to the direction of the injection site. A rise in activity is then confirmed by scanning in the other direction. Scanning should be no faster than a few centimetres per second. However, excessively slow scanning can lead to

loss of information from the change in pitch as the probe passes over a hot node. The drop in counts as the probe is angulated whilst over a hot-spot can confirm location⁸.

SLNs are reached using one or two small incisions. The probe is put into the space along the plane of dissection and angled in various directions to guide the surgeon to the SLN, which is then excised (Fig. 4). Removal of the collimation can aid localization of low uptake nodes remote from the injection site. The problem of “shine-through”, whereby the high radioactivity levels from the injection site are detected from behind the tissue of interest, are most prevalent for floor-of-mouth tumours, where the distance between primary site and SLN in submandibular level of the neck is smallest. Kovács et al.¹² reported that 6 of 104 known sites of radiotracer localization seen on preoperative lymphoscintigraphy were intraoperatively missed using the gamma detection probe secondary to shine through radioactivity from a nearby injection site. This proximity issue likely explains why the radioguided SLN identification frequency is less for carcinomas of the floor of the mouth as compared to other sites of carcinomas within the oral cavity, oropharynx, hypopharynx, and laryngeal region (86%VS 96%)¹³⁻¹⁶.

Careful positioning of the gamma probe, judicious use of malleable lead shield¹⁷ and excision of the primary tumour before SLN localization may all help to minimize these effects⁹. Another option to improve identification in level I is to perform some initial dissection below the level of the marginal mandibular nerve, transecting the tissues down to the level of the mylohyoid muscle. In this manner, the lymph nodes are mobilized away from the oral cavity, and the gamma probe placed into the newly created tunnel and directed inferiorly away from the injection site.

All radioactive nodes should be considered SLNs and excised, but some authors defined a SLN as any lymph node containing activity counts of at least three times that of the background count activity^{9,10}.

When testing the radioactive nodes, the probe produces an audible change in pitch between a minimum and maximum counts per second, e.g. 100-1,000 cps. Count outs with the set range will all produce the same (low or high) pitch, necessitating adjustment. Inappropriate range setting can lead to failure of localization. Some probe systems can automatically adjust the pitch range for the detected counts, though this can be confusing when trying to get a sense of the absolute count at any point.

Following excision, SLN radioactivity is confirmed *ex vivo* using the gamma probe, and must be above background activity to be classified as hot. The SLN should be placed on a surface away from the patient, and tested for radioactivity (Fig. 5). Anatomic location and radioactivity levels (counts per second) are recorded for all excised nodes.

In order to avoid potential confusion, surgeons and histopathologists should agree beforehand on the exact nomenclature used for labelling SLNs and drainage basins: the SLN with the highest activity is named SLN1, the second highest activity SLN2, and so forth.

Although non-sentinel nodes should not be excised, when there are suspicious lymph nodes closely adjacent to SN, they must be almost completely excised even in the absence of radioactivity, since gross lymphatic involvement may block the flow of radiotracer to these ones.

Following excision of SLNs, the remaining lymphatic basin should be repeatedly rechecked to ensure that there are no adjacent hot nodes that also need to be removed¹⁸. Bed counts in the neck after removal of SLNs almost never exceed 8-10 cps.

Technical innovations to improve intraoperative localisation of sentinel lymph nodes include intraoperative real-time imaging, freehand SPECT, and fluorescence imaging^{19,20}.

Intraoperative real-time imaging with the portable gamma camera provides an overview of all radioactive spots and can show sentinel lymph nodes near the injection site by adjustment of its position. Another advantage might be the certainty it can provide about the completeness and accuracy of sentinel lymphnode excision, by showing the remaining activity.

Freehand SPECT is designed to ascertain the position of the detector relative to the patient, through which three dimensional images are generated. These images provide the surgeon with information about the direction and depth of the sentinel lymph node in relation to the probe²¹. The feasibility of near-infrared fluorescence guided sentinel lymph-node detection has been shown in HNSCC, with indocyanine green as fluorescent tracer²²⁻²⁵. Other tracers with enhanced optical properties have been tested in HNSCC in preclinical settings. The real clinical additional value of these techniques has still to be assessed.

Risks

SNB is not without risks. Injuries to the facial and spinal accessory nerves are possible. Although complication rates of less than 1% are reported, the risk of injury to these nerves via minimal access incisions is theoretically higher during SNB than during neck dissection. Similarly, neck dissection following positive SNB represents re-exploration in a recently operated field and carries with it higher risks of nerve or vessel damage. This reinforces the need for minimal tissue injury during the initial SNB procedure²⁶.

All radiation detectors must be checked and managed within a quality assurance programme. Surgeons are advised to work closely with their nuclear medicine colleagues and medical physicists in setting up quality control procedures.

The assessment of occupational radiation exposure to surgical personnel involved in radioguided procedures is important to maintaining a safe work environment. Radiation exposure to surgical personnel members from ^{99m}Tc-labeled radiopharmaceutical agents used for radioguided SLN biopsy has been well-documented^{8,9}. There was significant variability in the whole body dose equivalent incurred by the surgeon and this value was highly dependent upon the injection dose of radiopharmaceutical agent and the total duration of time from the injection to the starting of the SNB procedure.

Waddington et al.²⁷ reported mean whole body dose equivalent of only 0.34 μ Sv per case when 0.27 mCi (10 MBq) to 0.41 mCi (15 MBq) of ^{99m}Tc colloidal albumin was injected 24 hours before starting the radioguided procedure. Stratmann et al.²⁸ reported a mean whole body dose equivalent of 13.3 μ Sv per case when 0.7 mCi (26 MBq) to 1.1 mCi (41 MBq) of ^{99m}Tc sulfur colloid was injected 90 to 180 minutes prior to the start of the radioguided SLN biopsy procedure. Nevertheless, the data supports the fact that the whole body dose equivalent incurred by a surgeon during any given radioguided SLN biopsy procedure using a ^{99m}Tc-labeled radiopharmaceutical agent is extremely low.

Use of blue dye

The use of blue dye in SNB of head and neck cancer is optional. However, it could be a useful adjunct to aid SLN localization and harvest. Blue dye cannot be used alone but in addition to radiolocalization with preoperative LSG and intraoperative gamma probe use.

Following injection, blue dye drains to the SLNs via the same lymphatic pathways as radiocolloid, staining the channels, which can then be followed to the first-echelon nodes.

The hand-held gamma probe is more sensitive for the detection of SLNs, and not all radioactive nodes will also appear blue. However, blue dye may aid performance of SNB, in terms of both technical success of the procedure and identification of subclinical nodal metastasis¹⁴.

Blue dye is contraindicated in children, pregnant women, lactating women and those who have a history of allergy to these products. In the UK and Europe, the blue dye used is Patent Blue V (Laboratoire Guerbet, Aulnay-Sous-Bois, France; which comes in 2-ml vials at a concentration

of 2.5%. Outside Europe, the use of other agents such as IsosulphanBlue (Lymphazurin) is more common.

Patent Blue V dye is injected at the time of surgery, under general anaesthesia. It takes approximately 10-15 min for a significant amount of dye to travel from the injection site to the SLN. One vial of dye is injected slowly into two to four points surrounding the tissues and deep to the tumour, by to minimize leakage from ulcerated tumours. Gauze swabs may be used to protect normal tissue and mop up excess dye. Disadvantages are that the dye rarely could mask the edge of the tumour and if this is a concern, the tumour edge can be marked prior to injection with staples or diathermy marks. Anaphylaxis and allergic reactions, while rare, are described as adverse effect²⁹.

Immagini/Images



Fig. 1: Gamma probe Neo 2000 (Devicor Medical Products, Inc., Cincinnati, OH). L'unità di controllo riporta nel display la radioattività misurata con intervallo temporale di 20 sec espressa sia in termini numerici, che in scala verticale in funzione del segnale sonoro riprodotto. Sotto viene mostrato il probe con il collimatore rimuovibile.

Fig 1: Gamma probe Neo2000 from Neoprobe (Devicor Medical Products, Inc., Cincinnati, OH). Display of the control unit shows the count rate over 20 sec intervals, represented both with a numerical readout (at the center in the top of the monitor) and with an analog-like signal (vertical scale at the left of the monitor). The gamma probe (down) is shown with a removable collimator.



Fig 2: Gamma probe manuale senza fili (Gamma Finder II WOM GmbH Berlin G). Utilizza un'alimentazione a batteria ed in aggiunta al segnale acustico, la radioattività viene evidenziata sul display in cps ogni secondo.

Fig 2: Wireless gamma detection probe (Gamma Finder II WOM GmbH Berlin G). It is a battery-operated device. In addition to the acoustic signal sound (beep) the detected activity is displayed once every second in cps.



Fig. 3: I Linfonodi sentinella sono marcati con inchiostro indelebile al termine della linfo-scintigrafia e la loro posizione confermata con il gamma probe prima di iniziare la procedura chirurgica. L'incisione è unica e corta e viene fatta tra i due livelli in cui sono situati i Linfonodi sentinella.

Fig. 3: SNs are marked on the skin immediately after the end of LSG and confirmed before surgery by hand held gamma probe. Short skin incision is planned between level I and level II SNs.

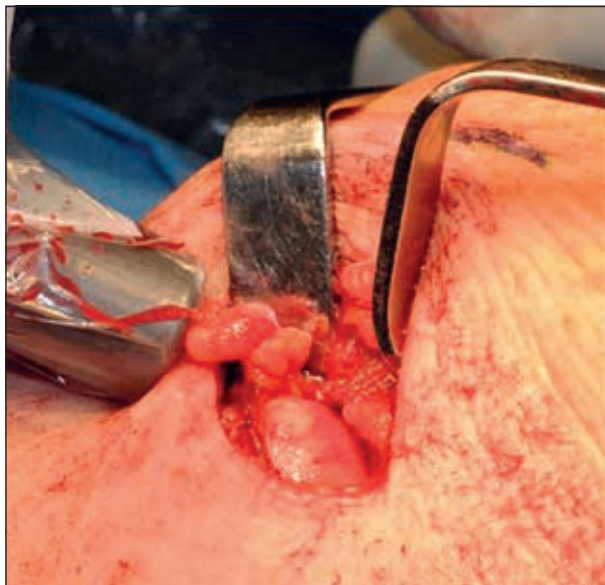


Fig. 4: Il linfonodo sentinella viene localizzato attraverso una piccola incisione cervicale grazie al gamma probe ed asportato selettivamente.

Fig. 4: During surgical procedure the SN is localized through a small neck incision with the gamma probe and selectively excised.



Fig. 5: Dopo l'escissione, la radioattività del Linfonodo sentinella viene confermata ex vivo dal gamma probe. Per essere considerato un linfonodo "caldo" la radioattività deve essere superiore a quella basale, come risulta dai valori riportati.

Fig. 5: Following excision, SLN radioactivity is confirmed ex vivo using the gamma probe, and must be above background activity to be classified as hot.

Bibliografia/References

1. Selverstone B, Sweet WH, Robinson CV. The clinical use of radioactive phosphorus in the surgery of brain tumors. *Ann Surg* 1949,130:643-651.
2. Geiger H, Müller W. Elektronenzählrohr zur messung schwächster aktivitäten. *Naturwissenschaften* 1928,16:617-618.
3. Harris CC, Bigelow RR, Francis JE, Kelly GG, Bell PR. A Cs(Ti)-crystal surgical scintillation probe. *Nucleonics* 1956,14:102-108.
4. Krag DN. Surgical resection and radiolocalization of the SLN in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol* 1993;2: 335-40.
5. Alex JC, Weaver DL, Fairbank JT, Rankin BS, Krag DN. Gammaprobe-guided lymph node localization in malignant melanoma. *Surg Oncol* 1993,2:303-308.
6. Alex JC, Krag DN. Gamma-probe guided resection of radiolabeled primary lymph nodes. *Surg Oncol Clin N Am* 1996,5:33-41.
7. Stoeckly SJ, Alkureishi LWT, Ross G. Sentinel node biopsy for early oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009,266:787-93.
8. Povoski SP, Neff RL, Mojzisek CM, et al. A comprehensive overview of radioguided surgery using gamma detection probe technology. *World Journal of Surgical Oncology* 2009,7:11.
9. Alkureishi LWT, Burak Z, Alvarez JA, Ballinger J, Bilde A, et al. Joint practice guidelines for radionuclide lymphoscintigraphy for sentinel node localization in oral/oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009, 36:1915-1936.
10. Vigili MG, Tartaglione G, Rahimi S, Mafera B, Pagan M. Lymphoscintigraphy and radioguided sentinel node biopsy in oral cavity squamous cell carcinoma: same day protocol. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007,264:163-167.
11. Tartaglione G, Vigili MG, Rahimi S, Celebrini A, Pagan M, Lauro L, Al-Nahas A, Rubello D. The impact of superficial injections of radiocolloids and dynamic lymphoscintigraphy on sentinel node identification in oral cavity cancer: a same-day protocol. *Nucl Med Commun.* 2008 Apr;29(4):318-22.
12. Kovács AF, Landes CA, Hamscho N, Risse JH, Berner U, Menzel C. Sentinel node biopsy as staging tool in a multi-modality treatment approach to cancer of the oral cavity and oropharynx. *Otolaryngol Head Neck Sug* 2005,132:570-576.
13. Civantos F, Zitsch R, Bared A. Sentinel Node Biopsy in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Surgical Oncology* 2007,96:330-336.
14. Ross GL, Soutar DS, MacDonald DG, et al. Sentinel node biopsy in head and neck cancer: preliminary results of a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2004, 11:690-696.
15. Tomifuji M, Shiotani A, Fujii H, et al. Sentinel node concept in clinically N0 laryngeal and hypopharyngeal cancer. *Ann Surg Oncol* 2008,15:2568-2575.
16. Flach GB, Bloemena E, Klop WMC, de Bree R, et al. Sentinel node biopsy in clinically N0 T1-T2 staged oral cancer: the Dutch multicenter trial. *Oral Oncol* 2014; 07.020.
17. Ross G, Shoaib T, Soutar D, Camilleri D et al. The use of sentinel node biopsy to upstage the clinically N0 neck in Head an Neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002,128:1287-1291.

18. Werner JA, Dunne AA, Ramaswamy A, Dalchow C, Behr T, et al. The sentinel node concept in head and neck cancer: solutions for controversies in N0 neck? *Head Neck* 2004;26:603-11.
19. Leusink FKJ, van Es RJJ, de Bree R, et al. Novel diagnostic modalities for assessment of the clinically node-negative neck in oral squamous-cell carcinoma. *Lancet Oncol* 2012;13:554-61.
20. Vermeeren L, Klop WMC van den Breckel MWM, Balm AJM, Nieweg OE, Valdes Olmos RA. Sentinel node detection in head and neck malignancies: Innovation in Radioguided Surgery. *J Oncol* 2009:618-746.
21. Heuveling DA, van Wert S, Karagozoglu KH, de Bree R. Evaluation of the use of freehand SPECT for sentinel node biopsy in early stage oral carcinoma. *Oral Oncol* 2015,51(3) 287-90.
22. Nakamura Y, Fujisawa Y, Nakamura Y, Maruyama H et al. Improvement of sentinel lymph node detection rate of cervical sentinel lymph node biopsy using real time fluorescence navigation with indocyanine green in head and neck skin cancer. *J Dermatol* 2013;40:453-7.
23. Vermeeren L, Valdes Olmos RA, Klop WM, Balm AJ, van den Brekel MW. A portable gamma-camera for intraoperative detection of sentinel nodes in the head and neck region. *J Nucl Med* 2010;51:700-03.
24. Heuveling DA, Karagozoglu KH, van Schie A, van Weert S, van Lingen A, de Bree R. Sentinel node biopsy using 3D lymphatic mapping by freehand SPECT in early stage oral cancer: a new technique. *Clin Otolaryngol* 2012;37:89-90.
25. van den Berg NS, Brouwer OR, Klop WM, 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.
26. Civantos FJ, Werner JA, Bared A Sentinel node biopsy in cancer of the oral cavity. *Oper Tech Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;16:275-85.
27. Waddington WA, Keshtgar MR, Taylor I, Lakhani SR, Short MD, Ell PJ. Radiation safety of the sentinel lymph node technique in breast cancer. *Eur J Nucl Med* 2000, 27:377-391.
28. Stratmann SL, McCarty TM, Kuhn JA. Radiation safety with breast sentinel node biopsy. *Am J Surg* 1999,178:454-457.
29. Scherer K, Studer W, Figueredo V, Bircher AJ. Anaphylaxis to isosulfan blue and cross reactivity to patent blu V: case report and review of the nomenclature of vital blue dyes. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006,96:497-500.

L'ESAME ISTOLOGICO DEL LINFONODO SENTINELLA NEI CARCINOMI DEL CAVO ORALE

C. Marani, M.E. Natale, S. Rahimi

Introduzione

Il carcinoma squamoso del cavo orale e oro-faringeo (CSCO) si diffonde attraverso la via linfatica nei linfonodi laterocervicali. La presenza di metastasi nei linfonodi laterocervicali rappresenta il più importante fattore prognostico nel CSCO, con una sopravvivenza a 5 anni, che varia dall'82% al 53%, a seconda dello stadio linfonodale¹⁻².

Pertanto, un'accurata stadiazione del collo è essenziale per determinare la prognosi e la necessità di un successivo piano di trattamento con multipli modelli terapeutici.

Il trattamento dei pazienti con stadi iniziali di CSCO (cT1-T2), con uno stadio linfonodale clinicamente e radiologicamente negativo (cN0), rimane controverso. Secondo l'opinione corrente di fronte a pazienti con stadi iniziali di CSCO (cT1-T2) si procede con uno svuotamento linfonodale di routine, con il simultaneo obiettivo di ottenere una precisa stadiazione e di rimuovere metastasi occulte. Tuttavia, dal momento che soltanto un 25%-30% dei pazienti con stadi iniziali di CSCO (cT1-T2), mostrano metastasi occulte nei linfonodi laterocervicali, lo svuotamento linfonodale può rappresentare un trattamento eccessivo³. Per tali motivi la tecnica della biopsia del linfonodo sentinella (LNS), si è evoluta diventando una metodica sempre più affidabile, per l'accurata determinazione dello stato linfonodale in pazienti con stadi iniziali di CSCO (cT1-T2; cN0)⁴.

Un dettagliato esame del LNS nei pazienti cN0, può fornire una stadiazione più accurata di quella basata sullo svuotamento linfonodale elettivo. Diversi studi riportano un'alta sensibilità e specificità di questa procedura, con una significativa percentuale di individuazione di metastasi pari al 95% e un valore predittivo negativo, per i linfonodi sentinella negativi, del 95%⁴⁻¹⁰.

Definizioni

I protocolli istopatologici per lo studio del LSN hanno lo scopo di provvedere a fornire più informazioni possibili riguardo la potenziale presenza di metastasi e di minimizzare il rischio di errori in termini di "over e/o

“underdiagnosis” delle metastasi. Con il susseguirsi degli studi sul LSN, inizialmente concernenti il melanoma ed il carcinoma della mammella, si è stabilita la necessità di eseguire multiple sezioni istologiche seriate dell'intero linfonodo, corredate da indagini immunoistochimiche; in questo modo si è osservata l'esistenza di diversi tipi depositi tumorali nei LSNs, il che ha causato una certa confusione nella terminologia e nella classificazione degli stessi¹¹.

Va subito precisato, ad esempio, che la maggior parte degli autori in passato usava erroneamente il termine di “micrometastasi” come sinonimo di “metastasi occulte”, laddove invece il termine “metastasi occulta”, indica la presenza di metastasi linfonodale nei pazienti clinicamente negativi (cN0)¹².

Ad oggi si osservano tre diversi tipi di depositi neoplastici, che secondo la classificazione UICC-TNM (Tab. I-Fig. 1), vengono definiti come:

- 1. Cellule tumorali isolate (ITC):** cellule neoplastiche singole o piccoli gruppi di cellule della dimensione massima <0,2 mm (Fig. 2).
- 2. Micrometastasi (Mi):** aggregati di cellule neoplastiche della dimensione massima $\geq 0,2$ mm e ≤ 2 mm (Fig. 3).
- 3. Macrometastasi:** aggregati neoplastici della dimensione massima > 2 mm (Fig 4, 4a, 4b).

Classificazione TNM generica per i linfonodi sentinella
pNX (sn) i linfonodi sentinella non possono essere definiti pN0 (sn) non metastasi nei linfonodi sentinella pN1 (sn) metastasi nei linfonodi sentinella
I linfonodi sentinella con sole micrometastasi sono identificati come (mi)
pN1 (sn) (mi) micrometastasi in singolo linfonodo sentinella omolaterale pN2 (sn) (mi) micrometastasi in multipli linfonodi sentinella omolaterali
I linfonodi sentinella con cellule tumorali isolate vengono definiti diversamente se individuate con tecniche morfologiche o non morfologiche come PCR o citometria a flusso.
pN0 (i-) (sn) Non metastasi linfonodali istologicamente individuate in linfonodi sentinella, non reperti morfologici di cellule tumorali isolate ITC pN0 (i+) (sn) Non metastasi linfonodali istologicamente individuate in linfonodi sentinella, presenza di reperti morfologici di cellule tumorali isolate ITC pN0 (mol-) (sn) Non metastasi linfonodali istologicamente individuate in linfonodi sentinella, non reperti non-morfologici di cellule tumorali isolate ITC pN0 (mol+) (sn) Non metastasi linfonodali istologicamente individuate in linfonodi sentinella, presenza di reperti non-morfologici di cellule tumorali isolate ITC

Tab. I: Classificazioni UICC-TNM.

Nella valutazione di tali depositi, risulta problematica soprattutto la distinzione tra Mi e ITC, e pertanto ci si avvale di ulteriori criteri derivanti dagli studi di Hermanek e coll.¹³ (Tab. II).

Protocollo istopatologico

Nella procedura dell'esame istopatologico del LNS dei tumori del cavo orale ed orofaringeo si segue il protocollo di Canniesburn¹⁴.

Una volta rimosso, il LSN viene fissato in formalina tamponata al 10% per 24 ore. Se il LNS è più piccolo di 5 mm viene processato e incluso direttamente in paraffina, senza essere sezionato. Per LSN della dimensione massima maggiore di 5 mm, l'intero LSN viene tagliato in due lungo l'ilo o, se questo non è reperibile, lungo il suo asse maggiore.

Se lo spessore delle due emiparti è superiore a 2,5 mm, vengono effettuate ulteriori sezioni dello spessore di 2 mm. Il LSN viene incluso in toto. Si esegue quindi un esame istologico di routine sulle sezioni iniziali, colorate con Ematossilina-Eosina (E&E) e, nel caso in cui si reperino depositi neoplastici, non si procederà all'allestimento di ulteriori sezioni.

Se al contrario non si riscontra presenza di metastasi, verranno allestite delle serie costituite ognuna da sei sezioni seriate dal blocchetto (numerate da 1-6), con un intervallo di taglio di 150 micron, fino ad esaurimento dell'intero linfonodo. Per ciascun livello una sezione verrà colorata con E&E.

Se non si reperta metastasi, la sezione istologica immediatamente successiva verrà esaminata con esame immunoistochimico utilizzando anticorpi anti-citocheratine AE1/AE3.

CRITERI	ITC	MICROMETASTASI
Dimensione	Cellule tumorali singole o piccoli gruppi	Inferiore a 2 mm
Contatto con la parete del vaso linfatico	No	Si
Invasione del vaso linfatico	No	Si
Reazione stromale extrasinusoidale	No	Generalmente Si
Proliferazione extrasinusoidale di cellule neoplastiche	No	Si

Tab. II: Criteri per la diagnosi di ITC e Micrometastasi sec. Hermanek e coll¹³.

La positività alla colorazione immunohistochimica con anticorpi anti-citocheratina AE1/AE3, deve essere comparata con la sezione colorata in E&E, a confermare che morfologicamente tali cellule siano cellule tumorali (Tab. III).

Tutti i casi sono quindi classificati secondo un codice in accordo con il trial multicentrico di Canniesburn¹⁴ descritto nella Tab. IV.

Attualmente, sono in corso ulteriori studi con protocolli che prevedono diverse modalità di sezionamento del linfonodo, al fine di migliorare l'individuazione dei depositi neoplastici e rendere più netto il confine tra le ITC e le Mi. Il significato prognostico delle ITC e Mi è ancora oggi materia di dibattito. A tal proposito, mentre il riscontro delle Mi repertate nel LSN

Esame macroscopico
Fissazione del linfonodo/i in formalina tamponata al 10% (o equivalenti) per 24 h Descrizione macroscopica con misurazione delle dimensioni del linfonodo/i Palpazione e rimozione del tessuto adiposo in eccesso e isolamento del linfonodo/i. (evitando di danneggiarne la superficie)
Campionamento
Linfonodo/i con dimensione inferiore a 2 mm: processazione senza sezionamento Linfonodo/i con dimensione maggiore fino a 5 mm: sezionare in due lungo l'ilo, o se questo non è reperibile, lungo l'asse maggiore e includere entrambe le metà Linfonodo/i con dimensione maggiore di 5 mm: sezionare ulteriormente con sezioni di 2 mm lungo l'asse maggiore e includere tutte le sezioni
Allestimento delle sezioni
Allestire sezioni di routine colorate con E&E e riportare se positiva la ricerca di depositi metastatici; se negativa procedere con il protocollo Allestire sei sezioni seriate, numerate da 1-6 Scartare 150µm (possono essere conservate per ricerche) Allestire ulteriori sei sezioni seriate numerate, esaurendo tutto il linfonodo Colorare con E&E tutte le sezioni numerate con il n° 3 Riportare se è positiva la ricerca di depositi metastatici e se negativa o equivocabile Eseguire indagine immunohistochimica con anticorpo anti-citocheratine AE1/3, sulle sezioni numerate con il n° 2 Esaminare l'eventuale positività. Comparare la positività immunohistochimica con la sezione colorata con E&E Utilizzare le rimanenti sezioni, se richiesto

Tab. III: Protocollo istopatologico.

Codice	Descrizione
1	Positivo per tumore nella prima sezione colorata con E&E.
2	Negativo per tumore nella prima sezione, ma positivo alle successive sezioni seriate colorate con E&E.
3	Negativo agli stadi 1 e 2 ma positivo all'indagine immunohistochimica. Per essere classificato come positivo per cellule neoplastiche, il preparato deve contenere cellule positive all'indagine immunohistochimica che siano inoltre cellule citologicamente nucleate, e con le stesse caratteristiche morfologiche visibili nelle sezioni colorate con E&E. Se la positività alla citocheratina non è corredata con la morfologia cellulare, si applica il codice 4.
4	Presenza di cellule citocheratina positive, che non mostrano tuttavia caratteri di cellule vitali. Tale positività può verosimilmente essere espressa da cellule necrotiche, cellule apoptotiche, costituite da corpi eosinofili senza nuclei, oppure da macrofagi che hanno fagocitato prodotti neoplastici. Generalmente queste cellule si dispongono singolarmente e non in piccoli gruppi coesivi. La decisione di classificare un risultato simile in questa categoria, impone di comparare attentamente le sezioni seriate colorate con E&E con le sezioni dei preparati immunohistochimici.
5	Negativo in tutti gli stadi.
6	Negativo alla prima colorazione con E&E senza l'esecuzione di ulteriori sezioni, dal momento che altri linfonodi sentinella contengono aspetti tipici, morfologici e/o immunohistochimici, di metastasi.

Tab. IV

sembra associarsi ad una maggiore probabilità di metastasi nei linfonodi non sentinella dello svuotamento, ancora non sono chiare le implicazioni prognostiche delle ITC¹⁵. Un recente studio¹⁶ sulla distribuzione tridimensionale delle metastasi occulte nel LSN del distretto testa-collo, mostra un'alta correlazione tra la distribuzione delle Mi e delle ITC, che supporterebbe la teoria che le ITC siano precursori delle Mi. Lo stesso studio ha dimostrato come più del 60% dei depositi neoplastici, si localizzi al polo afferente del linfonodo, e come le Mi e le ITC nel LSN del distretto testa-collo, mostrino una distribuzione prevalente lungo il piano centrale, in stretta prossimità dei vasi linfatici nei tre assi del linfonodo.

Altri studi riportano invece una distribuzione random delle ITC e delle Mi nel LSN del melanoma e nella stessa metà del linfonodo dove è localizzato il polo afferente nel LSN dei carcinomi della mammella.¹⁷⁻¹⁸

Attualmente, sono sempre più numerosi gli studi che dimostrano come il LSN sia la metodica che consenta la miglior stadiazione possibile per i tumori del cavo orale negli stadi iniziali, evitando circa il 70% di svuota-

menti inutili^{2,5,20}; l'elevata incidenza di metastasi occulte (20-30%) e l'impatto negativo sulla prognosi della malattia metastatica, tuttavia fanno rimanere lo svuotamento elettivo il gold standard per la maggior parte degli Autori¹⁹.

Diagnosi intraoperatoria di metastasi nel LNS e metodiche molecolari

Lo scopo dell'esame istologico intraoperatorio del LSN è quello di individuare le metastasi occulte, per poter procedere nell'immediato allo svuotamento linfonodale terapeutico, risparmiando al paziente un eventuale secondo intervento chirurgico. La valutazione intraoperatoria può essere effettuata mediante "citologia per apposizione" o l'analisi di "sezioni al criostato congelatore", entrambe eventualmente correlate dalla colorazione immunoistochimica rapida con anticorpo anti-citocheratina.

La tecnica maggiormente utilizzata nella pratica è rappresentata dalle sezioni al criostato congelatore, che tuttavia ha dimostrato un'alta sensibilità solo con la tecnica delle multi-sezioni ("multislides"); tale tecnica si è dimostrata superiore, nell'individuazione delle micro metastasi, alla citologia per apposizione e alla tecnica con mono-sezione (monoslide)²⁰. Gli svantaggi sono rappresentati da un'eccessiva perdita di tessuto e di potenziali micro metastasi; richiede un significativo impegno di risorse e personale, non attuabile in tutti i centri e può esigere tempi d'esecuzione non compatibili con quelli chirurgici.

La sensibilità di entrambe le metodiche, citologia per apposizione e criostato congelatore, è risultata relativamente bassa, in quanto solo una parte del tessuto linfonodale può essere esaminato nel contesto intraoperatorio. Ne deriva pertanto un potenziale rischio di falsi negativi che può essere identificato solo successivamente, nel corso di esame istologico definitivo.

Diversamente dalle tecniche morfologiche, le metodiche molecolari si basano sull'identificazione, nel LSN, del RNA messaggero (mRNA) delle proteine espresse dalla neoplasia primitiva, e sulla sua quantificazione in termini di n° copie/microlitro, permettendo in tal modo di individuare ITC, Mi e Ma.

Tali metodiche sono già ampiamente in uso per il carcinoma mammario e per il melanoma, ma non ancora pienamente accettate per il carcinoma squamoso del distretto testa-collo.

Le principali metodiche ad oggi in uso sono la "Real-time RT-PCR" e "One step nucleic acid amplification (OSNA)". La prima sulla base sulla identificazione e quantificazione del mRNA di diverse citocheratine nel

linfonodo in esame, ed in particolare CK5, CK14 e CK17. Tale tecnica tuttavia richiede un eccessivo tempo di esecuzione (circa 3 ore), e non è particolarmente efficiente nell'individuazione delle ITC. La seconda è una metodica, nuova già ampiamente applicata per il carcinoma della mammella, e prevede l'identificazione del mRNA della citocheratina 19. Tale tecnica consente l'esame dell'intero linfonodo in tempi compatibili con quelli chirurgici (circa 30 minuti).

Malgrado i risultati incoraggianti delle tecniche molecolari nell'individuazione di metastasi nei carcinomi squamosi del distretto testa-collo^{22,23}, ad oggi il "gold standard" per la stadiazione è rappresentato ancora dalle metodiche istopatologiche e immunoistochimiche convenzionali.

HISTOPATHOLOGICAL EXAMINATION OF SENTINEL NODE IN ORAL CAVITY SQUAMOUS CELL CARCINOMA

C. Marani, M.E. Natale, S. Rahimi

Introduction

Oral and oro-pharyngeal squamous cell carcinoma (SCC) spreads through lymphatic pathways to the cervical lymph nodes.

The presence of metastasis in neck lymph nodes is the single most important adverse prognostic factor with overall 5 years survival dropping from 82 to 53% as a result of regional lymphatic involvement¹⁻².

Accurate staging of the neck is vital for a prognosis and is often essential for planning further treatment when using multiple therapeutic modes.

The management of the clinically and radiologically negative (cN0) neck in patients with early oral and oro-pharyngeal SCC remains controversial. Currently most centres undertake routine elective neck dissection for cT1-T2 oral and oro-pharyngeal SCC in order to simultaneously stage the neck and remove any occult disease. However, neck dissection remains a “double edged sword” resulting, in many cases as, overtreatment of cT1-T2 oral and oro-pharyngeal SCC.

Only 25–30% of patients actually harbour occult neck disease³.

It is not surprising that the procedure of biopsy of the sentinel lymph (SLN) node has been improved greatly during the past years and has become a reliable technique for initial stage oral and oro-pharyngeal SCC (cT1-T2; cN0)⁴.

Detailed histopathological examination of SLN may provide a more accurate staging than current elective neck dissection protocols.

Most studies report a high sensitivity and specificity of this procedure and so far the published data show a consistent pattern of sentinel node detection rates to be above 95% and negative predictive values for negative sentinel nodes as 95%⁴⁻¹⁰.

Definition of concepts

The aim of histopathological examination of SLN is to provide precise information regarding the status of the lymph node and to minimise the risk error of over and/or underdiagnosing of metastases.

The initial procedures for histopathological evaluation of SLN began with melanoma and breast carcinoma. With the advent of different histological protocols, the necessity of serial step sections of a entire lymph node, associated with immunohistochemical examination, has become evident. In using this procedure different types of metastasis were observed, causing confusion in the terminology and classification of tumoural deposits¹¹. For example most authors used the term “micrometastasis” as a synonym of “occult metastasis” to indicate a metastasis in clinically negative lymph nodes. While the term “occult” describes nodal metastatic disease that has not been detected by clinical staging investigation (cN0)¹².

At present three different types of metastasis has been defined by UICC-TNM (Tab. I, Fig. 1) for comparison between different codes:

1. **Isolated Tumoural Cells (ITC):** single and/or clusters of neoplastic cells less than 0.2 mm in maximum dimension (Fig. 2).
2. **Micrometastasis (Mi):** maximum dimension between 0.2 mm and 2 mm (Fig. 3)
3. **Macrometastasis:** tumoural deposit greater than 2 mm in maximum dimension (Fig 4, 4a, 4b).

The differential diagnosis between ITC and Mi is quite problematic, hence additional criteria have been added¹³ (Tab. II).

Generic TNM coding for sentinel nodes
pNX (sn) Sentinel lymph node could not be assessed pN0 (sn) No sentinel lymph node metastasis pN1 (sn) Sentinel lymph node metastasis
Sentinel lymph nodes with micrometastasis only are identified by (mi)
pN1 (sn) (mi) Single ipsilateral sentinel lymph node micrometastasis pN2 (sn) (mi) Multiple ipsilateral sentinel lymph node micrometastasis
Sentinel lymph nodes with isolated tumour cells coded separately for morphological and nonmorphological techniques such as PCR or flow cytometry
pN0 (i-) (sn) No sentinel lymph node metastasis histologically, negative morphological findings for isolated tumour cells (ITC) pN0 (i+) (sn) No sentinel lymph node metastasis histologically, positive morphological findings for isolated tumour cells (ITC) pN0 (mol-) (sn) No sentinel lymph node metastasis histologically, negative nonmorphological findings for isolated tumour cells (ITC) pN0 (mol+) (sn) No sentinel lymph node metastasis histologically, positive nonmorphological findings for isolated tumour cells (ITC)

Tab. I: Comparison of UICC-TNM classifications.

CRITERIA	ITC	MICROMETASTASES
Size	Single tumor cells or small clusters	Smaller than 2 mm
Contact with lymph sinus wall	No	Si
Invasion of lymph sinus wall	No	Si
Extrasinusoidal stromal reaction	No	Usually yes
Extrasinusoidal tumor cell proliferation	No	Si

Tab. II: Criteria of ITC and Micrometastasis according to Hermanek et al.¹³

Histopathological protocol

The Canniesburn protocol is used for histopathological examination of sentinel lymph node¹⁴.

Sentinel nodes are fixed in 10% neutral buffered formalin and, after fixation, are bisected through the hilum, if identifiable, or through the long axis of the node. If the thickness of the each half is more than 2mm the slices are further trimmed to provide additional 2 mm thick blocks. If sentinel nodes are found to be tumour free on initial histological examination step-serial sections will be prepared at an additional six levels in the block at approximately 150 μ intervals.

One Hematoxylin and Eosin (H&E) stained section will be prepared at each level. If the nodes still appear histologically negative, an immediately adjacent section from each level will be then examined by immunocytochemistry using the multi-cytokeratin antibody AE1/AE3 (Tab. III).

In order to unify and homogenise the data collected from each centre, a pathology code was created (Tab. IV).

It is worth mentioning, that the presence of Mi appears to be associated with a higher probability of metastasis in non-sentinel lymph nodes in neck dissection, while the prognosis of ITC is still unclear¹⁵.

A recent study on tridimensional distribution of occult metastases in head and neck SLN shows a high association between the distribution of Mi and ITC revealing the possibility that ITC are precursors of Mi.

Furthermore, the same study shows that in SLN different malignancies have different patterns of Mi, SCC of the head and neck have a predilection for the central part of lymph nodes near to lymphatic vessels, the

Gross sectioning
<p>Fix basin or node in 10% neutral buffered formalin (or equivalent) for 24 h, as per good laboratory practice</p> <p>Macroscopic description and dimensions of nodes</p> <p>Palpate and trim excess fat to reveal node(s) (avoid damage to node periphery)</p>
Sectioning
<p>Nodes too small to divide (less than 2 mm) – process whole</p> <p>Nodes up to 5 mm – cut through the hilum or longest pole to pole diameter, process both halves en face</p> <p>Nodes greater than 5 mm – cut into 2 mm slices longest pole to pole, process all slices en face</p>
Step sectioning
<p>Prepare routine H&E section, report metastatic disease if present and if negative go on to</p> <p>Mount six exact serial sections, separately number 1-6</p> <p>Discard 150µm (may be saved for research)</p> <p>Mount further six numbered serial sections, continue through entire block</p> <p>Stain all number 3 sections by H&E method</p> <p>Report metastatic disease is present and if negative or equivocal</p> <p>Immunocytochemistry on all number 2 sections using a pancytokeratin antibody (AE/3)</p> <p>Examine for positivity</p> <p>Compare positivity with “Conclusion” H&E</p> <p>Use remaining sections if required</p>

Tab. III: Histopathological protocol for sentinel nodes

distribution of melanoma micrometastases are random, and the Mi of breast carcinoma are within the same half of afferent pole¹⁶⁻¹⁸. Sentinel node biopsy has been successfully validated in many studies on early oral SCC and has the potential to become a new standard of care for staging and treatment of the cN0 neck in these tumours^{2,5,20}. At present however, due to the aforementioned controversies, considering the bad prognosis of metastatic disease and the relatively high risk of occult metastasis (approximately 20%-30%) in early oral and oropharyngeal SCC (cT1-T2), the standard treatment and staging remains elective neck dissection¹⁹.

Pathology code	Description
1	Tumour positive on first H&E examination.
2	Initially tumour negative, but tumour positive on examination of H&E of step serial sections.
3	Negative at stages 1 and 2 but positive by immunohistochemistry. To be categorised as tumour positive there must be cells which are both positive by immunocytochemistry and are cytologically seen to be nucleated cells with the characteristics of viable epithelial cells in both the immunocytochemical preparation and the serial H&E section. Cytokeratin positivity lacking the cytological features of viable tumour cells is categorised as 4.
4	Cytokeratin positivity not showing the features of viable tumour cells. This positivity is likely to represent either dying tumour cells, possibly apoptotic cells, characterised by being eosinophilic bodies lacking normal nuclei, or macrophages with phagocytosed tumour products. Usually these cells will be single and not small cohesive groups. The decision to allocate nodes to this category requires careful comparison of the serial H&E and immunocytochemical preparations.
5	Negative at all stages.
6	Negative on first H&E examination. Further examination not performed since other sentinel nodes contained viable tumour either on H&E or immunohistochemistry.

Tab. IV

Frozen section of SLN

The aim of frozen section analysis of SLN is to detect occult metastases in order to proceed with neck dissection during the same surgical session. This method avoids additional surgical intervention. Such an approach, in the event of a negative result for metastasis, will avoid unnecessary neck dissection in approximately 70% of patients who do not have a risk of metastatic disease.

Intraoperative morphological analysis consists of imprint cytology and/or histological examination of a frozen section with the additional benefit of rapid immunohistochemical analysis with cytokeratins. Thus, it is the most frequently used technique is histological examination of frozen sections. However, it shows high sensitivity, only when serial multistep sections are performed and examined. This technique shows superiority over imprint cytology and histological single section examinations in the detection of Mi in SLNs²⁰.

However, the serial multistep section method, is not compatible with the time of surgical intervention, and the procedure may cause loss of tissue including potential Mi.

In addition, it is time consuming and cost ineffective, hence, not feasible in all centres.

Molecular techniques

Conventional intra-operative analysis of the sentinel lymph node has, until today, been performed by frozen section or touch imprint with rapid haematoxylin and eosin staining. The sensitivity of these histopathological methods is relatively low because only a small proportion of the lymph node tissue can be investigated in an intra-operative setting. As a result, there is a risk of false-negative results which may only be identified by subsequent postoperative examination.

Instead of morphology the molecular techniques are based on the detection, within the lymph node of the mRNA of proteins expressed by primitive neoplasms. The specific mRNA can be quantified (copies/ μ l) allowing ITC, Mi and macrometastasis detection.

These methods are widely used for breast carcinoma and melanoma but are not fully accepted for head and neck squamous cell carcinoma.

The main methods are Real-time RT-PCR and One Step Nucleic acid Amplification (OSNA). The former is based on detecting mRNA of different types of cytokeratins such as CK5, CK14 and CK 17 within the lymph node. This technique is time consuming (approximately 3 hours) and not particularly efficient in detecting ITC. The latter is a new and widely established diagnostic approach for the detection of the CK 19 mRNA expression characteristic of breast carcinoma. This method enables analysis of the whole lymph node in an intra-operative time-frame (approximately 30 minutes).

Despite the encouraging results of molecular techniques to detect metastasis in oral and oropharyngeal SCC²²⁻²³ the gold standard is still histopathology and immunohistochemistry.

Immagini/Images

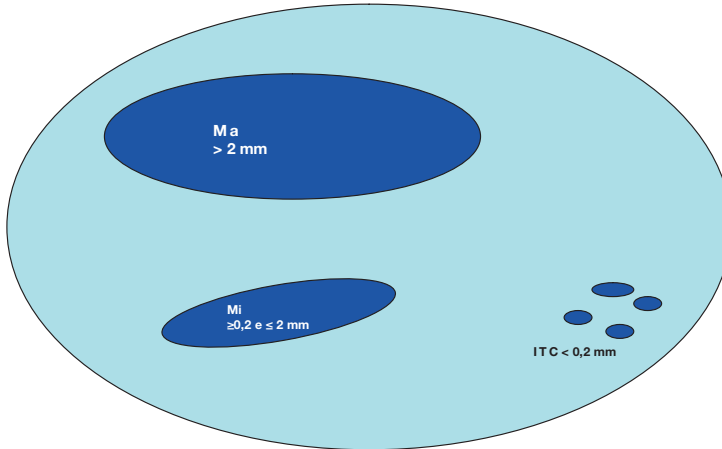


Fig. 1: Criterio dimensionale: Cellule isolate singole (ITC) (<0,2 mm); Micrometastasi (Mi) ($\geq 0,2$ e ≤ 2 mm); Macrometastasi (Ma) (> 2mm).

Fig 1: Isolated tumour cells (ITC) (<0,2 mm); Micrometastasis (Mi) ($\geq 0,2$ e ≤ 2 mm); Macrometastasis (Ma) (>2mm).

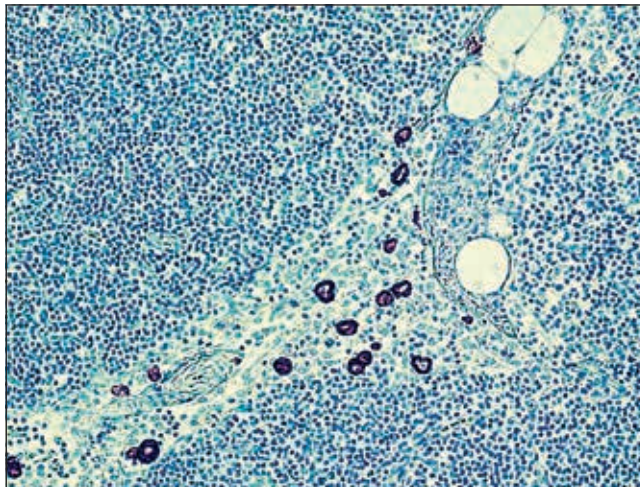


Fig. 2: Indagine immunohistochemica con anticorpo anti-citocheratine (AE1/AE3) rivela la presenza di cellule isolate singole (ITC).

Fig. 2: Immunohistochemistry with anti-cytokeratin antibody (AE1/AE3) reveals the presence of single isolated tumour cells (ITC).

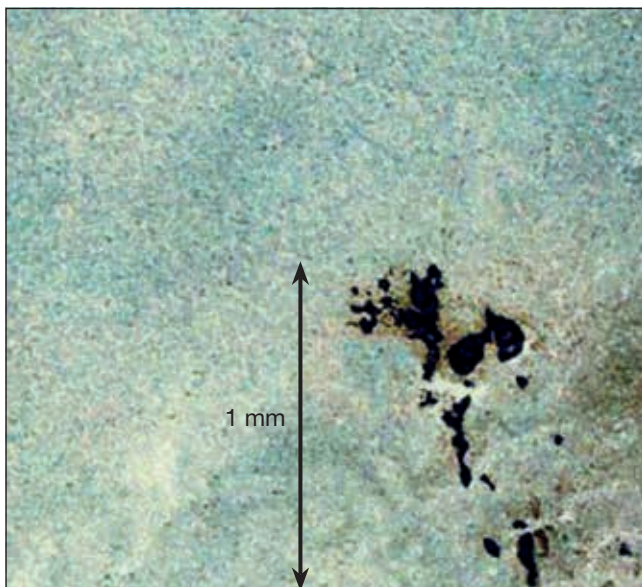


Fig 3: Indagine immunocistochemica con anticorpo anti-citocheratine (AE1/AE3) rivela la presenza di micrometastasi.

Fig 3: Immunohistochemistry with anti-cytokeratin antibody (AE1/AE3) shows micrometastasis.

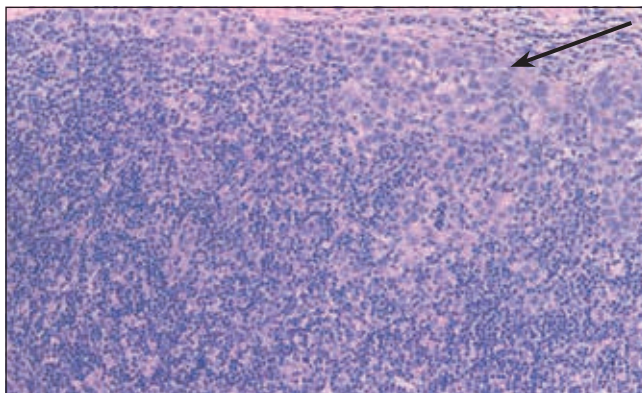


Fig 4: Macrometastasi. Localizzazione neoplastica nel seno sottocapsulare.

Fig 4: Macrometastasis. Neoplastic squamous cells within subcapsular sinus.

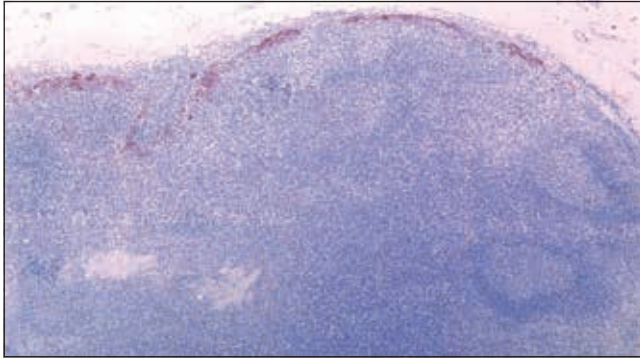


Fig. 4a: Macrometastasi. Indagine immunohistochimica con anticorpo anti-citocheratine (AE1/AE3) rivela diffusa localizzazione nel seno sottocapsulare.

Fig. 4a: Macrometastasis. Immunohistochemistry with anti-cytokeratin (AE1/AE3) antibody shows diffuse positive staining within sub-capsular sinus.

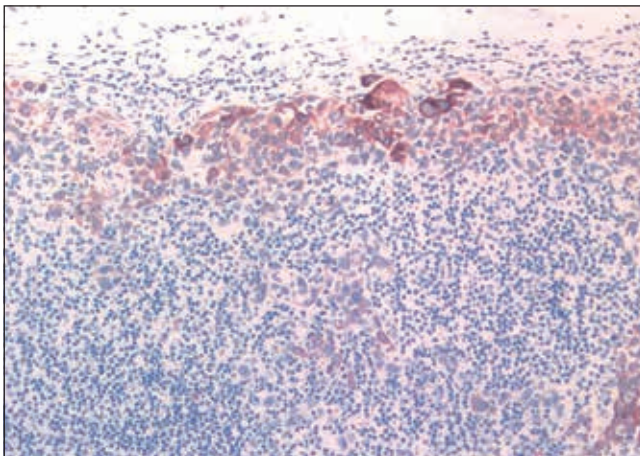


Fig. 4b: Maggior ingrandimento della precedente.

Fig. 4b: Higher magnification.

Bibliografia/References

1. Leemans CR, Tiwari R, Nauta JJ, van der Waall, Snow GB. Regional lymph node involvement and its significance of distant metastases in head and neck carcinoma. *Cancer* 1993;71:452-456.
2. Stoeckli SJ, Alkureishi LWT, Ross GL. Sentinel node biopsy for early oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol.* 2009;266:787-93.
3. Ferlito A, Silver CE, Rinaldo A. Elective management of the neck in oral cavity squamous carcinoma: current concepts supported by prospective studies. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2009;47:5-9.
4. Broglie MA, Stoeckli SJ. Relevance of sentinel node procedures in head and neck squamous cell carcinoma. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2011;55:509-520.
5. Broglie MA, Haile SR, Stoeckli SJ. Long-term experience in sentinel node biopsy for early oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2011; 18:2732-2738.
6. Stoeckli SJ. Sentinel node biopsy for oral and and oropharyngeal squamous cell carcinoma of head and neck. *Laryngoscope* 2007;117:1539-1551.
7. Ross GL, Soutar DS, MacDonald DG et al. Sentinel node biopsy in head and neck cancer: preliminary results of a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2004;11:690-6.
8. Civantos F, Zitsch R, Bared A. Sentinel node biopsy in oral squamous cell carcinoma. *J Surg Oncol* 2007;96:330-336.
9. Kovasc AF, Stefanelli U, Seitz O et al. Positive sentinel lymph node are a negative prognostic factor for survival in T1-2 oral/oropharyngeal cancer a long-term study on 103 patients. *Ann Surg Oncol* 2009;16:233-239.
10. Alkureishi LW, Ross GL, Shoaib T et al. Sentinel node biopsy in head and neck squamous cell cancer: 5 years follow-up of a European multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2010;17:2459-2464.
11. Stoeckli SJ, Pfaltz M, Stainert H, Schmid S. Histopathological features of occult metastasis detected by sentinel lymph node biopsy in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2002;112:111-115.
12. Ross GL, Soutar DS, MacDonald DG et al. Sentinel node biopsy in head and neck cancer: preliminary results of a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2004;11:690-6.
13. Hermanek P, Hutter RVP, Sobin LH, Wittekind C. International Union Against Cancer Classification of isolated cells and micrometastasis. *Cancer* 1999;86:2668-2673.
14. Shoaib T, Soutar DS, Prosser JE, et al. A suggested method for sentinel node biopsy in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 1999;21:728-733.
15. Atula T, Hunter KD, Cooper LA, Shoaib T, Ross GL, Soutar DS. Micrometastases and isolated tumor cells in sentinel lymph nodes in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *EJSO* 35 2009;532-538.
16. Denoth S, Broglie MA, Haerle SK, et al. Histopathological mapping of metastatic tumor cells in sentinel lymph nodes of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head and Neck* 2014.

17. Riben-Hansen R, Nyengaard JR, Hamilton-Dutoi SJ, Steiniche T. The nodal location of metastases in melanoma sentinel lymph node. *Am J Surg Pathol* 2009;33: 1522-1528.
18. Paish EC, Green AR, Rakha EA, Macmillan RD, Maddison JR, et al. Three-dimensional reconstruction of sentinel lymph node with metastatic breast cancer indicates three distinct patterns of tumor growth *J Clin Pathol* 2009;62:617-267.
19. Gurney BA, Schilling C, Putche V, Alkureishi LW, Alvarez AJ, et al. Implication of a positive sentinel node in oral squamous cell carcinoma *Head and Neck D-OI* 10.1002/hed November 2012.
20. Civantos FJ, Stoeckly SJ, Takes RP, Woolgar JA, et al. What is the role of sentinel node biopsy in the management of oral cancer in 2010? *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2010;267:839-844.
21. Terada A, Hasegawa, Yatabe Y, Hyodo I, et al. Intraoperative diagnosis of cancer metastatic in sentinel lymph node of oral cancer patients. *Oral oncology* 2008; 44:838-843.
22. Garrel R, Dromard M, Costes V, et al. The diagnostic accuracy of reverse transcription-PCR quantification of cytokeratin mRNA in the detection of sentinel lymph node invasion in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a comparison with immunohistochemistry. *Clin. Cancer Res* 2006; 12 (8) April 15, 2006.
23. Goda H, Nakashiro K, Oka R, et al. One-step nucleic acid amplification for detecting lymph node metastasis of head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncology* 2012;48:958-963.

**LA LETTERATURA: RISULTATI E PROBLEMI
NELLA PROCEDURA DEL LINFONODO SENTINELLA
NEL CARCINOMA DEL CAVO ORALE**

C. Grandi

Il carcinoma squamocellulare della testa e del collo (CSTC) è principalmente una malattia loco-regionale. Determinare la presenza di una singola metastasi regionale può trasformare un piccolo tumore di Stadio I in un carcinoma avanzato di stadio II o anche IV. Il coinvolgimento dei linfonodi cervicali può ridurre la sopravvivenza fino al 50%¹. Il carcinoma squamocellulare del cavo orale e orofaringeo (CSOO) è uno dei più comuni carcinomi al mondo, con più di 274.000 casi all'anno².

Il trattamento dei pazienti senza evidenza clinica e radiologica di metastasi regionali (N0) rimane controverso. La modalità più precisa per diagnosticare le metastasi regionali occulte è lo studio anatomopatologico dei linfonodi cervicali, così che gli svuotamenti cervicali elettivi (SCE) sono tradizionalmente raccomandati quando la dimensione del tumore e la sottosedo condizionano un rischio di almeno 15-20% di diffusione linfatica³, il che implica che questa procedura può essere non necessaria per il rimanente 80% dei pazienti. La prevalenza di metastasi regionali occulte nel CSOO è alta, con molte serie che la riportano superiore al 30%⁴⁻⁶.

Il concetto della biopsia del linfonodo sentinella (BLS) è basato sul principio che l'identificazione e accertamento dei linfonodi del primo livello di diffusione metastatica forniscono informazione sullo stato del resto del collo. Con materiali radioattivi e/o con coloranti vitali intorno all'area del tumore, sono identificati dal primo al terzo livello, con l'aiuto di gamma camere e sonde intraoperatorie; questi linfonodi sono successivamente prelevati e analizzati per la ricerca di depositi neoplastici. Dal punto di vista anatomopatologico questi linfonodi sono sottoposti ad un'analisi molto più approfondita, perché la mancata identificazione di piccoli depositi nel linfonodo può portare all'errata decisione di non trattare il collo.

L'assunzione qui è che, se i linfonodi di questo livello sono negativi per depositi secondari, è improbabile che il resto del collo abbia metastasi, evitando così ulteriori trattamenti regionali.

Sebbene il concetto fosse stato descritto negli anni sessanta, è stato Morton⁷ che ha pubblicato il primo report descrivendo l'uso del blue

dye e del tracciante radioattivo per identificare con successo il linfonodo sentinella nel melanoma maligno⁸. Una curva di apprendimento è associata ad ogni nuova tecnica e degli studi di validazione sono stati effettuati per confermare l'applicazione del mappaggio linfatico intraoperatorio e della linfoadenectomia mirata nel trattamento del melanoma allo stadio iniziale⁸.

È stato dimostrato che, nei pazienti con melanoma allo stadio iniziale, lo svuotamento linfatico selettivo effettuato solo dopo conferma di un linfonodo sentinella positivo è terapeuticamente equivalente ad uno svuotamento elettivo⁹.

Krag e al.¹⁰ hanno per primi applicato il mappaggio del linfonodo sentinella con tracciante radioattivo e la sonda gamma nel trattamento del carcinoma della mammella nel 1993. Al momento la BLS è diventata la procedura standard per la ricerca dei linfonodi ascellari nello staging della malattia con ascella clinicamente negativa in ragione della sua accuratezza e della limitata morbidità e invasività¹¹.

Nei carcinomi della testa e del collo, sono stati effettuati studi positivi solo nel 1999, sette anni dopo che la tecnica si era consolidata per altri tumori.

Questo, in combinazione con la ridotta incidenza dei carcinomi del cavo orale e orofaringe in confronto con il melanoma ed il carcinoma della mammella, ha comportato necessariamente dei gruppi più piccoli di pazienti studiati e complessivamente una quantità di letteratura più ridotta. Tuttavia, anche se questa è una tecnica relativamente nuova nella chirurgia cervico-facciale, nell'ultima decade un significativo numero di centri in tutto il mondo ha effettuato studi pilota sull'efficacia diagnostica di questa procedura nel CSTC. Quattro meta-analisi di queste esperienze sono state pubblicate in questo periodo¹²⁻¹⁵. Inizialmente la procedura è stata limitata al carcinoma del cavo orale, ma è stata successivamente estesa anche ai tumori della faringe e della laringe.

Il più importante criterio di inclusione per la BLS è la presenza di un collo clinicamente negativo, in base alla valutazione fisica e all'imaging clinico mediante TAC, RMN, ecografia con eventuale agoaspirazione con ago sottile o PET con o senza TC. Rimane un considerevole dibattito sulla migliore modalità di imaging e nessuna al momento ha la capacità di identificare le micrometastasi tumorali, ma tutte comportano un miglioramento rispetto alla semplice palpazione e sono pertanto raccomandate prima della BLS.

Precedenti studi sull'uso della BLS nel CSTC e nel tumore della mammella hanno dimostrato che la presenza di metastasi linfonodali manifeste è un fattore predittivo negativo indipendente per il prelievo del linfonodo sentinella¹⁶⁻¹⁹. Un massivo coinvolgimento linfonodale può produrre

una distorsione della normale architettura, con un aberrante drenaggio linfatico e una biopsia falsamente negativa dei linfonodi¹⁶⁻¹⁹.

Anche altri fattori sono stati riportati correlati con la probabilità di insuccesso nel prelievo del linfonodo sentinella.

Una neoplasia primitiva avanzata (T3-T4) è stata associata ad un'alta percentuale di fallimento: un tumore di grosse dimensioni è più difficile da circondare con le iniezioni del radiocolloide o del colorante vitale, con conseguente maggiore inconsistenza nell'identificazione del drenaggio linfatico²¹. Inoltre la probabilità di coinvolgimento macroscopico dei linfonodi aumenta con l'incremento volumetrico del tumore.

Precedenti pubblicazioni hanno anche suggerito che la sede del tumore primitivo può essere correlata con le probabilità di successo^{16,20}. Neoplasie della lingua anteriore e del pavimento orale (PO) sono state trovate avere un maggiore rischio di fallimento in confronto con tumori di altre sedi. Di tutte le sedi del cavo orale, il PO si è dimostrata la sede più difficile per eseguire la BLS con accurati risultati^{16,22}. Infatti i linfonodi del I livello non sono facilmente identificati alla linfo-scintigrafia per la stretta prossimità del linfonodo sentinella con la sede di iniezione e per il verificarsi del cosiddetto fenomeno "shine through".

Infine, sebbene ci siano per questo dati piuttosto limitati, sia per il cancro della mammella che per quello del cavo orale, è documentata una percentuale di successo significativamente più alta di identificazione del linfonodo sentinella nei pazienti con linfo-scintigrafia preoperatoria positiva rispetto a quelli con esame negativo^{20,26}.

Vi è perciò un condiviso consenso sul fatto che la BLS dovrebbe essere ristretta ai tumori iniziali T1/T2N0^{24,25}. La prima e più frequente indicazione per la BLS è per stadiare il collo omolaterale nei pazienti con tumori unilaterali. Una seconda indicazione è per la stadiazione bilaterale del collo N0 nei tumori vicini o oltrepassanti la linea mediana. La terza indicazione è per valutare il collo controlaterale N0 nei tumori che si avvicinano alla linea mediana con metastasi omolaterali, al fine di decidere se effettuare uno svuotamento bilaterale o solo uno svuotamento omolaterale e una BLS. I pazienti devono comunque essere giudicati preoperatoriamente idonei per un'eventuale svuotamento cervicale.

I pazienti che hanno ricevuto precedenti trattamenti radianti o chirurgici sono di regola esclusi dalla procedura della BLS, poiché i precedenti interventi possono aver distorto le normali vie linfatiche, dando origine a modalità di diffusione imprevedibili.

Nelle donne incinta, l'urgenza e la necessità di stadiare il collo dovrebbe essere discusso. La linfo-scintigrafia è specificamente controindicata sulla pelvi delle donne gravide, ma non esistono attualmente raccomandazioni specifiche per la testa e collo. Il rischio di danno fetale è trascurabile

durante la procedura della BLS di routine (vedi di seguito dosimetria), tuttavia i protocolli dovrebbero essere modificati per minimizzare i rischi di radioesposizione e delle iniezioni del colorante vitale. Per esempio, l'uso del protocollo di un giorno comporta un minore dose di radiazione e la radiazione aggiuntiva associata all'uso della SPECT/CT può non essere giustificata in gravidanza. Infine, i potenziali benefici della BLS nella popolazione pediatrica non sono ben delineati e, in pratica, molti dei protocolli di BLS escludono questi pazienti.

In conclusione, la BLS è attualmente indicata nei carcinomi cT1/T2, cN0 del cavo orale e in alcuni casi selezionati dell'orofaringe e può essere considerata una valida alternativa allo svuotamento cervicale elettivo. Altre sedi della testa e del collo sono in fase di studio²⁶.

Scelta del radiofarmaco

Il principale radiofarmaco usato in Europa è il nanocolloide della sieralbumina umana marcata con ^{99m}Tc (Nanocollo[®]). Nanocollo[®] è un particella con un range di dimensioni di 8-80 nm, con un range medio riportato di 8-30 nm²⁷ e funziona in maniera soddisfacente in tutti i tipi di tumore studiati²⁴. Essa migra nel linfonodo sentinella entro pochi minuti, tuttavia con una ritenzione prolungata che permette l'esecuzione della chirurgia durante il giorno seguente. Sono stati usati anche altri colloid, incluso il ^{99m}Tc renio sulfidrico che ha una particella di dimensione media di 23-25 nm²⁸. Non esistono studi che confrontano differenti radiofarmaci e tutti i ricercatori hanno riportato buoni risultati con tutti i colloid disponibili^{29,30}.

Dosimetria

I dati dosimetrici disponibili derivano dalla letteratura sull'uso nel carcinoma mammario e riportano che le dose assorbite dai pazienti sono basse: pertanto il rischio radiologico associato è pure basso. Seppur non esista nessun dato per i CSTC, la radiofarmaceutica e le dosi somministrate sono identiche, portando all'assunzione che la procedura sentinella nei CSTC è sicura dal punto di vista della protezionistica radiologica. La dose locale di radiazione stimata varia considerevolmente a seconda della dose somministrata e del timing della chirurgia. Non c'è molto consenso sulla dose ottimale da somministrare e sul timing della chirurgia in relazione al momento dell'iniezione del radiocolloide. La maggior parte dei centri effettuano la linfoscintigrafia entro 24 ore dalla chirurgia, ma le

raccomandazioni per l'attività somministrata variano da 15 MBq (per la procedura nello stesso giorno) a 120 MBq (per la procedura in 2 giorni) con un volume totale di iniezione di 0,4-1,0 ml. Lo scopo è quello di raggiungere un'attività di almeno 10 MBq al momento della chirurgia^{31,32}. Le linee guida correnti per la BLS nel carcinoma mammario riportano un valore medio di dose effettiva di 0.048 mSv³³. Calcoli dettagliati effettuati dal Memorial Sloan-Kettering Cancer Center hanno confermato la sicurezza della BLS riportando una dose effettiva intorno ai 0.2 mSv³⁴. Riguardo alla contingente eventuale esposizione fetale, il valore massimo della dose fetale assorbita è stata calcolata essere di 0.0013 mSv a seguito di una iniezione di 18.5 MBq³⁴. Questa dose è equivalente a quella che riceve la madre in un giorno di naturale esposizione alla radiazione di fondo negli USA ed è diversi ordini di grandezza inferiore alla soglia di 100-200 mSv per effetti eterministici (malformazioni, ritardo di crescita, anomalie di sviluppo neurologico)³⁵.

Imaging

La linfoscintigrafia usa una gamma camera per valutare il drenaggio del radiotracciante iniettato dai capillari linfatici nei collettori fino a che esso transita o viene trattenuto nei linfonodi regionali³⁶. Un'accurata localizzazione preoperatoria e la marcatura cutanea preoperatoria dei linfonodi sentinella sono ben correlati alla precisione della procedura chirurgica^{37,38}. L'acquisizione dinamica, partendo immediatamente dopo l'iniezione del tracciante radioattivo, mostra la modalità del drenaggio linfatico e aiuta a differenziare tra i linfonodi sentinella, quello che appare per primo dopo l'iniezione e il secondo linfonodo dello stesso livello^{39,40}. L'imaging con SPECT (tomografia ad emissione di fotone singolo) può migliorare l'identificazione dei linfonodi sentinella, specialmente di quelli in vicinanza dell'area di iniezione. La localizzazione delle lesioni sono migliorate dall'uso di protocolli di attenuazione e correzione della dispersione del segnale, che possono essere facilmente utilizzati con attrezzature ibride SPECT/TC^{39,41}. I maggiori dettagli anatomici forniti dalla TC migliorano la localizzazione dei linfonodi sentinella nei vari livelli del collo³⁹. Numerosi studi hanno riportato vantaggi significativi aggiungendo la SPECT/TC all'immagine planare, con l'identificazione dei linfonodi sentinella non riconosciuti, l'esclusione di linfonodi incerti e/o una migliore localizzazione anatomica dei linfonodi nel 30-47% dei pazienti^{39,42}. Tuttavia è stato anche suggerito che una meticolosa valutazione planare obliqua può anche localizzare i linfonodi sentinella addizionali visibili con la SPECT, rappresentando così una possibile adeguata alternativa⁴³. Pertanto il

vero ruolo della SPECT nella BLS per il cavo orale deve essere ancora completamente definito. Se usata, la SPECT/TC non dovrebbe comunque sostituire una meticolosa tecnica di immagine planare.

Uso del colorante vitale

L'uso del colorante vitale nella procedura del linfonodo sentinella nel carcinoma della testa e del collo è opzionale. Il colorante da solo non può essere usato per effettuare la BLS, ma solo in aggiunta alla linfoscintigrafia preoperatoria e all'utilizzo della sonda dei raggi gamma intraoperatoria⁴⁴. A seguito dell'iniezione il colorante viene drenato verso il linfonodo sentinella lungo le stesse vie linfatiche del radiocolloide, colorando i canali linfatici e può essere seguito fino ai linfonodi del primo livello. La visualizzazione diretta rende la dissezione un processo più naturale per il chirurgo. Raramente dei linfonodi colorati non radioattivi possono contenere metastasi; due di questi linfonodi sentinella sono riportati in una serie di 40 pazienti⁴⁵. La sonda a raggi gamma è più sensibile per l'identificazione dei linfonodi sentinella e non tutti i linfonodi radioattivi risultano colorati⁴⁶. Tuttavia l'uso del colorante vitale può essere di aiuto al chirurgo, sia facilitando la procedura chirurgica, sia identificando le metastasi subcliniche.

Valutazione patologica del linfonodo sentinella

Una valutazione istologica dettagliata del linfonodo sentinella è cruciale ed essa oltrepassa di gran lunga quella che è la routine in molte unità di anatomia patologica. A seguito del lavoro svolto per la BLS nel melanoma maligno e il carcinoma mammario sono raccomandati in tutti i casi la sezione seriata del linfonodo e l'immunoistochimica. La valutazione istologica dei linfonodi nel contesto degli svuotamenti cervicali è generalmente effettuata con la sola ematossilina ed eosina. L'uso di tecniche istologiche addizionali nella BLS per i CSTC ha dimostrato sovrastadiare i linfonodi sentinella del 10% aggiungendo le sezioni seriate e di un ulteriore 10% con l'immunoistochimica²¹. Le correnti raccomandazioni riportano l'effettuazione delle sezioni seriate (SS) a intervalli di 150 um, con l'uso dell'immunoistochimica (IIC) in tutti i casi negativi^{25,47}. In confronto all'esame istologico routinario, SS e IIC permettono uno staging patologico molto più accurato^{26,48}. Infatti tanto più in dettaglio i linfonodi cervicali sono esaminati, tante più metastasi occulte vengono trovate⁴⁸⁻⁵². Nei CSTS, i protocolli istologici per la BLS sono stati disegnati per identificare le micrometastasi (MM) e le cellule

tumorali isolate (CTI), secondo la classificazione di Hermanek⁵³, anche se, al momento, il significato clinico della presenza sia delle MM che della CTI non è pienamente chiarito. Infatti, al momento, la reale incidenza di altre metastasi cervicali nei pazienti con CTI nel linfonodo sentinella non è stato ancora studiato per i carcinomi del cavo orale. In un recente articolo di Atula e coll.⁵⁴ i pazienti con micrometastasi nei linfonodi sentinella hanno presentato un considerevole aumento del numero della metastasi nei linfonodi del successivo svuotamento rispetto a quelli con solo CTI. Si potrebbe pertanto speculare che lo svuotamento avrebbe potuto essere evitato solo in questi ultimi pazienti. Anche in accordo con le correnti linee guida, il riscontro di MM sembrerebbe avere un significato clinico e conseguenze terapeutiche⁵⁵.

Al momento, usando la procedura della BLS, il trattamento di un paziente con un carcinoma del cavo orale è una procedura a due stadi. Il primo stadio comporta l'identificazione e l'asportazione del linfonodo sentinella seguito dal dettagliato esame istologico con SS e IST per evidenziare eventuali metastasi. Il secondo stadio implica la programmazione di un possibile seguente svuotamento cervicale dipendente dal risultato dell'esame istologico. Un importante problema da risolvere prima che la procedura della BLS possa essere raccomandata per la maggioranza dei carcinomi invasivi del cavo orale è l'attuale limitata capacità di ottenere una diagnosi immediata di positività dal linfonodo sentinella. L'utilizzo dell'analisi al congelatore è controversa perché il tessuto che è stato congelato e successivamente scongelato per essere processato per l'esame istologico di routine può essere compromesso da questa manipolazione e potrebbe non rappresentare il reale stato dell'intero preparato. Sebbene alcuni gruppi abbiano sostenuto l'esame al congelatore per l'immediata conversione ad un eventuale svuotamento cervicale, evitando così la necessità di un nuovo intervento differito^{47,56,57}, questo è al momento oggetto di dibattito. Rispetto alla tecnica convenzionale di esame al congelatore, una metodologia con sezioni seriate sottili è stata proposta con risultati quasi sovrapponibili all'esame istologico definitivo e tempi di esecuzione ragionevoli⁵⁷. L'uso della citologia per imprinting nella valutazione al congelatore del linfonodo sentinella è stata descritta per altri tumori come il carcinoma mammario. Uno studio sul carcinoma del cavo orale basato su 30 casi ha dimostrato un'alta sensibilità e specificità, sebbene un altro recente studio sembra dimostrare una maggior accuratezza dell'esame istologico al congelatore come metodo intraoperatorio di diagnosi^{56,58}. Il vantaggio della citologia per imprinting rispetto all'esame istologico al congelatore sta nel fatto che non viene perso materiale nella generazione del campione per l'esame, tuttavia servono studi più ampi prima di considerarne l'inclusione nel protocollo della BLS.

Valutazione clinica della procedura

Sebbene non vi siano delle linee guida universalmente accettate, l'opinione predominante è che un paziente con un collo N0 dovrebbe essere sottoposto ad uno svuotamento linfonodale se il rischio di metastasi occulte è superiore approssimativamente al 15-20%⁵⁹⁻⁶³. Questo approccio è supportato principalmente da studi retrospettivi che hanno dimostrato che un concomitante svuotamento cervicale è associato con una sostanziale riduzione della frequenza di recidive regionali e a distanza^{63,64}. Inoltre uno studio clinico randomizzato ha mostrato che pazienti con CSTC e collo clinicamente N0, che non avevano ricevuto uno svuotamento cervicale concomitante, spesso si presentavano in seguito con metastasi cervicali e malattia incurabile. La chirurgia di salvataggio risultava avere successo solo nel 24% di questi pazienti. Al contrario, i pazienti con uno svuotamento cervicale profilattico avevano avuto una riduzione delle recidive cervicali isolate, dal 33 al 12%⁶⁵. Dovrebbe comunque essere tenuto in mente che lo stadio a cui le riprese sono diagnosticate è anche dipendente dal tipo e intensità dei controlli e può ben determinare le percentuali di recupero. In aggiunta, studi anatomopatologici hanno mostrato che anche piccole metastasi linfonodali, che non sono palpabili e non facili da individuare con l'imaging, possono avere estensione extracapsulare, invasione perilinfatica e perivascolare e altri indicatori prognostici negativi⁶⁶⁻⁶⁸. La visualizzazione e la palpazione intraoperatoria dei linfonodi sono di per sé dei predittori inaffidabili di metastasi linfonodali⁶⁹.

In ultima sintesi, per i CSTC, la probabilità di coinvolgimento microscopico dei linfonodi che può essere stimata con gli strumenti clinici e con la metodica istopatologica di routine è al meglio solo un'approssimazione. Per i tumori maligni del cavo orale, il 20-40% di rischio riportato di metastasi occulte deve essere contrapposto alla morbilità di una dissezione nella maggioranza dei pazienti con un collo che non è realmente coinvolto dalla malattia.

Sebbene lo svuotamento cervicale (SC) selettivo abbia una morbilità inferiore rispetto a quello radicale modificato, purtuttavia una misurabile morbilità esiste e include la disfunzione della spalla, il dolore, modificazioni cosmetiche e paresi del labbro inferiore. Questo è stato dimostrato in studi sulla qualità di vita e accertamenti oggettivi della funzionalità⁷¹⁻⁷³. In uno studio recente Murer e al.⁷⁴ hanno confrontato le percentuali di complicazioni, la morbilità e la funzione postoperatoria della spalla in un grosso gruppo di pazienti sottoposti o a BLS o a svuotamento cervicale elettivo. La menomazione soggettiva è stata stabilita con il questionario del "neck dissection impairment index (NDII)".

Lo stato funzionale è stato valutato mediante la misurazione della funzione della spalla mediante lo score individuale modificato⁷⁵. Non sorprendentemente la BLS è stata associata ad un minor rischio di complicazioni, meno disabilità soggettiva e oggettiva della spalla in confronto allo svuotamento elettivo. La BLS è stata anche recentemente correlata ad una migliore qualità di vita rispetto ad uno svuotamento cervicale selettivo⁷⁶.

Multipli studi di validazione istopatologica da singoli centri, che includevano la BLS seguita sistematicamente da uno svuotamento cervicale hanno indicato che la BLS è in grado di stadiare accuratamente il collo clinicamente NO, con un valore predittivo negativo oscillante fra il 90% e il 98%^{13,24,59,80-89}.

Peraltro multipli autori hanno enfatizzato il significato di una curva di apprendimento che esiste per la BLS. Nel trial di validazione patologica del Gruppo Oncologico dell'American College of Surgeons è stata registrata una significativa differenza nel valore predittivo negativo della BLS tra chirurghi esperti o principianti, anche se questi ultimi avevano effettuato almeno 5 casi e avevano effettuato un precedente training di laboratorio su animali⁷⁰. È importante per i chirurghi ricevere un'istruzione iniziale sull'uso delle sonde a raggi gamma.

Recentemente, una revisione sistematica della letteratura, comprendente 26 studi, è stata effettuata usando i dati di MEDLINE dal 1970 al 2011¹⁴. In tutti i casi la BLS era seguita dall'immediato svuotamento cervicale elettivo. La sensibilità e valore predittivo negativo cumulative della BLS sono risultate essere del 95% (95% CI 91-99%) e del 96% (95%CI 94-99%), rispettivamente 184 dei 631 casi del cavo orale (29%) sono stati sovrastadiati da una BLS positiva. Ciononostante, tutti i 12 pazienti inizialmente misclassificati con BLS negativa e svuotamento cervicale positivo avevano un carcinoma del cavo orale (2% dei 631 pazienti con tumori del cavo orale).

Questi dati dimostrano molto chiaramente che i pazienti con un carcinoma squamoso del cavo orale e con una BLS negativa possono essere garantiti con elevato grado di certezza sul fatto che anche un successivo svuotamento cervicale risulti negativo.

Nello stesso lavoro, Thompson ha revisionato anche gli studi che hanno valutato la probabilità di ripresa regionale nei pazienti con un carcinoma del cavo orale e orofaringe che non hanno avuto uno svuotamento cervicale elettivo dopo una BLS negativa^{46,91-94}. Il periodo di follow-up degli studi variava, ma ci sono state solo 11 recidive regionali documentate su un totale di 200 pazienti (5,5%), con percentuale di recidiva media del 6,7%. Questa percentuale di recidiva si confronta favorevolmente rispetto ad un precedente studio randomizzato di Yuen e coll.⁹⁵ che

mostrava una percentuale del 6% di recidive cervicali in pazienti con carcinomi della lingua T1/T2, N0 trattati con contemporaneo svuotamento cervicale elettivo.

A oggi, la predominante esperienza clinica con la BLS è stata con i tumori del cavo orale. Vi è ancora qualche dibattito in letteratura riguardante la BLS nei tumori del pavimento orale rispetto alle altre sedi del cavo orale^{96,97}. Le argomentazioni di quelli che riportano una minore sensibilità e valore predittivo negativo per i tumori del pavimento orale rispetto ad altre localizzazioni derivano dalla stretta prossimità con i linfonodi del I livello e la conseguente difficoltà nell'identificare e prelevare il linfonodo sentinella in questa sede⁹⁷.

In conclusione il consenso in letteratura riguardante questo argomento si riassume nei seguenti punti:

- il valore predittivo di una biopsia del linfonodo sentinella negativa varia dal 90 al 100%;
- la sezione seriata fine e l'immunoistochimica sono essenziali per un'adeguata valutazione del linfonodo sentinella;
- l'uso delle sezioni seriate e dell'immunoistochimica può significativamente aumentare il valore predittivo negativo di questa tecnica;
- vi è una significativa sovrastadiazione con questa tecnica rispetto ad una linfadenectomia standard;
- ci possono essere delle modalità di diffusione linfatica anomale, incluso un imprevisto drenaggio controlaterale a linfonodi che non sarebbero riscontrati con una linfadenectomia standard.

Tuttavia esistono delle preoccupazioni per la necessità di una procedura chirurgica differita nella maggior parte dei pazienti che risultano con il riscontro di un linfonodo sentinella positivo.

Inoltre, il trattamento ottimale del collo in cui si riscontra una isolata micrometastasi o solo delle isolate cellule tumorali rimane incerto. Alcuni hanno ipotizzato che la rimozione del solo linfonodo sentinella possa essere sufficiente in questi pazienti, ma questo non è stato ancora formalmente studiato⁶⁸.

Conclusioni

La tecnica della BLS offre la potenzialità di una chirurgia anatomicamente più accurata, basata sullo specifico drenaggio linfatico del singolo paziente.

È stata dimostrata avere un'eccellente profilo di sicurezza con buona sensibilità nell'identificare le metastasi cervicali occulte. L'uso di questa

tecnica può potenzialmente permettere una selezione dei pazienti candidati ad uno svuotamento cervicale selettivo, risparmiando la morbidità di un overtreatment e offrendo una migliore qualità di vita. Lo svuotamento cervicale selettivo ha circa il 95% di possibilità di garantire il controllo delle metastasi cervicali e, dagli studi prospettici, emerge che la procedura della BLS ha una simile efficacia oncologica. Tuttavia, in assenza di un livello I di evidenza e in considerazione della necessità di una learning curve per la procedura, i centri che iniziano la procedura devono farlo nel contesto di studi clinici controllati e i risultati debbono essere strettamente monitorati. In centri con adeguata esperienza, la BLS può essere offerta ai pazienti con un carcinoma T1 e T2 del cavo orale e clinicamente N0 per un accurato staging istopatologico del collo, con audit periodici sugli outcomes oncologici.

**THE LITERATURE: RESULTS AND PROBLEMS
IN SENTINEL NODE PROCEDURE IN ORAL CAVITY CANCER**

C. Grandi

Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) is predominantly a locoregional disease. Determining the presence of regional metastases (N+) is critical for staging, treatment, and prognosis. Metastases in a single regional lymph node can transform a small stage I tumor into advanced stage II or even stage IV head and neck cancer. The involvement of cervical lymph nodes can decrease specific survival by up to 50%¹. Oral/brotharyngeal squamous cell cancer (OSCC) is one of the most common cancers worldwide, with more than 274.000 cases annually².

The treatment of patients without clinical or radiological evidence of regional metastases (N0) remains controversial. The most exact method of detecting hidden regional metastases is the anatomopathological study of cervical lymph nodes, thus elective neck dissections (END) are traditionally recommended when the tumor size and subsite confers at least 15-20% risk of lymphatic spread³, which implies that this procedure may be unnecessary for the remaining 80% of the patients. The prevalence of hidden regional metastases in OSCC is high, with many series reporting rates greater than 30%⁴⁻⁶.

The sentinel node biopsy (SNB) concept is based on the principle that identification and assessment of the first echelon nodes for metastatic spread will provide information regarding the status of the rest of the neck. With radioactive probes and/or blue dye around the tumor site, the first to the third echelon nodes are identified with the help of gamma cameras and intraoperative probes; these nodes are subsequently harvested and analyzed for tumor deposits. From the pathologic point of view these nodes undergo a much more comprehensive analysis, because missing a small deposit in the node could result in a wrong decision not to treat the neck. The assumption here is that if these echelon nodes are negative for secondary deposits, the rest of the neck is unlikely to have metastases, thus avoiding further treatment to the neck.

Although the concept had been described in the 1960', it was Morton et al⁷ who published the first report describing the use of blue dye and radiotracer to successfully identify the sentinel node in malignant melanoma. A learning curve can be associated with any new technique, and validation studies⁸ have been performed to assess the multicenter application

of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for the management of early stage melanoma. It has been shown that, in patients with early-stage malignant melanoma, selective lymphatic dissection performed after confirmation of positive sentinel node(s) is therapeutically equivalent to elective lymphatic dissection⁹.

Kragg et al¹⁰ first applied sentinel lymph node mapping with injected radiotracer using the gamma probe in the treatment of breast cancer in 1993. At present, SLNB has become the standard over the axillary node detection in the staging of the axilla for clinically node-negative disease because of its accuracy and limited morbidity and invasiveness¹¹.

In head and neck cancers, successful studies have only been performed since 1999, 7 years after the technique gained acceptance in other tumors. This combined with the reduced incidence of oral and oropharynx cancers compared with melanoma and breast cancer, necessarily results in a smaller study group and less in the published worldwide literature. Nevertheless, even if this is a relatively new tool in head and neck surgery, in the last decade a number of centers around the world have performed pilot studies on the diagnostic efficacy of this procedure in HNSCC. Four meta-analysis of these experiences have been also published¹²⁻¹⁵. Initially the procedure was limited to oral cavity cancer, but it was later extended also to pharynx and larynx tumors.

The most important inclusion criteria for SNB is a clinically negative neck, as defined by physical examination and clinical imaging by computed tomography (CT), contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI), ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology (USgFNAC), and/or 18F-fluoro-deoxyglucose (FDG) positron emission tomography (PET) with or without CT (PET/CT). There remains a considerable debate on the preferred imaging modality, and, to date, none have the ability to detect small or micrometastatic tumor deposits, but all techniques improve on the sensibility of palpation alone and therefore are recommended prior to SNB. Previous studies evaluating the use of SNB in HNSCC and breast cancer have demonstrated that the presence of nodal disease is an independent predictor of failure for sentinel node harvest¹⁶⁻¹⁹. Gross lymphatic involvement can lead to distortion of the normal architecture, leading to aberrant drainage patterns and biopsy of false sentinel nodes^{16,20}.

Other factors have been shown to be correlated with the likelihood of unsuccessful sentinel node harvest.

A larger primary tumor (T3-T4) has been associated with a higher failure rate: a larger primary tumor site may be more difficult to completely surround with injected radiocolloid or dye, leading to inconsistencies in sentinel node drainage and identification²¹. Furthermore, the likelihood of local lymph node involvement increases with tumor classification.

Previous reports have also suggested that a primary tumor site may be an important determinant of SNB success^{16,20}. A primary tumor in the anterior tongue or floor of the mouth (FOM) were found to have greater risk of failure compared with tumors in other sites. Of all oral tumors, FOM tumors have proven to be the hardest site in which to perform a SNB with accurate results^{16,22}. Sentinel nodes in level I are easily missed on lymphoscintigraphy due to the close proximity of the sentinel node with the injection site. This is especially true for the anterior tongue and FOM, and is referred to as the “shine through” phenomenon.

Finally, although there is limited data, both for breast and oral cancer, a significant higher success rate for sentinel node harvest has been shown in patients with a positive lymphoscintigraphy compared with patients with negative preoperative lymphoscintigraphy^{20,26}.

Finally there is an existing consensus that SNB should be restricted to early tumors staged T1/T2 N0^{24,25}. The first and most frequent indication for SNB is to stage the ipsilateral cN0 neck in patients with a unilateral primary tumor. A second indication is for assessment of bilateral cN0 necks in primary tumors close to or crossing the midline. The third indication is for assessment of the contralateral cN0 neck in primary tumors close to the midline with cN+ neck, in order to decide whether these patients need bilateral neck dissections, or an ipsilateral neck dissection and a SNB only. Patients should be also fit enough preoperatively to withstand a neck dissection. Patients who have received prior radiation or surgical treatment to the neck are routinely excluded from SNB protocols, since the previous intervention can distort the normal lymphatic pathways and give rise to unexpected patterns of metastases.

In pregnant women, the urgency and the necessity of staging the neck should be discussed. Lymphoscintigraphy is specifically contraindicated in the pelvis of pregnant women, but no such recommendation are currently available for the head and neck. The risk of fetal damage is negligible during routine SNB procedures, however SNB protocols should be modified to minimize risks of radiation exposure and blue dye injections. For example, the use of a 1-day protocol allows a lower injection radiation dose and the additional radiation associated to SPECT/CT imaging may not be warranted in the pregnant women. In conclusion, the potential benefits of SNB are not well delineated in pediatric population and, in practice, most SNB trial protocols generally exclude these patients from participation.

In summary, SNB is currently indicated for cT1/T2, cN0 oral and selected oropharyngeal SCC, where it may be considered a valid alternative to elective neck dissection. Other head and neck sites, and clinical situations remain under investigation²⁶.

Choice of radiopharmaceutical

The main radiopharmaceutical used in European studies of sentinel node localization in oral cancers is Tc-99m-labeled human serum albumin colloid (Nanocoll[®]). Nanocoll[®] has a particle size range of 5-80 nm, with a reported mean range of 8-30 nm²⁷ and performs satisfactorily in all tumor types studied²⁴. It migrates to the sentinel node within minutes, yet prolonged retention allows surgery to take place the following day. Other radiocolloids which have been used include TC-99 m rhenium sulfide colloid (Nanocis[®], IBA), which has been shown to have a mean particle size of 23-25 nm²⁸. While there are currently no clinical trials comparing different radiopharmaceuticals, investigators have described satisfactory results with each of the available colloids^{29,30}.

Dosimetry

Presently available dosimetric data are derived from the breast cancer SNB literature, where the absorbed doses to patients are determined to be low: therefore, the radiation risk associated with the procedure is low. While no specific OSCC data exist, the radiopharmaceuticals and administered activity are identical, leading to the assumption that OSCC SNB is a safe procedure from the radiation protection point of view.

The estimated local radiation dose varies greatly, depending on the administered dose and time to surgery. There is little consensus on the optimal administered dose and timing of surgery relative to radiocolloid injection. Most centers perform lymphoscintigraphy within 24 h of surgery, but recommendations for administered activity range from 15 MBq (for a same day procedure) to 120 MBq (for a 2-days procedure) in a total injection volume of 0.4-1.0 ml. The aim is to achieve an activity of at least 10 MBq at the time of surgery^{31,32}. Current guidelines for SNB in breast cancer report a mean value for the effective dose of 0.048 mSv³³. Extensive calculations performed by the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center have confirmed the safety of SNB by reporting an effective dose around 0.2 mSv³⁴. As regards contingent fetal exposure, the maximum value for fetal absorbed dose has been calculated to be 0.0013 mSv following injection of 18.5 MBq³⁴. This dose is equivalent to that received by the mother from 1 day of natural background radiation in the USA, and the order of magnitude is below the 100-200 mSv threshold for deterministic effects (malformations, growth retardation, neurodevelopmental abnormalities)³⁵.

Imaging

Lymphoscintigraphy uses a gamma camera to assess the drainage of injected radiotracer via the lymphatic capillaries to the larger collector lymphatics until it either passes through, or is retained within, the regional lymph nodes³⁶. Accurate preoperative localization and cutaneous marking of the SLNs correlates well with the precision of the surgical procedure^{37,38}.

Dynamic acquisition for 20-30 min starting immediately after radiotracer injection will show the drainage pattern and help to differentiate between sentinel nodes, which can appear very early following injection, and second-echelon lymph nodes^{39,40}. SPECT imaging (single photon emission tomography) may improve the identification of SLNs, especially close to the injection site. Lesion detectability is increased by attenuation and scatter correction, which is easily accomplished with hybrid SPECT/CT devices^{39,41}. The increased anatomical detail provided with CT improves localization of SLNs to the anatomical neck level³⁹.

A number of studies have reported advantages of adding SPECT/CT to planar imaging, including identification of missed SLNs, exclusion of ambiguous SLNs, and/or better anatomical localization in 30-47% of patients^{39,42}. However, it has been suggested that meticulous oblique planar imaging can visualize the additional SLNs seen with SPECT imaging, and this may represent an adequate alternative⁴³. The true role of SPECT imaging for OSCC SNB has yet to be determined. If used, SPECT/CT should not be a substitute for meticulous planar imaging technique.

Use of blue dye

The use of blue dye in head and neck mucosal cancer sentinel node surgery is optional. However, when used it is a useful adjunct to aid SLN localization and harvest. Blue dye cannot be used alone to perform OSCC SNB, but can be used in addition to radiolocalization with preoperative lymphoscintigraphy and intraoperative gamma probe use⁴⁴. Following injection, blue dye drains to the SLNs via the same lymphatic pathways as radiocolloid, staining the channels, which can then be followed to the first-echelon nodes. Direct visualization and dissection of these channels is a natural process for the head and neck surgeon. Rarely, nonradioactive blue nodes may contain metastases: two such SLNs were reported in a series of 40 patients undergoing SNB with both radiocolloid and blue dye injection⁴⁵. The handheld gamma probe is more sensitive for the detection of sentinel nodes, and not all radioactive nodes will also appear

blue⁴⁶. However, blue dye may aid the surgeon perform SNB, both for technical success of the procedure and for identification of subclinical nodal metastasis.

Pathology evaluation of sentinel node

Thorough histological work-up of the SLNs is crucial and surpasses by far what is routine for lymph node assessment in most pathology units. Work in SNB for malignant melanoma and breast cancer has recommended that step serial sectioning and immunohistochemistry be used to evaluate SLNs. The pathologic evaluation of lymph nodes in the context of a neck dissection has generally been with routine hematoxylin and eosin. The use of additional pathologic evaluation in SNB for HNSCC has been highlighted with an upstaging of 10% of SLNs adding step serial sectioning (SSS) and a further additional 10% with immunohistochemistry²¹. The current recommendation is step-sectioning of the entire lymph node at intervals of 150 μ m, with the use of immunohistochemistry (IHC) in all negative cases^{25,47}. In contrast to routine histologic evaluation of a neck dissection specimen, SNB allows considerably more accurate pathological staging using SSS and IHC^{26,48}. The more precisely the lymph nodes of a neck dissection are examined, the more occult metastases are found⁴⁸⁻⁵². In OSCC, SNB pathology protocols have typically been designed to detect micrometastases (MMs) and isolated tumor cells (ITCs), according to Hermanek classification⁵³, even if, at present, the significance of finding MMs and ITCs is still not fully understood. In a recent article by Atula et al.⁵⁴ patients with micrometastases in the sentinel nodes showed considerably more additional metastases in the following neck dissection than patients with ITC only. One might speculate, if neck dissection could be omitted in patients with ITC only in the sentinel nodes.

Currently, the incidence of neck metastasis in non-SN has not been studied in oral SCC with ITC only in the SNs. Differently, in accordance with the current guidelines, the finding of micrometastases should have therapeutic consequences⁵⁵.

At present, the treatment of a patient with oral SCC using SNB is a “two-stage procedure”. The first stage involves the identification of the SN and excision of the lymph node followed by thorough histopathologic examination using step-serial sectioning and immunohistochemistry to identify possible metastasis. The second stage involves the planning of a possible subsequent neck dissection depending on the histopathologic result. An important issue to be resolved before SLNB can be advocated more

strongly for the majority of deeply invasive oral cancers is our limited ability to achieve immediate diagnosis of positive sentinel nodes. The use of frozen section is controversial as tissue that has been frozen, then thawed, and then processed for routine light microscopic examination may be compromised by this handling, and might not represent the true status of the entire specimen. Although some groups do advocate frozen section for immediate conversion to selective neck dissection, with reduction in the need for reoperation^{47,56,57}, this is still a matter of debate. With respect to conventional frozen-section technique, fine-sectioned frozen-section analysis has been shown to be almost as accurate as permanent histological analysis⁵⁷.

The use of imprint cytology in conjunction with frozen sections in the assessment of SLNs has been described in other tumors such as breast adenocarcinoma. One study in OSCC based on 30 cases demonstrated high sensitivity and specificity, though a recent study showed frozen section to be a more accurate method of intraoperative diagnosis^{56,58}. Imprint cytology has an advantage over frozen section in that no tissue is lost in the generation of the sample, however much larger studies are required before considering adoption into the protocol.

Clinical evaluation of the procedure

Although there are no universally accepted guidelines, the predominant opinion is that a patient with a clinically N0 neck should have a neck dissection, if the risk of occult metastases is more than approximately 15-20%⁵⁹⁻⁶³. This approach is supported primarily by retrospective studies that have demonstrated that a concomitant neck dissection is associated with a substantial decreased rate of regional recurrence and distant metastases^{63,64}.

Furthermore, one randomized study showed that patients with OSCC and a clinically N0 neck, who did not have concomitant neck dissections, often presented later with neck metastases and incurable disease. Salvage surgery was successful in only 24% of these patients. However, patients with a prophylactic neck dissection had a reduction of recurrence in the neck alone, from 33 to 12%⁶⁵. It should be kept in mind that the stage at which recurrences are detected is also dependent on the means and intensity of follow-up and may well determine the salvage rates. In addition, pathologic studies have shown that even small lymph node metastases, which are neither palpable nor obvious on imaging studies, can have extracapsular extension, including lymphovascular and perineural invasion, and other poor prognostic indicators⁶⁶⁻⁶⁸. Visualiza-

tion and palpation of lymph nodes intraoperatively are unreliable predictors of nodal metastases by themselves⁶⁹.

In summary, for OSCC, the probability of microscopic involvement of lymph nodes than can be estimated based on clinical findings and routine histopathology is at best an approximation. For oral cavity malignancies, the reported 20-40% risk of occult metastases must be weighed against the morbidity of dissecting the majority of necks that are not truly involved.

Although selective neck dissection (ND) is less morbid than modified radical dissection, measurable morbidity may exist, including shoulder dysfunction, pain, contour changes, and lower lip paresis. This has been demonstrated in quality of life studies and objective functional assessments⁷¹⁻⁷³. In a recent study, Murer et al.⁷⁴ compared complication rate, morbidity, and postoperative shoulder function in a large cohort undergoing either SLNB or elective neck dissection. Subjective impairment was assessed with the neck dissection impairment index (NDII) questionnaire. The functional status was evaluated by the assessment of shoulder function with the modified individual relative constant score⁷⁵. Perhaps not surprisingly, SLNB was associated with significantly fewer complications, less subjective neck and shoulder impairment, and better objective shoulder function than elective neck dissection. SLNB has also recently been shown to be associated with better quality of life compared to selective neck dissection⁷⁶.

Multiple single-center pathologic validation studies involving radioguided SLNB followed by ND indicate the SLNB can accurately stage the clinically negative neck in oral squamous cell carcinoma (OSCC), with negative predictive values between 90% and 98%^{13,24,59,80-89}.

Multiple authors have emphasized the significant learning curve that exists for SLNB. In the American College of Surgeons Oncology Group pathologic validation trial, there was a statistically significant difference in the negative predictive value of SLNB between experienced surgeons and beginning surgeons, even though the latter had performed five cases and participated in an animal laboratory⁷⁰. It is important for surgeons to receive initial instruction in the proper handling of the gamma probe.

Recently, a systematic literature review, including 26 studies, was performed using MEDLINE from 1970 to 2011¹⁴. In all cases SNB were followed by immediate END. The pooled sensitivity and negative predictive value of SLNB for all head and neck tumors was 95% (95% CI 91-99%) and 96% (95% CI 94-99%), respectively. The overall sensitivity and negative predictive value of SLNB in the subset of oral cavity tumors (n = 631) was 94% (95% CI 89-98%) and 96% (95% CI 93-99%),

respectively. 184 of the 631 oral cavity tumors (29%) were upstaged by positive SLNB. Nevertheless all 12 patients initially misclassified with a negative SLNB but positive END had oral cavity tumors (2% of the 631 patients with oral cavity tumors). These data demonstrate quite clearly that oral cavity HNSCC patients with negative SLNBs can be assured to a very high degree of certainty that subsequent ENDS will also be negative.

In the same paper, Thompson also reviewed studies examining regional recurrence in oral cavity and oropharyngeal SCC patients who did not receive END following negative SLNB^{46,91-94}. The follow-up periods between the studies varied, but there were 11 documented regional recurrences from 200 total patients (5.5%) with a mean of 6.7% recurrence rate. This recurrence rate compares favorably to a recent prospective randomized study by Yuen et al.⁹⁵ that showed a 6% cervical node recurrence rate in patients with T1/T2 N0 oral tongue SCC who underwent upfront END.

To date, the predominant clinical experience with SLNB has been with oral cavity tumors. There is still some debate in the literature regarding the accuracy of SLNB for floor of mouth tumors compared to other oral locations⁹⁶⁻⁹⁷. The argument by those that report a lower sensitivity and negative predictive value for floor of mouth tumors compared to other locations is that tumors in the floor of mouth lie in very close proximity to level I nodes leading to difficulty in identifying and harvesting SLNs⁹⁷. In summary the consensus in the literature regarding this topic is that:

1. the predictive value of a negative sentinel lymph node varies between 90 and 100%;
2. step-serial sectioning and immunohistochemistry are essential in proper evaluation of the sentinel lymph node;
3. the use of step-serial sectioning and immunohistochemistry can significantly improve the negative predictive value of this technique;
4. there is significant upstaging with this technique relative to standard formal lymphadenectomy;
5. unexpected patterns of lymphatic drainage can indeed occur, including unanticipated contralateral drainage to nodes that might be missed with standard lymphadenectomies.

Nevertheless, some concerns exist regarding the need for staged surgery in most patients whose sentinel nodes are found to be positive.

The optimum management of the neck that harbors only a single micrometastasis or even isolated tumor cells is, as yet, uncertain. Some have conjectured that removal of just the sentinel node may be sufficient in these patients, though this has not been formally studied⁶⁸.

Conclusions

The technique of SLNB offers the potential for more anatomically accurate surgery based on each patient's unique lymphatic drainage pattern. It has been demonstrated to have an excellent safety profile with good sensitivity in identifying occult neck metastases. Use of this technique can potentially allow selection of patients for selective neck dissection, sparing them the morbidity of overtreatment and offer better quality of life. Selective neck dissection has only a 5% chance of not securing control of neck metastases, and it may well transpire on longitudinal studies that SLNB has similar oncologic efficacy. However, in the absence of reproducible level-1 evidence and the existence of a defined learning curve, centers commencing SLNB should offer this procedure within a trial setting, and the results should be closely monitored. In centers with adequate experience, SLNB can be offered to appropriate patients with nodal negative T1 and T2 OSCC for accurate histopathologic staging of the neck, with periodic audit of oncologic outcomes.

Bibliografía/References

1. Layland MK, Sessions DG, Lenox J. The influence of lymph node metastasis in the treatment of squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx, larynx, and hypopharynx: N0 versus N+. *Laryngoscope* 2005;115(4):629-39.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics 2002. *CA cancer* 2005;55:74-108.
3. Pillsbury HC 3rd, Clark M. A rationale for therapy of the N0 neck. *Laryngoscope* 1997;107(10):1294-315.
4. Gourin CG, Conger BT, Porubsky ES, Sheils WC, Bilodeau PA, Coleman TA. The effect of occult nodal metastases on survival and regional control in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2008;118:1191-4.
5. Don DM, Anzai Y, Lufkin RB, Fu YS, Calcaterra TC. Evaluation of cervical lymph node metastases in squamous carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope* 1995;105:669-74.
6. Leemans CR, Tiwari R, Van der Waal I, Karim ABMF, Nauta JP, Snow GB. The efficacy of comprehensive neck dissection with or without postoperative radiotherapy in nodal metastases of squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Laryngoscope* 1990;100:1194-8.
7. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, Foshag LJ, Cochran AJ. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992;127:392-9.
8. Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, Roses DF, Karakousis CP, Mozzillo N, Reintgen D, Wang HJ, Glass EC. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Cochran AJ. Ann Surg* 1999;230:453-63.
9. Essner R, Conforti A, Kelley MC, Wanek L, Stern S, Glass E, Morton DL. Efficacy of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy, and selective complete lymph node dissection as a therapeutic procedure for early-stage melanoma. *Ann Surg Oncol* 1999;6(5):42-9.
10. 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(6):335-9; discussion 340.
11. Schwartz GF. Clinical practice guidelines for the use of axillary sentinel lymph node biopsy in carcinoma of the breast: current update. *Breast J* 2004;10(2):85-8.
12. Alvarez Amézaga J, Barbier Herrero L, Pijoan del Barrio JI, Martín Rodríguez JC, Romo Simón L, Genolla Subirats J, Rios Altolaquirre G, de los Ríos A, Arteagoitia Calvo I, Landa Llona S, Arruti González JA, López Cedrún J, Santamaría Zuazua J. Diagnostic efficacy of sentinel node biopsy in oral squamous cell carcinoma. Cohort study and meta-analysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007;12(3):E235-43.
13. Paleri V, Rees G, Arullendran P, Shoab T, Krishman S. Sentinel node biopsy in squamous cell cancer of the oral cavity and oral pharynx: a diagnostic meta-analysis. *Head Neck* 2005;27(9):739-47.

14. Thompson CF, St John MA, Lawson G, Grogan T, Elashoff D, Mendelsohn AH. Diagnostic value of sentinel lymph node biopsy in head and neck cancer: a meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013;270:2115-22.
15. Yamauchi K, Kogashiwa Y, Nakamura T, Moro Y, Nagafuji H, Kohno N. Diagnostic evaluation of sentinel lymph node biopsy in early head and neck squamous cell carcinoma: A meta-analysis. *Head Neck* 2015;37(1):27-33.
16. Ross GL, Shoaib T. Role of sentinel node biopsy in the management and staging of the N0 neck. *Odontology* 2005;93:1-6.
17. Wong SL, Edwards MJ, Chao C, Simpson D, McMasters KM. The effect of lymphatic tumor burden on sentinel lymph node biopsy results. *Breast J* 2002;(4):192-8.
18. Vargas HI, Vargas MP, Venegas R, Gonzalez KD, Burla M, Mishkin F, Khalkhali I. Lymphatic tumor burden negatively impacts the ability to detect the sentinel lymph node in breast cancer. *Am Surg* 2003;69(10):886-90.
19. Sener SF, Winchester DJ, Brinkmann E, Winchester DP, Alwawi E, Nickolov A, Perlman RM, Bilimoria M, Barrera E, Bentrem DJ. Failure of sentinel lymph node mapping in patients with breast cancer. *J Am Coll Surg* 2004;198(5):732-6.
20. Hornstra MT, Alkureishi LW, Ross GL, Shoaib T, Soutar DS. Predictive factors for failure to identify sentinel nodes in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2008;30(7):858-62.
21. Ross GL, Soutar DS, Shoaib T, Camilleri IG, MacDonald DG, Robertson AG, Bessent RG, Gray HW. The ability of lymphoscintigraphy to direct sentinel node biopsy in the clinically N0 neck for patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Br J Radiol* 2002;75:950-8.
22. Rigual N, Douglas W, Lamonica D, Wiseman S, Cheney R, Hicks W Jr, Loree T. Sentinel lymph node biopsy: a rational approach for staging T2N0 oral cancer. *Laryngoscope* 2005;115(12):2217-20.
23. Marchal F, Rauch P, Morel O, Mayer JC, Olivier P, Leroux A, Verhaeghe JL, Guillemin F. Results of preoperative lymphoscintigraphy for breast cancer are predictive of identification of axillary sentinel lymph nodes. *World J Surg*; 30(1):55-62.
24. Ross GL, Shoaib T, Soutar DS, MacDonald DG, Camilleri IG, Bessent RG, Gray HW. The First International Conference on Sentinel Node Biopsy in Mucosal Head and Neck Cancer and adoption of a multicenter trial protocol. *Ann Surg Oncol* 2002;9(4):406-10.
25. Stoeckli SJ, Pfaltz M, Ross GL, Steinert HC, MacDonald DG, Wittekind C, Soutar DS. The second international conference on sentinel node biopsy in mucosal head and neck cancer. *Ann Surg Oncol* 2005;12(11): 919-24.
26. Alkureishi LW, Burak Z, Alvarez JA, Ballinger J, Bilde A, Britten AJ, Calabrese L, Chiesa C, Chiti A, de Bree R, Gray HW, Hunter K, Kovacs AF, Lassmann M, Leemans CR, Mamelie G, McGurk M, Mortensen J, Poli T, Shoaib T, Sloan P, Sorensen JA, Stoeckli SJ, Thomsen JB, Trifiro G, Werner J, Ross GL. Joint practice guidelines for radionuclide lymphoscintigraphy for sentinel node localization in oral/oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009;36(11):1915-36.
27. Wilhelm AJ, Mijnhout GS, Franssen EJ. Radiopharmaceuticals in sentinel lymph-node detection – an overview. *Eur J Nucl Med* 1999;26 (4 Suppl):S36-42.

28. Jimenez IR, Roca M, Vega E, García ML, Benitez A. Particle sizes of colloids to be used in sentinel lymph node radiolocalization. *Nucl Med Commun* 2008;29:166-72.
29. Kovács AF, Döbert N, Walendzik H, Zaplatnikov K, Landes CA. The diagnostic role of radioactivity in sentinel nodes in oral and oropharyngeal cancer. *Cancer Biother Radiopharm* 2006;21(5):535-43.
30. Thomsen JB, Sørensen JA, Grupe P, Krogdahl A. Sentinel lymph node biopsy in oral cancer: validation of technique and clinical implications of added oblique planar lymphoscintigraphy and/or tomography. *Acta Radiol* 2005;46(6):569-75.
31. Koizumi M, Nomura E, Yamada Y, Takiguchi T, Tanaka K, Yoshimoto M, Makita M, Sakamoto G, Kasumi F, Ogata E. Sentinel node detection using ^{99m}Tc-rhenium sulphide colloid in breast cancer patients: evaluation of 1 day and 2 day protocols, and a dose-finding study. *Nucl Med Commun* 2003;24(6):663-70.
32. Chakera AH, Hesse B, Burak Z, Ballinger JR, Britten A, Caracò C, Cochran AJ, Cook MG, Drzewiecki KT, Essner R, Even-Sapir E, Eggermont AM, Stopar TG, Ingvar C, Mihm MC Jr, McCarthy SW, Mozzillo N, Nieweg OE, Scolyer RA, Starz H, Thompson JF, Trifirò G, Viale G, Vidal-Sicart S, Uren R, Waddington W, Chiti A, Spatz A, Testori A. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009;36(10):1713-42.
33. Buscombe J, Paganelli G, Burak ZE, Waddington W, Maublant J, Prats E, Palmedo H, Schillaci O, Maffioli L, Lassmann M, Chiesa C, Bombardieri E, Chiti A. Sentinel node in breast cancer procedural guidelines. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34(12):2154-9.
34. Pandit-Taskar N, Dauer LT, Montgomery L, St Germain J, Zanzonico PB, Divgi CR. Organ and fetal absorbed dose estimates from ^{99m}Tc-sulfur colloid lymphoscintigraphy and sentinel node localization in breast cancer patients. *J Nucl Med* 2006;47(7):1202-8.
35. Waddington WA, Keshtgar MR, Taylor I, Lakhani SR, Short MD, Ell PJ. Radiation safety of the sentinel lymph node technique in breast cancer. *Eur J Nucl Med* 2000;27(4):377-91.
36. Modi S, Stanton AW, Mortimer PS, Levick JR. Clinical assessment of human lymph flow using removal rate constants of interstitial macromolecules: a critical review of lymphoscintigraphy. *Lymphat Res Biol* 2007;5(3):183-202.
37. Uren RF, Howman-Giles RB, Chung D, Thompson JF. Role of lymphoscintigraphy for selective sentinel lymphadenectomy. *Cancer Treat Res* 2005;127:15-38.
38. Glass EC, Essner R, Morton DL. Kinetics of three lymphoscintigraphic agents in patients with cutaneous melanoma. *J Nucl Med* 1998;39(7):1185-90.
39. Bilde A, Von Buchwald C, Mortensen J, Marving J, Hamilton Therkildsen M, Kirkegaard J, Charabi B, Specht L. The role of SPECT-CT in the lymphoscintigraphic identification of sentinel nodes in patients with oral cancer. *Acta Otolaryngol* 2006;126(10):1096-103.
40. Tartaglione G, Vigili MG, Rahimi S, Celebrini A, Pagan M, Lauro L, Al-Nahas A, Rubello D. The impact of superficial injections of radiocolloids and dynamic lymphoscintigraphy on sentinel node identification in oral cavity cancer: a same-day protocol. *Nucl Med Commun* 2008;29(4):318-22.

41. Wagner A, Schicho K, Glaser C, Zettinig G, Yerit K, Lang S, Klug C, Leitha T. SPECT-CT for topographic mapping of sentinel lymph nodes prior to gamma probe-guided biopsy in head and neck squamous cell carcinoma. *J Craniomaxillofac Surg* 2004;32(6):343-9.
42. Khafif A, Schneebaum S, Fliss DM, Lerman H, Metser U, Ben-Yosef R, Gil Z, Reider-Trejo L, Genadi L, Even-Sapir E. Lymphoscintigraphy for sentinel node mapping using a hybrid single photon emission CT (SPECT)/CT system in oral cavity squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2006;28(10):874-9.
43. Thomsen JB, Sørensen JA, Grupe P, Krogdahl A. Sentinel lymph node biopsy in oral cancer: validation of technique and clinical implications of added oblique planar lymphoscintigraphy and/or tomography. *Acta Radiol* 2005;46(6):569-75.
44. Shoaib T, Soutar DS, Prosser JE, Dunaway DJ, Gray HW, McCurrach GM, Bessent RG, Robertson AG, Oliver R, MacDonald DG. A suggested method for sentinel node biopsy in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 1999;21(8):728-33.
45. Shoaib T, Soutar DS, MacDonald DG, Camilleri IG, Dunaway DJ, Gray HW, McCurrach GM, Bessent RG, MacLeod TI, Robertson AG. The accuracy of head and neck carcinoma sentinel lymph node biopsy in the clinically N0 neck. *Cancer* 2001;91(11):2077-83.
46. Ross GL, Soutar DS, Gordon MacDonald D, Shoaib T, Camilleri I, Robertson AG, Sorensen JA, Thomsen J, Grupe P, Alvarez J, Barbier L, Santamaria J, Poli T, Masarelli O, Sesenna E, Kovács AF, Grünwald F, Barzan L, Sulfaro S, Alberti F. Sentinel node biopsy in head and neck cancer: preliminary results of a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2004;11(7):690-6.
47. Stoeckli SJ. Sentinel node biopsy for oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope* 2007;117(9):1539-51.
48. Dunne AA, Kulkens C, Ramaswamy A, Folz BJ, Brandt D, Lippert BM, et al. Value of sentinel lymphonodectomy in head and neck cancer patients without evidence of lymphogenic metastatic disease. *Auris Nasus Larynx*. 2001;28(4):339-44.
49. Stoeckli S7, Pfaltz M, Steinert H, Schmid S. Histopathological features of occult metastasis detected by sentinel lymph node biopsy in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2002;112(1):111-5.
50. Civantos FJ, Gomez C, Duque C, Pedroso F, Goodwin WJ, Weed DT, et al. Sentinel node biopsy in oral cavity cancer: correlation with PET scan and immunohistochemistry. *Head Neck*. 2003;25(1):1-9.
51. Ambrosch P, Brinck U. Detection of nodal micrometastases in head and neck cancer by serial sectioning and immunostaining. *Oncology (Williston Park)*. 1996;10(8):1221-6; discussion 6, 9.
52. Kuriakose MA, Trivedi NP. Sentinel node biopsy in head and neck squamous cell carcinoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2009;17(2):100-10.
53. Hermanek P, Hutter RV, Sobin LH, Wittekind C. International Union Against Cancer. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer*. 1999;86(12):2668-73.

54. Atula T, Hunter KD, Cooper LA, Shoaib T, Ross GL, Soutar DS. Micrometastases and isolated tumour cells in sentinel lymph nodes in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2009;(5):532-8.
55. Ferlito A, Devaney KO, Devaney SL, Rinaldo A. What is the incidence of occult metastasis in patients with stage N(0) cancers of the head and neck? *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2001;63:1-5.
56. Terada A, Hasegawa Y, Yatabe Y et al. Intraoperative diagnosis of cancer metastasis in sentinel lymph node of oral cancer patients. *Oral Oncol* 2008;44:838-843.
57. Tschopp L, Nuyens M, Stauffer E, Krause T, Zbären P. The value of frozen section analysis of the sentinel lymph node in clinically N0 squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;132:99-102.
58. Asthana S, Deo SV, Shukla NK, Jain P, Anand M, Kumar R. Intraoperative neck staging using sentinel node biopsy and imprint cytology in oral cancer. *Head Neck*. 2003;25:368-72.
59. Pitman KT, Johnson JT, Myers EN. Effectiveness of the selective neck dissection for the management of the clinically negative neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;123:917-922.
60. McGuirt WF Jr, Johnson JT, Myers EN, Rothfield R, Wagner R. Floor of mouth carcinoma. The management of the clinically negative neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;121:278-82.
61. Shingaki S, Kobayashi T, Suzuki I, Kohno M, Nakajima T. Surgical treatment of stage I and II oral squamous cell carcinomas: analysis of causes of failure. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1995;33:304-308.
62. Shah JP, Andersen PE. Evolving role of modifications in neck dissection for oral squamous carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1995;33:3-8.
63. Clayman GL, Frank DK. Selective neck dissection of anatomically appropriate levels is as efficacious as modified radical neck dissection for elective treatment of the clinically negative neck in patients with squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;124:348-352.
64. Yuen APW, Wei WI, Wong YM, Tang KC. Elective neck dissection versus observation in the treatment of early oral tongue carcinoma. *Head Neck* 1997;19:583-588.
65. Kligerman J, Lima RA, Soares JR et al. Supraomohyoid neck dissection in the treatment of T1/T2 squamous cell carcinoma of oral cavity. *Am J Surg* 1994;168:391-394.
66. Braams JW, Pruim J, Freling. NJM et al. Detection of lymph node metastases of squamous-cell cancer of the head and neck with FDG-PET and MRI. *J Nucl Med* 1995;36:211-216.
67. Alvi A, Johnson JT. Extracapsular spread in the clinically negative neck (N0): implications outcome. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;114:65-70.
68. Mamelle G, Pampurik J, Luboinski B, Lancar R, Lusinci A, Bosq J. Lymph node prognostic factors in head and neck squamous cell carcinomas. *Am J Surg* 1994;168:494-498.
69. Rassekh CH, Johnson JT, Myers EN. Accuracy of intraoperative staging of the N0 neck in squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 1995;105:1334-1336.

70. Civantos FJ, Zitsch RP, Schuller DE et al. Sentinel lymph node biopsy accurately stages the regional lymph nodes for T1-T2 oral squamous cell carcinomas: results of a prospective multi-institutional trial. *J Clin Oncol* 2010;28:1395-1400.
71. Chepeha DB, Taylor RJ, Chepeha JC, et al. Functional assessment using constant's shoulder scale after modified radical and selective neck dissection. *Head Neck* 2002;24:432-436.
72. Kuntz AL, Weymuller EA Jr. Impact of neck dissection on quality of life. *Laryngoscope* 1999;109:1334-1338.
73. Rogers SN, Ferlito A, Pelliteri PK, et al. Quality of life following neck dissections. *Acta Otolaryngologica* 2004;124:231-236.
74. Murer K, Huber G, Haile SR, Stoeckli SJ. Comparison of morbidity between sentinel node biopsy and elective neck dissection for treatment of the N0 neck in patients with oral squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2011;3(9):1260-4.
75. Fialka C1, Oberleitner G, Stampfl P, Brannath W, Hexel M, Vécsei V. Modification of the Constant-Murley shoulder score-introduction of the individual relative Constant score Individual shoulder assessment. *Injury* 2005;36(10):1159-65.
76. Schiefke F, Akdemir M, Weber A et al. Function, postoperative morbidity, and quality of life after cervical sentinel node biopsy and after selective neck dissection. *Head Neck* 2009;31:503-12.
77. Terui S, Terauchi T, Ebihara S, et al. Lymphoscintigraphy of head-and-neck cancer. *Angiology* 1992;43:925-932.
78. Sri-Pathmanathan R, Railton R. Lymphoscintigraphy in the detection of cervical metastasis from oral carcinoma: A pilot study. *Ann R Coll Surg Engl* 1989;71:281-284.
79. Pitman KT, Johnson JT, Myers EN, et al. Effectiveness of the selective neck dissection for the management of the clinically negative neck. *Arch Otolaryngol* 1999;123:917-922.
80. Shoaib T, Soutar DS, MacDonald DG, et al. The accuracy of head and neck carcinoma sentinel lymph node biopsy in the clinically N0 neck. *Cancer* 2001;91:2077-2083.
81. Zitsch RP III, Todd DW, Renner GJ, et al. Intraoperative radiolymphoscintigraphy for detection of occult nodal metastasis in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122:662-666.
82. Stoeckli SJ, Steinert H, Pfaltz M, et al. Sentinel lymph node evaluation in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;125:221-226.
83. Taylor RJ, Wahl RL, Sharma PK, et al. Sentinel node localization in oral cavity and oropharynx squamous cell cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;127:970-974.
84. Civantos FJ, Gomez C, Duque C, et al. Sentinel node biopsy in oral cavity cancer: Correlation with PET scan and immunohistochemistry. *Head Neck* 2003;25:1-9.
85. Civantos FJ, Moffat FL, Goodwin WJ. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for 106 head and neck lesions: Contrasts between oral cavity and cutaneous malignancy. *Laryngoscope* 2006;112:1-15.

86. Koch WM, Choti MA, Civelek AC, et al. Gamma probe directed biopsy of the sentinel node in oral squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;124:445-459.
87. Gil-Rendo A, Zornoza G, Garcia-Velloso MJ, et al. Fluorodeoxyglucose positron emission tomography with sentinel lymph node biopsy for evaluation of axillary involvement in breast cancer. *Br J Surg* 93:707-712,2006.
88. Muylle K, Castaigne C, Flamen P. 18F-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomographic imaging: Recent developments in head and neck cancer. *Curr Opin Oncol* 17:249-253,2005.
89. Payoux P, Dekeister C, Lopez R, et al. Effectiveness of lymphoscintigraphic sentinel node detection for cervical staging of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Oral Maxillofac Surg* 63:1091-1095,2005.
90. Ross GL, Shoab T, Scott J, et al. The learning curve for sentinel node biopsy in malignant melanoma. *Brit J Plast Surg* 55:298-301,2002.
91. Broglie MA, Haerle SK, Huber GF, Haile SR, Stoeckli SJ. Occult metastases detected by sentinel node biopsy in patients with early oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas: impact on survival. *Head Neck* 2013;35(5):660-6.
92. Frerich B, Förster M, Schiefke F, et al. Sentinel lymph node biopsy in squamous cell carcinomas of the lips and the oral cavity – a single center experience. *Surg Oncol* 2007;95(2):97-105.
93. Terada A, Hasegawa Y, Yatabe Y, et al. Follow-up after intraoperative sentinel node biopsy of N0 neck oral cancer patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011;268(3):429-435.
94. Yamauchi K, Fujioka Y, Kohno N. Sentinel node navigation surgery versus observation as a management strategy for early tongue carcinoma. *Head Neck* 2012;34(4):568-572.
95. Yuen AP, Ho CM, Chow TL, et al. Prospective randomized study of selective neck dissection versus observation for N0 Neck of early tongue carcinoma. *Head Neck* 2009;31(6):765-772.
96. Jeong HS, Baek CH, Son YI, et al. Sentinel lymph node radiolocalization with 99mTc filtered tin colloid in clinically node-negative squamous cell carcinomas of the oral cavity. *J Korean Med Sci* 2006;21(5):865-870.
97. Mozzillo N, Chiesa F, Caraco` C, et al. Therapeutic implications of sentinel lymph node biopsy in the staging of oral cancer. *Ann Surg Oncol* 2004;11(3 Suppl):263S-266S.

IL LINFONODO SENTINELLA NEI CARCINOMI DI ALTRE SEDI TESTA-COLLO

L. Barzan

Orofaringe

Se il gold standard per il trattamento chirurgico elettivo delle aree di drenaggio linfatico dei carcinomi squamocellulari (SCC) dell'orofaringe N0 rimane lo svuotamento selettivo (SND) come per il cavo orale¹, anche per questa sede anatomica è stata valutata la possibile applicazione del linfonodo sentinella (LS). Come ben noto la strategia del LS si basa sull'assunto che un tumore primitivo drena inizialmente per via linfatica verso uno o più linfonodi prima di diffondere a tutta la rete linfatica regionale. Se non vengono pertanto identificate cellule neoplastiche nel LS, si può presumere che anche tutti gli altri linfonodi siano indenni. La tecnica comprende le procedure di identificazione, prelievo ed esame del LS; comporta un tempo ancora invasivo, ma con morbilità possibilmente ridotta rispetto allo SND^{2,3}. Non ci sono in letteratura studi specifici sul LS nei SCC orofaringei; la maggior parte gli studi noti valutano casistiche in cui l'orofaringe è considerata assieme al cavo orale, sempre con numerosità inferiore, e spesso non è possibile discriminare i risultati fra le due sedi: per i concetti generali sul LS si rimanda pertanto al capitolo del presente Quaderno sul cavo orale.

Specificità orofaringe. Vi sono tuttavia alcuni aspetti peculiari per i SCC orofaringei che meriterebbero un'attenzione focalizzata:

- la probabilità di N occulto è più elevata rispetto al cavo orale⁴, probabilmente anche perché i SCC orofaringei hanno mediamente alla presentazione una profondità di infiltrazione microscopica maggiore⁵;
- la prima stazione di drenaggio linfatico può essere un linfonodo parafaringeo;
- l'orofaringe in molte istituzioni è generalmente trattata con chemioradioterapia e non è infrequente dover gestire delle persistenze di malattia su terreno radiotrattato;
- i SCC orofaringei HPV correlati costituiscono un'entità clinica recentemente ben caratterizzata anche per la particolare tendenza alla metastatizzazione linfonodale cervicale, peraltro con ridotto impatto prognostico.

Singoli studi: sono stati numerosi, monoistituzionali o multicentrici, comprendenti anche pazienti (pz) con SCC orofaringei, inizialmente con lo scopo di verificare fattibilità, sicurezza, accuratezza della procedura, fino a valutazione di controllo regionale e sopravvivenza a lungo termine^{1,5-13}. La confrontabilità dei dati risulta talora non semplice per le diverse tecniche di identificazione adottate (blu di metilene, linfoscintigrafia dinamica preoperatoria con eventuale SPECT-CT, ricerca intraoperatoria con gamma-probe o varie combinazioni di queste tre tecniche), diverse procedure di esame istopatologico impiegate, valutazione del LS come procedura isolata o nel contesto di un SND comunque eseguito. L'applicazione prevalente è stata nei T1 e T2: tumori più estesi drenano più facilmente in bacini linfatici multipli ed inoltre è richiesto per la resezione e la ricostruzione un accesso trans-cervicale ampio, che è consentito solo da uno svuotamento vero e proprio⁶. L'esposizione adeguata del tumore primitivo per l'infiltrazione del tracciante non rappresenta un problema se, per sottosedie quali la base lingua ed il solco amigdaloglosso, si ricorre alla sedazione profonda del pz ed all'impiego di laringoscopia/orofaringoscopia bivalente.

Meta-analisi: considerando solo la letteratura dell'ultimo decennio, la prima meta-analisi di Paleri del 2005¹⁴, comprendente 46 pz con SCC orofaringeo su 19 articoli selezionati, conclude che la procedura del LS ha generalmente un'elevata sensibilità, è affidabile e riproducibile.

Una successiva meta-analisi del 2013 di Thompson¹⁵ con 72 pz con sede di T orofaringea (su 766 totali) in 26 studi clinici, documenta una sensibilità ed valore predittivo negativo del 100% nel subset dell'orofaringeo, con un richiamo però ad una valutazione prudente di tale dato ottimistico in considerazione del numero relativamente ridotto di pz.

Un'altra meta-analisi diagnostica del 2013 di Govers¹⁶ con 835 pz in totale su 21 studi clinici (nonostante attribuisca erroneamente alla serie di Broglie¹⁷ tutte orofaringi, mentre sono sia cavi orali che orofaringi) dà una stima media della sensibilità diagnostica del LS dello 0.93 con valore predittivo negativo variabile fra lo 0.88 e 1. Il numero di casi con SCC orofaringeo è comunque giudicato basso per poter applicare con sicurezza i buoni risultati ottenibili nel cavo orale anche all'orofaringeo.

Un'ulteriore meta-analisi diagnostica di Yamauchi del 2013¹⁸ condotta solo su T1 e T2 con 987 pz in totale su 16 studi clinici documenta mediamente una sensibilità dello 0.86 ed un valore predittivo negativo dello 0.94, con risultati migliori nei trials di validazione (LS valutato nel contesto di una procedura comunque di SND) rispetto ai trials di LS isolato da solo. Non è valutato un sottogruppo con SCC orofaringeo.

Revisioni della letteratura: sono state condotte¹⁹⁻²² sempre considerando assieme cavo orale ed orofaringeo, ed hanno in sintesi messo in evidenza alcuni aspetti:

- la procedura comporta una curva di apprendimento con almeno 10 casi preliminari ed una buona sinergia operativa fra chirurgo e medico nucleare;
- la linfoscintigrafia preoperatoria è raccomandabile perché facilita la localizzazione del LS e ne aumenta la probabilità di identificazione, il blu di metilene associato al radiotracciante è opzionale ma da solo non è adeguato;
- il LS deve essere sempre sottoposto a sezioni istopatologiche multiple ed immunoistochimica;
- gli esami intraoperatori con frozen sections o imprint cytology sono spesso considerati inadeguati;
- rimane dibattuta la rilevanza clinica delle micrometastasi (tra 0.2 e 2 mm) e delle Isolated Tumor Cells (ITC < 0.2 mm), anche se il gruppo svizzero coordinato da Stoeckli evidenzia differenza significativa nel controllo regionale e nella sopravvivenza non solo tra pz con LS negativo e LS metastatico, ma anche tra pz con LS negativo e pz solo con micrometastasi o ITC^{17,23}.

Pretrattamenti: in due pubblicazioni con casistiche limitate (11 e 22 pz) il LS è stato impiegato anche in colli pretrattati dimostrandosi fattibile, affidabile, con la possibilità di evidenziare pattern di drenaggio linfatico inusuali ed un valore predittivo negativo dal 91 al 100%^{24,25}.

Gruppo italiano: uno dei gruppi che ha a lungo condotto uno studio prospettico sul LS²⁶⁻²⁸ con 24% di orofaringi su 209 pz, ha alla fine valutato che il trattamento minimo del collo per ottimizzare il valore predittivo negativo è probabilmente la dissezione dei livelli fra il tumore primitivo ed il livello contenente il LS.

“Effetto collaterale”: ultimo merito di tutti gli studi sul LS è stata la possibilità, grazie anche al progresso tecnologico con l’impiego di laser e robotica, di considerare obsoleto il dogma della chirurgia in monoblocco T+N da effettuarsi sempre e comunque, dati i buoni risultati oncologici e funzionali ottenibili con la tecnica discontinua, con risparmio di tempo, morbilità e talora della necessità della ricostruzione immediata.

In conclusione: il LS ha dimostrato essere sicuramente utile anche nell’orofaringe per ridurre l’invasività e personalizzare l’approccio al trattamento chirurgico, ancor oggi tuttavia andrebbe praticato nel contesto di studi clinici controllati. Rimangono da definire bene alcuni aspetti, sia per l’implementazione routinaria anche nei SCC orofaringei, sia per la confrontabilità delle casistiche:

- standardizzazione del metodo impiegato per stabilire il cN0 allo staging di base (eco, CT, RMN, PET, FNAC, e loro varie combinazioni);

- unificazione dei radiocolloidi che veicolano il tecnezio, poiché le dimensioni e la diffusibilità delle varie molecole sono in grado di condizionarne la velocità di migrazione e la persistenza¹¹;
- identificazione di sottogruppi in base a caratteristiche cliniche, patologiche (sede di T, classe di T, classe di pT, profondità dell'infiltrazione di T, ecc.) in cui il LS possa dare risultati ottimali;
- definizione precisa della tecnica chirurgica: se rimozione isolata del singolo LS o dissezione comunque dei linfonodi limitrofi fino a realizzare un SND super-selettivo;
- indicazione o meno a procedere con uno svuotamento completo se il LS contiene solo una micrometastasi o ITC;
- analisi adeguata costi / benefici del LS confrontato con lo SND.

Naso-paranasali

Incidenza non elevata, più istotipi differenti e ridotta tendenza alla diffusione linfatica regionale che non fa usualmente prevedere il trattamento elettivo del collo N0, spiegano il numero esiguo di studi sull'impiego del LS in questa localizzazione. Solo tre pubblicazioni ne trattano: in realtà una è un editoriale teorico²⁹, una un single-case report³⁰, ed una ha una serie di 6 pz³¹. Sono necessari ulteriori approfondimenti nel contesto di studi controllati.

Ghiandole salivari

La frequenza della metastatizzazione linfatica regionale, in particolare negli istotipi high-grade, giustifica l'interesse teorico per questo argomento ma, sorprendentemente, solo tre pubblicazioni lo trattano: due sono single-case report^{32,33} ed una consta di solo 6 pz³⁴. Vi sarebbe sicuramente l'opportunità di promuovere uno studio prospettico, possibilmente multicentrico data la non rilevante incidenza e le istologie diversificate.

Tiroide

I carcinomi differenziati tiroidei diffondono prevalentemente per via linfatica ai linfonodi regionali; nel carcinoma papillare, che è l'istotipo più diffuso, si trovano metastasi linfonodali in circa il 50% dei pz. Se non ci sono dubbi sull'indicazione allo svuotamento terapeutico, il ruolo e l'estensione dello svuotamento elettivo rimangono ancora oggetto di

dibattito³⁵. Nonostante una meta-analisi³⁵ ed alcuni studi osservazionali³⁶⁻³⁸ non è chiaro se lo svuotamento del livello VI sia associato ad una maggior morbilità (ipoparatiroidismo e deficit ricorrentiale) rispetto alla tiroidectomia da sola. Il LS, potendo differenziare in maniera affidabile i tumori con da quelli senza metastasi linfonodali, potrebbe rappresentare il metodo ideale per selezionare i pz da sottoporre allo svuotamento selettivo del livello VI.

Tecnica: prevede infiltrazione peritumorale di blu di metilene e identificazione visiva del linfonodo captante a collo aperto prima di procedere alla tiroidectomia; oppure iniezione intratumorale del radiocolloide ed identificazione preoperatoria con linfo-scintigrafia e/o intraoperatoria con gamma-probe dopo l'asportazione della ghiandola (per rimuovere l'effetto mascherante dell'ipercaptazione tiroidea). Vanno prelevati ed esaminati non solo il linfonodo più captante, ma anche gli eventuali altri che captino almeno il 10% del LS³⁹.

Studi singoli: diversi gruppi hanno eseguito studi pilota evidenziando elevati sensibilità, specificità, accuratezza, valore predittivo positivo e negativo³⁹⁻⁴⁶.

Una meta-analisi di 14 studi sull'identificazione del LS nel ca tiroideo ha mostrato risultati migliori con il radiocolloide rispetto al blu di metilene⁴⁷.

Esame intraoperatorio del LS: non ne è ancora ben definito il ruolo, tenendo presente che può non diagnosticare metastasi che poi appaiono nelle sezioni multiple e con l'immunoistochimica fino nel 23% dei casi^{48,49}. Il riscontro tuttavia di cellule metastatiche tiroidee all'interno del LS esaminato intraoperatoriamente, ne potrebbe espandere l'applicabilità ai casi con diagnosi preoperatoria di TIR 3 (neoplasia follicolare non ulteriormente specificabile)^{49,50}, in cui la diagnosi di adenocarcinoma follicolare con metastasi linfonodale potrebbe essere immediata e consentire un solo tempo chirurgico con la tiroidectomia totale e lo svuotamento del livello VI.

Radioterapia metabolica: pz con LS negativo hanno la possibilità di evitare con sicurezza la radioterapia metabolica^{51,52}: il riscontro di valori bassi di tireoglobulina postoperatoria associati alla negatività del LS ne è ulteriormente conferma⁵³.

SND altri livelli: la positività del LS è stata correlata all'età ed alla classe di T⁵⁴ e ne è stata confermata l'utilità nella scelta se allargare la dissezione linfonodale ad altri livelli del collo oltre al VI⁵⁵.

Carcinoma midollare: anche in questo istotipo il LS sembra essere efficace ed affidabile e potrebbe verosimilmente essere adottato per una corretta stadiazione⁵⁶.

Prospettiva: tutta la chirurgia ha giustamente un trend verso approcci sempre meno invasivi: la tiroidectomia totale con LS e svuotamento del

livello VI sono eseguibili endoscopicamente ed uno studio coreano di fattibilità⁵⁷ apre la strada ad uno scenario possibile nei prossimi anni.

Cautela: va tuttavia segnalato che non tutte le pubblicazioni riportano risultati favorevoli. Uno studio recente⁵⁸, seppur condotto con il blu di metilene, riporta una sensibilità del 65% ed un valore predittivo negativo del 78%, per cui gli autori concludono che l'impiego del LS è sicuramente limitato, data la bassa sensibilità e l'elevato numero di falsi negativi. Del resto è stato valutato che, anche in condizioni ideali (ipotizzando il 100% di identificazione e lo 0% di falsi negativi), il beneficio potenziale a breve-medio termine del LS sarebbe basso⁵⁹. Comunque non ci sono ancora evidenze che l'implementazione del LS sia associata a tassi di minori recidive regionali e migliore sopravvivenza⁶⁰. Sono senz'altro necessari studi clinici randomizzati per determinare se la metastasi linfonodale occulta in questa patologia abbia un ruolo significativo nella sopravvivenza e se il LS ed il trattamento successivo comportino un vantaggio nella sopravvivenza. Ad oggi è possibile concludere che il LS nel carcinoma differenziato della tiroide rimane una tecnica promettente, che ha il potenziale di evitare lo svuotamento linfonodale elettivo fino al 57% dei pz⁴⁹. Un ultimo studio randomizzato, ancora in press al momento di andare in stampa con questo Quaderno⁶¹, con 141 pz sottoposti a biopsia del LS della parte laterale del collo (livello VI escluso) e 142 pz come controllo, conclude che la procedura del LS è in grado sì di rimuovere metastasi occulte nel carcinoma papillare tiroideo, ma non ha alcun effetto né sui livelli di tireoglobulina nel follow-up né sulle recidive a 3 anni.

Laringe, ipofaringe

Sebbene il SCC laringeo sia uno dei più frequenti tra quelli testa e collo, è meno spesso sede di impiego del LS perché le localizzazioni glottiche iniziali hanno scarsa tendenza alla metastatizzazione linfonodale cervicale e perché il trattamento sia di stadi iniziali che avanzati può essere non chirurgico. Inoltre l'iniezione peritumorale del tracciante prevede il più spesso una microlaringoscopia e quindi o un accesso aggiuntivo alla sala operatoria con ulteriore anestesia generale il giorno prima dell'intervento, oppure l'iniezione del tracciante all'inizio dell'intervento, con rinuncia alla linfoscintigrafia ed impiego del solo gamma-probe per la localizzazione intraoperatoria del LS.

Singoli studi: I dati vengono spesso riportati assieme a quelli di altre sedi anatomiche senza focalizzarne le peculiarità, tutti gli studi hanno meno di 30 pz con queste specifiche localizzazioni e tutti valutano il LS nell'ambito di uno svuotamento laterocervicale comunque contestualmente

eseguito: sono quindi da considerare studi di fattibilità⁶²⁻⁶⁷. I risultati sono abbastanza difforni e solo lo studio più numeroso⁶⁴ con 29 pz riporta sensibilità e valore predittivo negativo del 100%, altri riferiscono risultati inferiori fino al 50% di sensibilità con il 78.6% di valore predittivo negativo⁶³ e risultati meno soddisfacenti nei colli pretrattati⁶⁷. Tutti concludono concordando sulla fattibilità della metodica, ma sulla necessità di ulteriori studi per meglio definirne l'affidabilità nell'ottica di una routinaria dissezione linfonodale più limitata.

Meta analisi: in quella già citata di Thompson¹⁵ con 58 laringi e 5 ipofaringi, i risultati sono riportati sommati a quelli di altre sedi anatomiche e quindi non valutabili.

Gruppo italiano: in uno studio prospettico²⁶⁻²⁸ sul LS con 8.6% di laringi e 5.8% ipofaringi su 209 pz, non si sono registrati falsi negativi o recidive cervicali per queste sedi anatomiche, ma la numerosità dei pz in questi sottogruppi è troppo limitata per considerazioni conclusive.

**THE SENTINEL LYMPH NODE
IN CANCER OF OTHER HEAD AND NECK SITES**

L. Barzan

Oropharynx

If the gold standard for the elective surgical treatment of areas of lymphatic drainage of N0 oropharyngeal squamous cell carcinomas (SCC) still remains the selective neck dissection (SND), as for the oral cavity¹, even for this anatomical site the possible application of the sentinel lymph node (SL) has been evaluated. As well known, strategy of SL is based on the assumption that a primary tumor drains initially via lymphatics to one or more lymph nodes before spreading to the entire regional lymphatic network. Therefore, if neoplastic cells are not identified in the SL, one can assume that all the other lymph nodes are free. The technique includes identification procedures, removal and examination of the SL, involves a still invasive procedure, but with possibly reduced morbidity compared to the SND^{2,3}. There are no specific studies in the literature about SL in oropharyngeal SCC. Most studies evaluate series in which the oropharynx is considered together with the oral cavity, always with inferior number of cases, and is often not possible to discriminate the results between the two sites: for the general concepts on the SL we will therefore refer to the chapter on the oral cavity of this Book.

Oropharyngeal topics. There are some unique aspects for oropharyngeal SCC that deserve focused attention:

- the probability of an occult N is higher compared to the oral cavity⁴, probably also because the oropharyngeal SCC has on average at the presentation, a higher depth of microscopic infiltration⁵;
- the first station of lymphatic drainage may be a parapharyngeal lymph node;
- the oropharynx in many Institutions is generally treated with (chemo)-radiotherapy and it is not uncommon to manage the persistence of the disease within already treated tissues;
- oropharyngeal HPV-related SCC constitute a clinical entity recently well characterized also for the particular tendency to cervical lymph node metastasis, even with reduced prognostic impact.

Single studies: numerous monoinstitutional or multicentric studies on SL have also included patients (pts) with oropharyngeal SCC, initially with the aim of verifying the feasibility, safety, accuracy of the procedure, until the evaluation of regional control and long term survival^{1,5-13}. The comparability of the data is sometimes not easy for the different identification techniques adopted (methylene blue, preoperative dynamic lymphoscintigraphy possibly with SPECT-CT, intraoperative research with gamma-probe or various combinations of these three techniques), different procedures of histopathology used, evaluation of the LS as an isolated procedure or within the context of an SND anyway performed. The application was predominant in T1 and T2: larger tumors drain more easily in multiple lymphatic basins, furthermore, a wide trans-cervical approach only allowed by the formal neck dissection, is also required for resection and reconstruction⁶. The adequate exposure of the primary tumor site for infiltration of the tracer is not a problem if, for locations such as the tongue base and the amigdaloglossus sulcus, the deep sedation of pts and the bivalved laryngoscopes / oropharyngoscopes are used.

Meta-analysis: considering only the literature of the last decade, the first meta-analysis of Paleri in 2005¹⁴, including 46 pts with oropharyngeal SCC on 19 selected articles, concludes that the procedure of the SL generally has a high sensitivity, is reliable and reproducible.

A subsequent meta-analysis in 2013 of Thompson¹⁵ with 72 pts with oropharyngeal localization of the primary tumor (out of 766 total) in 26 clinical studies, documents a sensitivity and negative predictive value of 100% in the subset of the oropharynx, with a warning toward a cautious estimate of this optimistic figure in view of the relatively small number of pts.

Another diagnostic meta-analysis in 2013 of Govers¹⁶ with 835 total pts in 21 clinical studies (although it erroneously attributes to the series of Broglie¹⁷ as having all oropharyngeal pts, while they are both oral and oropharyngeal) gives an estimate of the average diagnostic sensitivity of SL of 0.93 with negative predictive value spanning the range of 0.88 to 1. The number of cases with oropharyngeal SCC is still considered too low to safely apply the good results obtained in the oral cavity also to the oropharynx.

A further diagnostic meta-analysis of Yamauchi in 2013¹⁸, conducted only on T1 and T2, with 987 total pts of 16 clinical studies documents an average sensitivity of 0.86 and a negative predictive value of 0.94, with better results in the trials of validation (SL evaluated in the context of a procedure of SND) compared to trials of SL isolated alone. It did not evaluate a subgroup with oropharyngeal SCC.

Reviews. A lot of reviews of the literature have been carried out¹⁹⁻²², always considering together oral cavity and oropharynx, which have highlighted some of the following aspects:

- the procedure involves a learning curve with at least 10 preliminary cases and a good operational synergy among surgeons and nuclear physicians;
- preoperative lymphoscintigraphy is recommended because it facilitates the localization of the SL and increases the probability of identification, methylene blue associated with the radiotracer is optional but alone is not adequate;
- the SL must always be subjected to histopathological multiple sections and immunohistochemistry;
- intraoperative examinations with frozen sections or imprint cytology are often considered inadequate;
- the clinical relevance of micrometastases (between 0.2 and 2 mm) and Isolated Tumor Cells (ITC < 0.2 mm) remains debated, although the Swiss group coordinated by Stoeckli highlights significant difference in regional control and survival not only between pts with negative and metastatic SL, but also between pts with negative SL and pts only with micrometastases or ITC^{17,23}.

Pre-treatments. In two publications with limited series (11 and 22 pts) the SL has also been used in pretreated necks, proving feasible, reliable, with the opportunity to highlight unusual pattern of lymphatic drainage and a negative predictive value from 91 to 100%^{24, 25}.

Italian group. A group which conducted a long-lasting prospective study on the LS²⁶⁻²⁸ with 24% of oropharyngeal SCC among 209 pts, has finally determined that the minimum treatment of the neck in order to optimize the negative predictive value is probably the dissection of levels between the primary tumor and the level containing the SL.

“Side effect”. Last merit of all studies on the SL was the possibility, thanks also to technological progress with the use of laser and robotics, to consider obsolete the dogma of en bloc T+N surgery to be done always and anyway, given the good oncological and functional results obtained with the discontinuous technique, saving time, morbidity and sometimes the need for immediate reconstruction.

In conclusion, the SL has proven to be a useful method also in the oropharynx to reduce the invasiveness and customize the approach to the surgical treatment, but still should be practiced within the context of controlled clinical trials. There are still some open issues for both the routine implementation of the SL also in oropharyngeal SCC and for comparability of the series:

- standardization of the method used to assess the cN0 at the baseline staging (US, CT, MRI, PET, FNAC, and their various combinations);
- unification of the radiocolloids that convey technetium, since the size and the diffusibility of the various molecules are able to influence speed of migration and persistence¹¹;
- identification of subgroups based on clinical-pathological characteristics (site of T, T class, pT class, deep of infiltration of T, etc.) in which the LS can give the best results;
- precise definition of the surgical technique: if removal of isolated single SL or dissection of the adjacent lymph nodes to achieve a super-selective SND;
- indication whether or not to proceed with a complete dissection if the SL contains just a micrometastasis or ITC;
- adequate analysis of the SL cost/benefits compared with the SND.

Nose-paranasal

Low incidence, more histologies and reduced tendency to regional lymphatic spread which does not usually indicate the elective treatment of the N0 neck, explain the small number of studies on the use of SL in this site. Only three publications deal with it: in fact one is an editorial²⁹, one a single-case reports³⁰, and one has a series of 6 pts³¹. Further work is needed in the context of controlled studies.

Salivary glands

The frequency of regional lymphatic metastasis, particularly in high-grade histology, justifies the theoretical interest in this topic but, surprisingly, only three publications deal with it: two are single-case reports^{32,33} and one consisting of only 6 pts³⁴. There would certainly be an opportunity to promote a prospective, possibly multicenter, study given the low incidence and multiple histology.

Thyroid

Differentiated thyroid carcinomas spread mainly via lymphatics to regional lymph nodes; in papillary carcinoma, which is the most common histologic type, lymph node metastases are found in about 50% of patients.

If there are no doubts on the indication to therapeutic neck dissection, the role and extent of the elective dissection remain debated³⁵. In spite of a meta-analysis³⁵ and some observational studies³⁶⁻³⁸, it is still unclear whether the dissection of level VI is associated with greater morbidity (hypoparathyroidism and recurrent nerve deficit) than thyroidectomy alone. The SL, being able to reliably differentiate tumors from those without lymph node metastasis, could be the ideal method to select the pts to be submitted to the selective dissection of level VI.

The technique provides peritumoral injection of methylene blue and visual identification of lymph nodal uptake with open neck prior to thyroidectomy; or intratumoral injection of radiocolloid and identification with preoperative lymphoscintigraphy and / or intraoperative gamma probe after the removal of the gland (to remove the masking effect of the thyroid uptake). Not only the hottest node should be taken and examined, but also any other node capturing at least 10% of the SL³⁹.

Single studies. Several groups have performed pilot studies showing high sensitivity, specificity, accuracy, positive and negative predictive value³⁹⁻⁴⁶.

A meta-analysis of 14 studies on the identification of the LS in thyroid carcinoma showed better results with radiocolloid respect to methylene blue⁴⁷.

Intraoperative examination of SL: its role is not yet clearly defined, bearing in mind that it can immediately not diagnose metastases which subsequently appear in multiple sections and immunohistochemistry up in 23% of cases^{48,49}. The finding, however, of metastatic thyroid cells within the frozen sections examined SL, could expand the applicability to cases with preoperative diagnosis of TYR 3 (follicular neoplasm not further specifiable)^{49,50}, in which the diagnosis of follicular adenocarcinoma with lymph node metastases, could be immediate and allow a single surgical time with total thyroidectomy and dissection of the level VI.

Metabolic radiotherapy. Pts with negative LS have the opportunity to safely avoid the metabolic radiotherapy^{51,52}: the detection of low values of postoperative thyroglobulin associated with the negativity of the SL, further confirms this data⁵³.

SND of other levels. The positivity of the SL was related to age and class of T⁵⁴ and the usefulness was confirmed in the evaluation of widening or not of the dissection at other neck levels in addition to VI⁵⁵.

Medullary carcinoma: also in this histology the SL seems to be effective and reliable, and can probably be adopted for proper staging⁵⁶.

Perspective. All surgery has rightly a trend toward less invasive approaches: total thyroidectomy with SL and dissection of the level VI

are endoscopically feasible and one Korean study⁵⁷ opens the way for a possible scenario in the coming years.

Caution. It should however be noted that not all publications show favorable results: a recent study⁵⁸, albeit conducted with methylene blue, reports a sensitivity of 65% and a negative predictive value of 78%, for which the authors conclude that the use of SL is definitely limited due to the low sensitivity and the high number of false negatives. Moreover, it is estimated that, even under ideal conditions (assuming 100% identification and 0% false negative), the potential benefit in the short to medium term of the SL would be low⁵⁹. However, there is still no evidence that the implementation of the LS is associated with lower rates of regional relapse and better survival⁶⁰. Randomized clinical trials are certainly needed to determine if the occult lymph node metastasis in this disease has a significant role in survival and if the SL and the subsequent treatment involve a survival advantage. Today it is possible to conclude that the SL in differentiated thyroid carcinoma remains a promising technique that has the potential to avoid elective lymph node dissection up to 57% of pts⁴⁹.

A final randomized study, still in press at the time of going to press with this Book⁶¹, with 141 pts submitted to biopsy of the SL of the lateral side of the neck (level VI excluded) and 142 pts as control group, concludes that the procedure of SL is able to remove occult metastases in papillary thyroid carcinoma, but has no impact either on the thyroglobulin levels during the follow-up or on the recurrence at 3 years.

Larynx, hypopharynx

Although laryngeal carcinoma is one of the most frequent in the head and neck, it is rarely an area for use of the SL because the early glottic localization have little tendency to metastatize to the cervical lymph node, and because the treatment of initial and advanced stages may be non-surgical. Moreover peritumoral injection of the tracer requires most often a microlaryngoscopy and then either additional access to the operating room with general anesthesia the day before surgery, or the injection of the tracer at the beginning of the intervention, giving up the lymphoscintigraphy and using only the gamma-probe for the intraoperative localization of the SL.

Single studies: the data are often reported together with other anatomical sites without focus on peculiarities, all studies have less than 30 pts with these specific localization and all evaluate the SL as part of a neck dissection anyways simultaneously performed: they are there-

fore to be considered as feasibility studies⁶²⁻⁶⁷. The results are quite dissimilar and only the most numerous study⁶⁴ with 29 pts shows sensitivity and negative predictive value of 100%. Others studies have inferior results up to 50% of sensitivity with 78.6% of negative predictive value⁶³ and results less satisfactory in the pretreated necks⁶⁷. All papers conclude by agreeing on the feasibility of the method, but emphasizing the need for further studies to better define the reliability of the routine use of a more limited lymph node dissection.

Meta-analysis: in that aforementioned of Thompson¹⁵ with 58 laryngeal and 5 hypopharyngeal SCC, the results are reported together with those of other anatomical sites and therefore not evaluable.

Italian group: in a prospective study²⁶⁻²⁸ on the SL with 8.6% laryngeal and 5.8% hypopharyngeal SCC among 209 pts, there were no false negative or cervical recurrences in these anatomic sites, but the number of pts in these subgroups is too limited to make conclusive remarks.

Bibliografia/References

1. Alkureishi LW, Ross GL, Shoab T, Soutar DS, Robertson AG, Thompson R, Hunter KD, Sorensen JA, Thomsen J, Krogdahl A, Alvarez J, Barbier L, Santamaria J, Poli T, Sesenna E, Kovács AF, Grünwald F, Barzan L, Sulfaro S, Alberti F. Sentinel node biopsy in head and neck squamous cell cancer: 5-year follow-up of a European multicenter trial. *Ann Surg Oncol.* 2010 Sep;17:2459-64.
2. Schiekke F, Akdemir M, Weber A, Akdemir D, Singer S, Frerich B. Function, post-operative morbidity and quality of life after cervical sentinel node biopsy and after selective neck dissection. *Head Neck* 2009;31:503-12.
3. Murer K, Huber GF, Haile SR, Stoekli SJ. Comparison of morbidity between sentinel node biopsy and elective neck dissection for treatment of the N0 neck in patients with oral squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2011;33:1260-4.
4. Psychogios G, Mantsopoulos K, Bohr C, Koch M, Zenk J, Iro H. Incidence of occult cervical metastasis in head and neck carcinomas: development over time. *J Surg Oncol* 2013;107:384-7.
5. Alkureishi LW, Ross GL, Shoab T, Soutar DS, Robertson AG, Sorensen JA, Thomsen J, Krogdahl A, Alvarez J, Barbier L, Santamaria J, Poli T, Sesenna E, Kovács AF, Grünwald F, Barzan L, Sulfaro S, Alberti F. Does tumor depth affect nodal upstaging in squamous cell carcinoma of the head and neck? *Laryngoscope.* 2008;118:629-34.
6. Stoeckli SJ, Pfaltz M, Ross GL, Steinert HC, MacDonald DG, Wittekind C, Soutar DS. The second international conference on sentinel node biopsy in mucosal head and neck cancer. *Ann Surg Oncol.* 2005;12:919-24.
7. Kovács AF, Landes CA, Hamscho N, Risse JH, Berner U, Menzel C. Sentinel node biopsy as staging tool in a multimodality treatment approach to cancer of the oral cavity and the oropharynx. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;132:570-6.
8. Stoeckli SJ. Sentinel node biopsy for oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope.* 2007;117:1539-51.
9. Chone CT, Magalhes RS, Etchehebere E, Camargo E, Altemani A, Crespo AN. Predictive value of sentinel node biopsy in head and neck cancer. *Acta Otolaryngol.* 2008;128:920-4.
10. Burns P, Foster A, Walshe P, O'Dwyer T. Sentinel lymph node biopsy in node-negative squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *J Laryngol Otol.* 2009;123:439-43.
11. Kovács AF, Stefenelli U, Seitz O, Middendorp M, Diener J, Sader R, Grünwald F. Positive sentinel lymph nodes are a negative prognostic factor for survival in T1-2 oral/oropharyngeal cancer—a long-term study on 103 patients. *Ann Surg Oncol.* 2009;16:233-9.
12. Santaolalla F, Sanchez JM, Ereno C, Sanchez A, Martinez A. Comparative study of patients with and without sentinel lymph node biopsy (SLNB) in oral and oropharyngeal cancer: is SLNB an accurate and useful procedure? *Acta Otolaryngol* 2009;129:199-204.

13. Burcia V, Costes V, Faillie JL, Gardiner Q, de Verbizier D, Cartier C, Jouzdani E, Crampette L, Guerrier B, Garrel R. Neck restaging with sentinel node biopsy in T1-T2N0 oral and oropharyngeal cancer: Why and how? *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;142:592-7.
14. Paleri V, Rees G, Arullendran P, Shoaib T, Krishman S. Sentinel node biopsy in squamous cell cancer of the oral cavity and oral pharynx: a diagnostic meta-analysis. *Head Neck* 2005;27:739-47.
15. Thompson CF, St John MA, Lawson G, Grogan T, Elashoff D, Mendelsohn AH. Diagnostic value of sentinel lymph node biopsy in head and neck cancer: a meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2013;270:2115-22.
16. Govers TM, Hannink G, Merks MA, Takes RP, Rovers MM. Sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx: a diagnostic meta-analysis. *Oral Oncol.* 2013;49:726-32.
17. Broglie MA, Haerle SK, Huber GF, Haile SR, Stoeckli SJ. Occult metastases detected by sentinel node biopsy in patients with early oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas: impact on survival. *Head Neck* 2013;35:660-6.
18. Yamauchi K, Kogashiwa Y, Nakamura T, Moro Y, Nagafuji H, Kohno N. Diagnostic evaluation of sentinel lymph node biopsy in early head and neck squamous cell carcinoma: a Meta-Analysis. *Head Neck.* 2013 Oct 25. doi: 10.1002/hed.23526.
19. Devaney KO, Rinaldo A, Rodrigo JP, Ferlito A. Sentinel node biopsy and head and neck tumors – where do we stand today? *Head Neck* 2006;28:1122-31.
20. Kuriakose MA, Trivedi NP. Sentinel node biopsy in head and neck squamous cell carcinoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009;17:100-10.
21. Sloan P. Head and neck sentinel lymph node biopsy: current state of the art. *Head Neck Pathol.* 2009;3:231-7.
22. de Bree R, Takes RP, Castelijns JA, Medina JE, Stoeckli SJ, Mancuso AA, Hunt JL, Rodrigo JP, Triantafyllou A, Teymoortash A, Civantos FJ, Rinaldo A, Pitman KT, Hamoir M, Robbins KT, Silver CE, Hoekstra OS, Ferlito A. Advances in diagnostic modalities to detect occult lymph node metastases in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*, first published online:26 sep 2014, doi:10.1002/hed.23814.
23. Broglie MA, Haile SR, Stoeckli SJ. Long-term experience in sentinel node biopsy for early oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2011;18:2732-8.
24. Hart RD, Henry E, Nasser JG, Trites JR, Taylor SM, Bullock M, Barnes D. Sentinel node biopsy in N0 squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx in patients previously treated with surgery or radiation therapy: a pilot study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;133:806-9.
25. Flach GB, Broglie MA, van Schie A, Bloemena E, Leemans CR, de Bree R, Stoeckli SJ. Sentinel node biopsy for oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma in the previously treated neck. *Oral Oncol.* 2012;48:85-9.
26. Barzan L, Sulfaro S, Alberti F, Politi D, Marus W, Pin M. Gamma probe accuracy in detecting the sentinel lymph node in clinically N0 squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111:794-8.

27. Barzan L, Sulfaro S, Alberti F, Politi D, Pin M, Savignano MG, Marus W, Zarccone O, Spaziante R. An extended use of the sentinel node in head and neck squamous cell carcinoma: results of a prospective study of 100 patients. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2004;24:145-9.
28. Antonio JK, Santini S, Politi D, Sulfaro S, Spaziante R, Alberti A, Pin M, Barzan L. Sentinel lymph node biopsy in squamous cell carcinoma of the head and neck: 10 years of experience. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2012;32:18-25.
29. Ene P, Popescu RC, Voiculescu S, Scaunasu R, Popescu B, Grigore R, Ene R, Cârstoiu C. Sentinel lymph node – work hypothesis in sinonasal carcinoma treatment. *Maedica (Buchar).* 2011;6:308-12.
30. Baptista P, Garcia Velloso MJ, Salvinelli F, Casale M. Radioguided surgical strategy in mucosal melanoma of the nasal cavity. *Clin Nucl Med.* 2008;33:14-8.
31. Sánchez Fernández JM, Santaolalla F, Sánchez Del Rey A, Martínez-Ibargüen A, Gonzalez A, Rodríguez Iriarte M. Preliminary study of the lymphatic drainage system of the nose and paranasal sinuses and its role in detection of sentinel metastatic nodes. *Acta Oto-Laryngol* 2005;125:566-70.
32. Moreno M, Moreno A, Tomé C. Sentinel lymph node biopsy in adenocarcinoma of minor salivary gland. *Oral Oncol* 2008;44:305-8.
33. Schilling C, Gnanasegaran G, McGurk M. Three-dimensional imaging and navigated sentinel node biopsy for primary parotid malignancy: new application in parotid cancer management. *Head Neck.* 2014;36:E91-3.
34. Stárek I, Koranda P, Zbořil V, Mrzena L. Sentinel lymph node biopsy in parotid gland carcinoma. *Clin Nucl Med.* 2006;31:203-4.
35. Chisholm EJ, Kulinskaya E, Tolley NS. Systematic review and meta-analysis of the adverse effects of thyroidectomy combined with central neck dissection as compared with thyroidectomy alone. *Laryngoscope* 2009;119:1135-9.
36. Pereira GA, Jimeno J, Miquel J, Iglesias M, Munné A, Sancho JJ. Nodal yield, morbidity and recurrence after central neck dissection for papillary thyroid carcinoma. *Surgery* 2005;138:1095-100.
37. Lee YS, Kim SW, Kim SK, Kang HS, Lee E. Extent of routine central lymph node dissection with small papillary thyroid carcinoma. *World J Surg* 2007;31:1954-9.
38. Rosenbaum MA, McHenry CR. Central neck dissection for papillary thyroid cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 135:1092-7.
39. Merante Boschini I, Toniato A, Piotto A, Casal Ide E, Casara D, Guolo AM, Rubello D, Pelizzo MR. 99Tc nanocolloid sentinel node procedure in thyroid carcinoma. *Langenbecks Arch Surg* 2008;393:705-8.
40. Dzodic R, Markovic I, Inic M, Jokic N, Djuricic I, Zegarac M, Pupic G, Milovanovic Z, Jovic V, Jovanovic N. Sentinel lymph node biopsy may be used to support the decision to perform modified radical neck dissection in differentiated thyroid carcinoma. *World J Surg* 2006;30:841-6.
41. Roh JL, Park C. Sentinel lymph node biopsy as guidance for central neck dissection in patients with papillary thyroid carcinoma. *Cancer* 2008;113:1527-31.

42. Anand SM, Gologan O, Rochon L, Tamilia M, How J, Hier M, Black MJ, Richardson K, Hakami HA, Marzouki HZ, Trifiro M, Tabah R, Payne RJ. The role of sentinel lymph node biopsy in differentiated thyroid carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;135:1199-204.
43. Lee SK, Choi JH, Lim HI, Kim WW, Kim SM, Choe JH, Lee JE, Shin JH, Choi JY, Kim JH, Nam SJ, Yang JH. Sentinel lymph node biopsy in papillary thyroid cancer: Comparison study of blue dye method and combined radioisotope and blue dye method in papillary thyroid cancer. *Eur J Surg Oncol* 2009;35:974-9.
44. Cunningham DK, Yao KA, Turner RR, Singer FR, Van Herle AR, Giuliano AE. Sentinel lymph node biopsy for papillary thyroid cancer: 12 years of experience at a single institution. *Ann Surg Oncol*. 2010;17:2970-5.
45. Amir A, Payne R, Richardson K, Hier M, Mlynarek A, Caglar D. Sentinel lymph node biopsy in thyroid cancer: it can work but there are pitfalls. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011;145:723-6.
46. González O, Zafón C, Roca I. Selective sentinel lymph node biopsy in papillary thyroid carcinoma. *Endocrinol Nutr*. 2013;60:111-4.
47. Rajmakers PGHM, Paul MA, Lips P. Sentinel node detection in patients with thyroid carcinoma: a meta-analysis. *World J Surg* 2008;32:1961-7.
48. Jozaghi Y, Richardson K, Anand S, Mlynarek A, Hier MP, Forest VI, Sela E, Tamilia M, Caglar D, Payne RJ. Frozen section analysis and sentinel lymph node biopsy in well differentiated thyroid cancer. *J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013;11:42-48.
49. Balasubramanian SP, Harrison BJ. Systematic review and meta-analysis of sentinel node biopsy in thyroid cancer. *Br J Surg* 2011;98:334-44.
50. Takeyama H, Tabei I, Uchida K, Morikawa T. Sentinel node biopsy for follicular tumours of the thyroid gland. *Br J Surg* 2009;96:490-5.
51. Rubello D, Pelizzo MR, Al-Nahhas A, Salvatori M, O'Doherty MJ, Giuliano AE, Gross MD, Fanti S, Sandrucci S, Casara D, Mariani G. The role of sentinel lymph node biopsy in patients with differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Surg Oncol*. 2006;32:917-21.
52. Pelizzo MR, Toniato A, Piotto A, et al. ⁹⁹Tc nanocolloid sentinel node procedure in papillary thyroid carcinoma. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2009;29:321-5.
53. Saliba J, Payne RJ, Varshney R, Sela E, Maniakas A, Rahme E, Mlynarek A, Caglar D, Hier MP, Tamilia M. Sentinel Lymph Node Biopsy Status Correlates with Postoperative Stimulated Thyroglobulin Levels in Low-risk Papillary Thyroid Cancer Patients. *Endocr Pract*. 2014;20:399-404.
54. Maniakas A, Forest VI, Jozaghi Y, Saliba J, Hier MP, Mlynarek A, Tamilia M, Payne RJ. Tumor classification in well-differentiated thyroid carcinoma and sentinel lymph node biopsy outcomes: a direct correlation. *Thyroid*. 2014;24:671-4.
55. Lee SK, Kim SH, Hur SM, Choe JH, Kim JH, Kim JS. The efficacy of lateral neck sentinel lymph node biopsy in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg*. 2011;35:2675-82.
56. Puccini M, Manca G, Ugolini C et al. Interest of sentinel node biopsy in apparently intrathyroidal medullary thyroid cancer: a pilot study. *J Endocrinol Invest* 2014;37:829-34.

57. Bae JS, Park WC, Song BJ, Jung SS, Kim JS. Endoscopic thyroidectomy and sentinel lymph node biopsy via an anterior chest approach for papillary thyroid cancer. *Surg Today* 2009;39:178-81.
58. Ji YB, Lee KJ, Park YS, Hong SM, Paik SS, Tae K. Clinical efficacy of sentinel lymph node biopsy using methylene blue dye in clinically node-negative papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2012;19:1868-73.
59. Balasubramanian SP, Brignall J, Stephenson TJ et al. Sentinel node biopsy in papillary thyroid cancer - what is the potential? *Langebecks Arch Surg* 2014;399:245-51.
60. Roh JL, Koch WM. Role of sentinel lymph node biopsy in thyroid cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2010;10:1429-37.
61. Lee SK, Lee JH, Bae SY, et al. Lateral neck sentinel lymph node biopsy in papillary thyroid carcinoma, is it really necessary? A randomized, controlled study. *Surgery* 2015 in press.
62. Werner JA, Dünne AA, Ramaswamy A, Folz BJ, Lippert BM, Moll R, Behr T. Sentinel node detection in N0 cancer of the pharynx and larynx. *Br J Cancer* 2002;87:711-5.
63. Lopez Molla C, Morales Suarez-Varela M, Carrasco Llatas M, Sopena Monforte R, Lopez Martinez R, Dalmau Galofre J. Sentinel lymph node in tumors of the larynx: technique and results. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2006;57:307-12.
64. Lawson G, Matar N, Nollevaux MC, et al. Reliability of sentinel node technique in the treatment of N0 supraglottic laryngeal cancer. *Laryngoscope* 2010;120:2213-7.
65. Hu G, Zhong S, Xiao Q, Li Z, Hong S. Radiolocalization of sentinel lymph nodes in clinically N0 laryngeal and hypopharyngeal cancers. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2011;120:345-50.
66. Yoshimoto S, Hasegawa Y, Matsuzuka T, et al. Sentinel node biopsy for oral and laryngopharyngeal squamous cell carcinoma: a retrospective study of 177 patients in Japan. *Auris Nasus Larynx* 2012;39:65-70.
67. Flach GB, Bloemena E, van Schie A, et al. Sentinel node identification in laryngeal cancer: feasible in primary cancer with previously untreated neck. *Oral Oncol* 2013;49:165-8.

IL LINFONODO SENTINELLA NEI CARCINOMI SQUAMOSI DEL LABBRO E DELLA CUTE CERVICO FACCIALE

*M.G. Vigili, G. Moreschini,
G.P. Di Marco, A. Caggiati, G. Tartaglione*

Il Carcinoma a Cellule Squamose (CCS) del labbro rappresenta il 12% circa di tutti i tumori del distretto cervico facciale ed il 25-30 % dei tumori del cavo orale. Insorge più frequentemente sul labbro inferiore (95%), mentre labbro superiore o commissura labiale sono coinvolti solo nel 5% dei casi. L'età media di insorgenza è di 55 anni e dopo i 75 anni il rischio di malattia aumenta di 35 volte. Il sesso maschile ha una netta predominanza (95%)¹. La sede iniziale di insorgenza più frequente è la linea cutaneo mucosa a livello del terzo medio dell'emilabbro. Data la localizzazione, il carcinoma del labbro è generalmente diagnosticato in fase precoce e l'incidenza di metastasi ai linfonodi del collo è globalmente scarsa, attestandosi di media intorno al 10%².

Il rischio di metastasi linfonodali è strettamente legato alle dimensioni del tumore primitivo (T3-T4), al grado di differenziazione, ed alla sede mucosa, dove è maggiore rispetto a quella cutanea; prevale nei tumori del labbro superiore ed in quelli che coinvolgono la commissura labiale (23%)³⁻⁴.

Come per i CCS del cavo orale, la metastasi linfonodale rappresenta un fattore prognostico sfavorevole nell'evoluzione di questa malattia, abbassando la sopravvivenza a 5 anni dei tumori labiali in I e II stadio al di sotto del 50%.

Analogamente, anche per i tumori cutanei del distretto cervico facciale l'insorgenza di metastasi linfonodali comporta un drammatico peggioramento della prognosi, soprattutto nei carcinomi ad alto rischio⁵, basaloidi e nei Tumori di Merkel⁶, arrivando ad abbassare la sopravvivenza a 5 anni anche fino al 26%. Questo dato enfatizza l'importanza del trattamento dei linfonodi come un fattore decisivo nel controllo di questa patologia. Carvalho e coll.⁷ ritengono indicato uno svuotamento selettivo I-III nei pazienti a rischio (T2-3 commissurali), anche se altri autori^{8,9} riportano una comparsa di metastasi in percentuale variabile dal 5.6% al 35.7% nei pazienti sottoposti a svuotamento sopra-omojoideo.

Il trattamento del collo in assenza di adenopatie clinicamente e radiologicamente evidenti è, anche in questa sede, tutt'ora controverso¹⁰. Poiché nei tumori del labbro il rischio di micrometastasi è stimato fra 8 e 20%¹¹, uno svuotamento d'elezione od un trattamento radioterapico vengono

considerati un overtreatment in una percentuale di pazienti superiore all'80%. D'altro canto, il solo "wait and see" può comportare un grave ritardo nel trattamento delle eventuali micrometastasi.

Lo studio del linfonodo sentinella (BLS), basandosi sull'assunto che, se il linfonodo cosiddetto sentinella è libero da metastasi, lo sono anche tutti quelli a valle rispetto alla sua posizione¹², permette una stadiazione accurata dello stato linfonodale che risparmi alla maggior parte dei pazienti uno svuotamento inutile, ma che, intercettando le metastasi occulte, ne consenta un trattamento precoce.

Come per il melanoma, la ricerca del Linfonodo sentinella (LS) nei linfonodi cervicali è più problematica per la complessità dell'anatomia del sistema linfatico rispetto ad altri distretti. Nel collo, infatti, vi sono più di 300 linfonodi posizionati all'interno di una ricca rete di capillari che raccolgono la linfa di vari organi o tessuti¹³. I capillari linfatici sono abbondanti nel derma, dove hanno numerose anastomosi e sono privi di valvole; nell'epidermide e nel tessuto sottocutaneo non vi sono capillari linfatici. Un elaborato sistema di vasi collettori spinge la linfa dai capillari alle più larghe vene del collo. Nei vasi linfatici cervico-facciali, le valvole sono più numerose e sono site più vicine tra loro, rispetto ed esempio, a quelle degli arti inferiori.

Lo studio linfoscintigrafico dinamico dettaglia e mostra tutte le possibili varianti morfologiche della rete di drenaggio linfatico, personalizzato per ogni soggetto, superando di fatto il concetto delle "skip metastases"^{14,15}. Anche la Linfoscintigrafia, però, può avere talora difficoltà nel visualizzare il LS, dato che l'elevata radioattività del sito di iniezione può impedire la identificazione dei LS più vicini (effetto shine-through). Nel collo, inoltre, il LS può essere piccolo e localizzato in sedi di difficile accesso, per esempio nella parotide, dove passano i rami del nervo facciale.

Nella BLS dei tumori del labbro ci si avvale, oltre che dell'esame linfoscintigrafico, della identificazione intraoperatoria del linfonodo con sonda radioguidata. Per migliorare l'accuratezza della stadiazione alcuni autori¹⁶⁻¹⁸ hanno proposto anche l'impiego della colorazione con il Blue Dye, ma la rapidità del deflusso linfatico nel distretto cervico-facciale ed il rischio di lasciare tatuaggi permanenti sul viso ne ha reso difficoltoso il ricorso. Nella metodica tradizionale, il Blue Dye viene iniettato nel tessuto sede del tumore primitivo; il tracciante passa successivamente attraverso i canali della rete linfatica di drenaggio ed il primo linfonodo che assume il colore blu costituisce il LS. Linfonodi di seconda e terza linea ricevono il drenaggio in una fase successiva^{12,17,18}.

Il ricorso alla SPECT/CT può secondo alcuni studi¹⁹ aumentare il valore predittivo della metodica. Recentemente Nakamura e coll²⁰ hanno riportato risultati incoraggianti (95% di identificazione del LS) con la visua-

lizzazione intraoperatoria di immagini a fluorescenza basate sull'uso di indocianina verde.

L'individuazione delle metastasi occulte o delle micrometastasi all'interno dei LS è resa possibile dall'esecuzione di un protocollo istopatologico molto dettagliato, che ricalca quello utilizzato nel caso di carcinomi squamosi del cavo orale: il linfonodo viene fissato in formalina tamponata al 10% per 12-24 ore. L'intero linfonodo viene tagliato in due lungo l'ilo o, se questo non è reperibile, lungo il suo asse maggiore. Se lo spessore delle emiparti è superiore a 2 mm, vengono tagliate ulteriori sezioni per ottenere altri blocchetti dello spessore di 2 mm. Per ciascun blocchetto vengono allestite 10 sezioni, sacrificando 10 sezioni ogni 4 mm e poi ritagliando 10 sezioni e così via. Ognuna delle sezioni, a ciascun livello, verrà colorata con Ematosilina-Eosina (E&E). Se non si reperta metastasi, la sezione istologica immediatamente adiacente verrà testata con esame immunohistochimico utilizzando anticorpi anti-citocheratine (pancytocheratin A01-A03)²¹.

Gli studi sui Tumori del labbro e linfonodo sentinella riportati nella Letteratura in lingua inglese in una revisione su Pub Med effettuata a dicembre 2014 sono relativamente scarsi (Tab. I)^{15,21-26}.

Autore	anno	N.	TNM	Timing LSG	Blu Dye	% SNB identificati	SNB+
H. ALTINYOLLAR	2002	20	T2	NO	YES	18/20 (90%)	3/18 (16.6%)
M. RESCHLY	2003	2		2-24 H	YES	2/2	0/2
C. RENZI	2007	13	T2	SD	NO	13/13 (100%)	0/13
CHING YU YEN	2006	3	T1-T2	SD	NO	3/3 (100%)	1/3 (33%)
F. CIVANTOS	2006	4	T1-T3	SD	NO	4/4 (100%)	0/4
H.H. KHALIL	2007	14	T1-T2	SD	YES	14/14 (100%)	1/14
HOKKAM E. et al.	2013	18			YES	17/18	2/17
TOTALE		74				71/74 (96%)	7/71 (9.8%)

Tab. I

I casi studiati sono 74, la stadiazione tumorale è variabile fra T1 e T3, con una prevalenza di T2. Nella maggior parte dei casi la linfo-scintigrafia è stata usata nel protocollo "same day", vale a dire qualche ora prima dell'intervento chirurgico, nella stessa giornata; la colorazione con il Blue Dye è stata usata in 4/7 studi. Nel 95.8% dei casi (71/74) la BLS è stata effettuata con successo. Sono stati individuati 7 linfonodi con micrometastasi, consentendo un upstaging dell'9.8%. I casi con linfonodo sentinella positivo sono stati sottoposti a svuotamento latero cervicale entro 20 giorni dalla biopsia linfonodale. Nei 64 casi con BLS negativa è stato evitato uno svuotamento latero cervicale inutile (90%) e non viene riportato in letteratura alcun caso di comparsa tardiva di una metastasi nei linfonodi del collo.

Per quanto riguarda la nostra specifica esperienza in questa sede^{14,27-29} nel periodo 1999-2005 13 Pazienti (9 m. 4 f.), affetti da CSC del labbro in stadio T2N0 (Fig. 1), sono stati sottoposti presso la Divisione di Chirurgia Plastica dell'IDI al protocollo del linfonodo sentinella, già comunemente adottato per i melanomi.

Tre ore prima dell'intervento chirurgico (protocollo Same-Day) è stata effettuata la linfo-scintigrafia. Previa anestesia locale con lidocaina spray al 10%, una dose di 30-50 MBq (volume 0.4 mL) di Siero Albumina Umana Nanocolloidale-Tc99m (Nanocoll®, GE Healthcare) veniva iniettata per via intradermica in 2-4 punti perilesionali. L'acquisizione scintigrafia statica e dinamica planare veniva iniziata immediatamente dopo l'iniezione (128x128, 5 min, 140 KeV +/-20%, zoom 1,5) usando un collimatore LEGP in proiezione laterale e anteriore. Utilizzando un marker venivano segnate sulla pelle le aree di proiezione del LS. Tre ore dopo circa, iniziava la procedura chirurgica radioguidata, utilizzando una sonda gamma probe (Neoprobe 2000) che ha permesso la localizzazione intraoperatoria estremamente precisa dei LS, allorché la radioattività del linfonodo risultasse almeno tre volte superiore al valore basale (Fig. 2). I linfonodi asportati venivano esaminati secondo il protocollo istopatologico già enunciato. I pazienti risultati positivi venivano immediatamente avviati allo svuotamento chirurgico latero-cervicale, mentre quelli negativi sono stati seguiti nei 5 anni seguenti con follow up basato su esami ecografici e clinici ogni 3 mesi per i primi 3 anni, ed ogni 6 mesi dal terzo al quinto anno.

L'acquisizione linfo-scintigrafica effettuata immediatamente dopo l'iniezione del tracciante radioattivo ha consentito di evidenziare le vie di drenaggio linfatico del tumore ed il LS in tutti i pazienti, entro il quinto minuto dall'iniezione del radiofarmaco (Fig. 3 a,b). In 12/13 pazienti i LS erano localizzati ai livelli Ia-Ib (92.3%); in tre casi, proseguendo l'acquisizione scintigrafica per alcuni minuti successivi all'iniezione, si è evidenziata una seconda stazione linfonodale al II livello.

Complessivamente sono stati asportati e sottoposti ad esame istologico 24 linfonodi (media 1.6 per paziente). Nel nostro studio¹⁴ non sono state evidenziate micrometastasi. L'intervallo medio libero da malattia è attualmente 5 anni. Un paziente ha presentato una recidiva locale e 3 sono deceduti per cause non direttamente correlate con il tumore (stroke, ca polmone).

La nostra esperienza, in parziale contrasto con quanto presentato nella letteratura, non ha evidenziato micrometastasi, probabilmente per una diversa selezione dei casi a rischio (tumori meno avanzati).

L'applicazione del protocollo del linfonodo sentinella consente globalmente di intercettare le micrometastasi precocemente in circa il 10% dei casi, evitando il ricorso ad uno svuotamento latero cervicale profilattico nel 90% dei casi. La metodica si presenta molto sensibile, in grado di intercettare il LS praticamente sempre, di semplice attuazione, con la necessità di una learning curve di almeno 10 casi per ottenere risultati ripetibili, considerando che si tratta di coordinare e standardizzare il lavoro in equipe di tre specialisti, medico nucleare, chirurgo e istopatologo, che devono condividere il processo e lavorare in pieno accordo.

L'applicazione della metodica del LS nei tumori del labbro vale anche per i tumori della cute cervico facciale. Una revisione della Letteratura effettuata da Renzi e coll.²³ riporta 14 casi di LS positivo su 83 pazienti affetti da carcinoma squamoso della cute in varie sedi, con un upstaging del 17% circa. Sia nei tumori labiali, che in quelli cutanei in genere, il vero problema da focalizzare sono le indicazioni: l'utilizzo deve essere limitato ai casi considerati ad elevato rischio di metastasi.

Dalla disamina della letteratura sui casi di LS positivo, emerge come un tumore superiore a 2 cm di diametro comporti un aumento del rischio di sviluppare metastasi 3 volte superiore²⁴ rispetto a tumori piccoli. Il rischio di LS positivi è 0% nei tumori ≤ 2 cm, 15.8% nei tumori fra 2.1 e 3 cm e 30.4% in quelli di diametro > 3 cm, indipendentemente dalla infiltrazione vascolare, perineurale, ossea o muscolare o dall'età del paziente. È tuttavia dimostrato da altri recenti studi sui carcinomi squamosi cutanei del distretto cervico-facciale^{25,30-32} che anche lesioni relativamente piccole sono a rischio di metastasi linfonodali, in particolare se il T ha uno spessore di infiltrazione ≥ 4 mm o crescita istologica di tipo desmoplastico³⁰. Lo spessore di infiltrazione tumorale sembra in effetti essere il criterio predittivo più sensibile di metastatizzazione.

Simili risultati sono stati ottenuti da Kwon e coll.³⁰ che hanno revisionato lavori della letteratura su tumori cutanei del distretto cervico facciale. Tra i 51 casi esaminati, il valore predittivo negativo è stato del 100%, il che vuol dire che nessuno dei pazienti con LS negativo ha sviluppato successivamente metastasi linfonodale. La percentuale di linfonodi positivi è risultata in questo studio pari al 14.1%.

In conclusione, la ricerca del linfonodo sentinella appare una metodica utile ed affidabile anche nei tumori cutanei del distretto cervico facciale, soprattutto nei casi ritenuti a rischio di sviluppo di metastasi, Per confermare questi dati preliminari sono tuttavia necessari studi multicentrici longitudinali con casistiche più ampie ed omogenee ed una valutazione del costo/beneficio della metodica in pazienti affetti da carcinomi squamosi cutanei ad alto rischio del labbro, ma anche di altre sedi cervico facciali.

**SENTINEL NODE BIOPSY
IN LIP AND CUTANEOUS HEAD AND NECK CANCER**

*M.G. Vigili, G. Moreschini,
G.P. Di Marco, A. Caggiati, G. Tartaglione*

Squamous cell carcinoma (SCC) of the lip accounts for 12% of head and neck cancer and for 25%-30% of oral carcinoma. The lower lip is the site most frequently involved (95%), with the remaining 5% involving the upper lip or the oral commissure. It is usually seen in patients aged 50 to 70 years. There is a distinct male predominance (95%)¹. Eighty five percent of lower lip cancers arises halfway between the midline and the commissure. Tumours that occur on the upper lip are frequently near the midline. Lip carcinoma are usually diagnosed early, because of their location. Neck metastases occur relatively infrequently (less than 10%)². There is an increased risk of metastases for cancers of the upper lip and for those involving the commissure (23%). Size of the tumour (T3-T4), depth of invasion, and poor differentiation are other risk factors^{3,4}.

The presence of cervical neck metastases reduces survival to below 50%. Neck metastases indicate poor prognosis also in cutaneous head & neck tumours, particularly for high risk SCC⁵, Merkel cell tumours⁶, and basaloid cell carcinoma, with reported 5 years survival rates of approximately 26%.

For patients with regional lymph node metastases radical/modified radical neck dissection is recommended. The management of N0 neck is still controversial¹⁰. Carvalho et al.⁷ suggested a selective neck dissection, including level I-III for patients with T2-T3 of the lip commissure, while some Authors^{8,9} reported late neck metastases occurrence in 5.6% to 35.7% of patients submitted to a supra-homoyoid dissection.

Since the risk of micrometastases is 8%-20%¹¹, elective neck dissection or radiotherapy has been shown to be an overtreatment in more than 80% of patients with N0 stage. On the other hand, follow up of patients by a "wait and see" policy, could delay treatment in the micrometastases group.

Sentinel lymph node biopsy (SLNB) is a minimally invasive technique designed to identify, excise and examine the specific lymph node representing the initial drainage of a primary malignant lesion to determine the presence of subclinical metastases. It relies on the assumption that if the sentinel node is clear of metastases, the remaining nodes are clear too.

SLNB allows accurate staging of the nodal basin, thus sparing the majority of patients unnecessary prophylactic neck dissection or radiotherapy and, on the other hand, avoiding delayed treatment in the micrometastases group of patients managed by “wait and see” policy¹².

SLNB in the Head & Neck is a technically demanding procedure because lymphatic drainage in this region is known to be particularly complex. The lymphatic system consists of rich capillary networks, which collect the lymph in various organs and tissues. Lymphatic capillaries are abundant in the sub-epithelium stroma, have numerous anastomoses and are without valves. In the neck there are more than 300 lymph nodes and an elaborate system of collecting vessels conducts the lymph from the capillaries to the large veins of the neck. In addition, the lymphatic vessels of the neck have a greater number of valves (twice as many as in the rest of body), that are placed at shorter intervals than in those of the lower extremities¹³. The effect of gravity and the features of the Head & Neck lymphatic system provide faster lymph drainage in the lymphatic system than in the other parts of the body.

Lymphatic mapping for SLN in lip and cutaneous head and neck cancer is difficult because of the proximity of the primary and the area surveyed for the SNs, that is mainly at level I and II. This is due to the overlapping and scattering of the radioactivity from the injection site in the primary tumour to the LNs (shine-through effect). In addition the small size of lymph nodes in this region and the difficulty to excise SN into the parotid gland through facial nerve trees, are to be considered.

After dynamic lymphoscintigraphy the SLNs are marked on the skin and identified using a hand held gamma probe during surgery, on the surgical specimen and confirmed on the lymph nodes selectively excised. Blue dye may aid performance of SLNB. It is injected around the primary tumour at the beginning of the surgical procedure, but blue staining SLN often cannot be detected in the neck, due to the rapid and complex cervical lymphatic flow¹⁶⁻¹⁸.

SPECT/CT can optimize sentinel node visualization which may lead to improve intraoperative detection¹⁹. Recently Nakamura et al.²⁰ reported that fluorescence navigation with indocyanine green, in combination with standard technique, would improve the detection rate of cervical SLN (95%).

Extensive and detailed pathological evaluation of SLNs is fundamental for detect occult metastases or micrometastases: longitudinal section of nodes at 2 mm intervals and placement of cross sections in paraffin blocks are made. For each block, 10 levels are cut, sacrificing 10 4-m sections and then cutting 10 sections and repeating the process 10 times. Alternating slides are stained by hematoxylin & Eosin (H&E) and appropriate immunohistochemistry (pancytocheratin AO1-AO3)²¹.

In a review of Literature (Pub Med, dec 2014), only few studies on SLNB in lip cancer are reported (Tab. I)^{15,21-26}.

74 cases, T1-T3, mostly T2, were examined, with same day protocol in almost all studies. Blu Dye staining was used in 4/7. The rate of SLN detection was 95.8% (71/74 patients); 7 SLN had micrometastases, so that 9.8 % of patients were up staged and submitted to neck dissection within 20 days. 64 cases with SLNB negative (90%) avoided unnecessary neck dissection and no neck metastases were reported in these cases after SLNB negative in the follow up.

Our experience on SLNB in lip cancer was based on 13 patients, T2N0, (Fig. 1) submitted to SLNB in the Plastic and Reconstructive Surgery Department of I.D.I., Rome, between 1999 to 2005. The protocol adopted was the same used for Melanoma of Head and Neck^{14,27-29}.

The lymphoscintigraphy was performed 3 hours before surgery (same-day protocol); a dose of 30-50 MBq of 99mTc-HSA-nanocolloidal diluted in 0.3 ml of saline was injected, performing at least two superficial injections in the sub-epithelial stroma around the tumour. The needle was introduced for about 1-2 mm under the surface of the epithelium surrounding the tumour. Dynamic and early static planar scans were acquired imme-

Author	Year	N.	TNM	Timing LSG	Blu Dye	% SNB detected	SNB+
H. ALTINYOLLAR	2002	20	T2	NO	YES	18/20 (90%)	3/18 (16.6%)
M. RESCHLY	2003	2		2-24 H	YES	2/2	0/2
C. RENZI	2007	13	T2	SD	NO	13/13 (100%)	0/13
CHING YU YEN	2006	3	T1-T2	SD	NO	3/3 (100%)	1/3 (33%)
F. CIVANTOS	2006	4	T1-T3	SD	NO	4/4 (100%)	0/4
H.H. KHALIL	2007	14	T1-T2	SD	YES	14/14 (100%)	1/14
HOKKAM E. et al.	2013	18			YES	17/18	2/17
TOTAL		74				71/74 (96%)	7/71 (9.8%)

Tab. I

diately after the injections by using a large-field-of-view gamma camera coupled with a parallel-hole collimator (General Electrics, Infinia SPECT H3000WY, USA) in lateral and anterior projections (256_256 matrix, 5 min pre-set time, Zoom 1.5, LEGP collimator). The examination was prolonged as necessary to visualize at least two neck levels. The skin overlying the sentinel node was marked with a permanent marker pen. A radioguided SLNB was performed within 3 hours after scintigraphy using a hand-held commercially collimated available gamma probe (Neoprobe 2000) (Fig. 2). In this preliminary study all the patients underwent SCC removal and selective neck dissection at the same time. A detailed histological examination was performed, according to melanoma protocol, but using pancytocheratine for immunohistochemistry testing.

In all cases Lymphoscintigraphy revealed the tumour's lymphatic pathway and the SLN were found in the submentum or lower mandibular region (level Ia-I b); in three cases a second lymph nodal site was revealed in the neck (Fig. 3 a,b). 24 SLNs were selectively excided (mean 1.6 for patient) and histologically examined. No micrometastases were found by traditional H&E staining and immunohistochemical analysis¹⁴. The average disease free period is now currently 5 years and no one of these patients had neck metasases in the follow up. One patient had local recurrence and three of them died for different diseases (stroke, lung cancer).

We must stress the importance of performing an immediate exploratory dynamic or static scintigraphy within the first minutes of radiotracer injection, in order to acquire a precise SN location and an accurate mapping of the tumour lymphatic pathways. The absence of positive nodes in our data, despite other experiences, could be due to case selection (less advanced tumours).

The studies made on lip cancer seem to demonstrate that the technique can accurately identify the SLN. It is important to emphasize that SLNB requires multidisciplinary work between different specializations. It requires the collaboration and coordination of the department of Nuclear Medicine to carry out the lymphoscintigraphy and indicate the surgeon which lymph nodes could turn out to be SN. It also requires the department of Histopathology to use the SN protocol for the detection of metastases and micrometastases. All of this requires communication between all specialist, so that the technique is as highly standardized as possible. The learning curve to obtain standardized results with this technique, has been calculated in about ten cases for each institution.

About cutaneous SCC of the head and neck, it has been suggested that SLNB can be applied for high risk tumours. Early identification of micrometastases could allow the selective and timely inclusion of high risk patients in more aggressive treatment and follow up protocols with

potential survival benefits. Renzi et al.²³ carried out a review of the literature on SLNB for cutaneous SCC of different sites. Pooling together patients from 11 papers published, they examined data from 83 patients: 14 (16.9%) had positive SLNB. All patients with positive lymph nodes had lesions > 2 cm in diameter. An increase in tumour size from < 2 cm to 2.1-3 cm to > 3 cm was associated with a 2.8 fold higher odds of finding positive SLN. This is in agreement with studies on clinically evident metastases, reporting a three times higher metastatic risk for tumours > 2 cm, compared to smaller tumours. It is however, noteworthy, that recent studies on head and neck cutaneous SCCs^{25,30-32} have shown that also small lesions are at risk of lymph node metastases, particularly if thickness is > 4 mm (Clark's level IV) or there is desmoplastic growth³⁰. This suggests that size alone is probably a weak independent predictor of metastases and other factors, particularly tumour depth of invasion should also be considered.

Similar results were obtained by Kwon et al.³⁰ reviewing head and neck cutaneous tumours studies. Among the 51 cases examined the NPV for SNB was 100% i.e. there were no regional nodal recurrences in any patient found to have negative SLN. The overall SLN positivity rate was 14.1%.

In conclusion SLNB remains an investigational staging tool in clinically node negative high risk lip and cutaneous SCC patients. It is obvious that larger prospective studies, with longer follow up times, are needed to establish the efficacy of SLNB and to define the optimal treatment of occult nodal metastases for these tumours.

Immagini/Images



Fig. 1: Carcinoma squamoso del labbro che interessa la commissura labiale dx. Limiti della escissione programmata.

Fig. 1: SCC of the lip commissure. Planning of excision.



Fig. 2: Ricerca del linfonodo sentinella con sonda Neoprobe. Viene testata la radioattività nel punto marcato dopo la linfoscintigrafia al II livello.

Fig. 2: Radioguided surgery using Neoprobe. The point marked on the skin after lymphoscintigraphy is tested before starting surgical procedure of SNB.

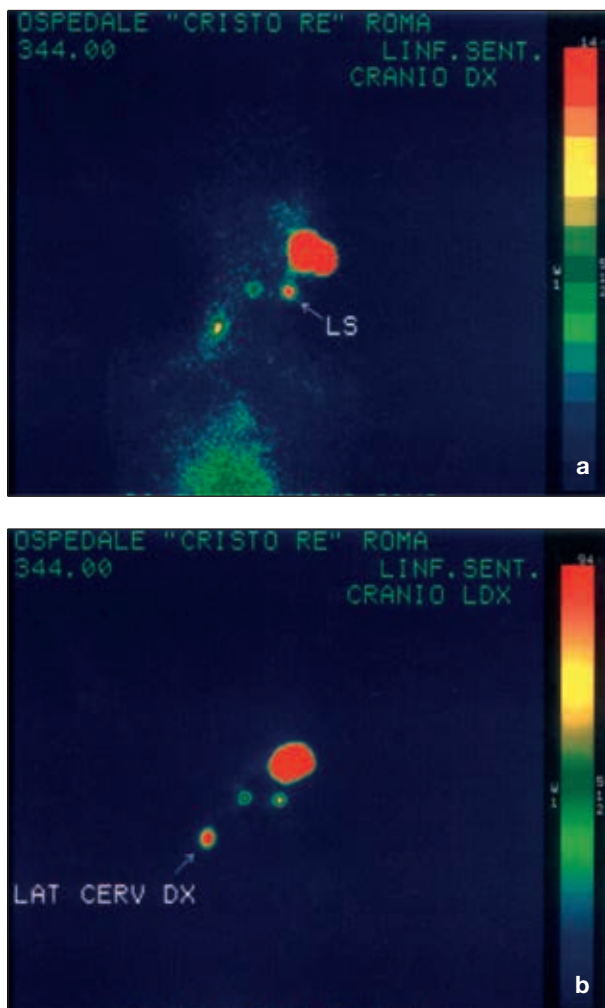


Fig. 3 a-b: Studio linfoscintigrafico a 5 e 15 minuti dall'iniezione del Nanocol® nell'area peritumorale (area rossa più grande) in un caso di carcinoma del labbro in sede commissurale. In a si vede chiaramente il primo linfonodo sentinella al I livello. Dopo alcuni minuti (b) la radioattività si estende ad un linfonodo del II livello.

Fig. 3 a-b: Lymphoscintigraphy 5 and 10 min after peritumoural injection of Nanocol®. (red area: site of injection) in SCC of the lip commissure. a) the first SN at level I; b) few minutes later the hot SN at level II.

Bibliografia/References

1. Lee KJ. Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery. 1995. VI p. 543-544 Appleton&Lange.
2. Liu M, Weynand B, Delos M et al. Prognostic factors in squamous cell carcinomas of the head and neck. Acta Otorhinolaryngol Belg 1999;53:155-160.
3. Vartanian JC, Carvalho AL, De Arayo Filho MJ et al. Predictive factors and distribution of lymph node metastases in lip cancer patients and their implication on the treatment of the neck. Oral Oncol 2004;40(2):223-7.
4. De Visscher JG, Schaapveld M, et al. Epidemiology of cancer of the lip in Netherlands. Oral Oncol. 1998;34(5):421-26.
5. Rastrelli M, Soteldo L, Zonta M. Sentinel node biopsy for high-risk cutaneous non-nodular squamous cell carcinoma: a preliminary result. Ear Surg Res 2010;44(3-4): 204-208.
6. Schwartz JL, Griffith KA, Lowe L, et al. Features predicting sentinel lymph node positivity in Merkel cell carcinoma. J Clin Oncol 2011;29(8)1036-41.
7. Carvalho AL, Kowalski LP et al. Ipsilateral neck cancer recurrence after elective suprahyoid dissection. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2000;126 (3):410-2.
8. Byers RM, El Naggar AK, et al. Can we detect or predict the presence of occult nodal metastases in patients with squamous cell carcinoma of the oral tongue? Head Neck 1998;20:138-44.
9. Chikamatsu K, Kamada H. A preliminary study on sentinel lymph node biopsy: feasibility and predictive ability in oral cancer. Ann Nucl Med 2004;18:257-62.
10. Guney E, Yigitbasi OG. Functional surgical approach to the level I for staging early carcinoma of the lower lip. Otolaryngol. Head Neck Surg 2004;131(4) 503-08.
11. Van den Brekel MWM, van der Waal I, Meijer CJLM, et al. The incidence of micrometastases in neck dissection specimen obtained from elective neck dissections. Laryngoscope, 1996;106:987-91.
12. Morton DL, Wen DR, Wong JH. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. Arch Surg 1992;127:392-99.
13. Gray H. The lymphatic System. Anatomy of the Human Body. Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 2000.
14. Tartaglione G, Potenza C, Caggiati G, Gabrielli F, Pagan M. Sentinel node radiolocalisation and predictive value in lip squamous cell carcinoma. Radiol Med 2003;106: 3. 256-261.
15. Altinyollar H, Berberoğlu U, Celen O. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in squamous cell carcinoma of the lower lip. Eur J Surg Oncol. 2002;28(1):72-4.
16. Chiesa F, Mauri S, et al. Is there a role for sentinel node biopsy in early N0 tongue tumors? Surgery 2000;128:16-21.
17. Ross GL, Shoab T, et al. The First International Conference on Sentinel Node Biopsy in Mucosal Head and Neck Cancer and adoption of a multicenter trial protocol. Ann Surg Oncol 2002;9(4):406-10.

18. Ross GL, Soutar DS, et al. Improved staging of cervical metastases in clinically node-negative patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2004 Feb;11(2):213-8.
19. Remenschneider AK, Dilger AE, Wang Y, Palmer EL, et al. The predictive value of single-proton emission computed tomography for sentinel lymph node localization in head and neck cutaneous malignancy. *Laryngoscope* 2014 Nov 12. doi 10.1002/lary.2502.
20. Nakamura Y, Fujisawa Y, Nakamura Y, Maruyama H, et al. Improvement of sentinel lymph node detection of cervical sentinel node biopsy using real time fluorescence navigation with indocyanine green in head and neck skin cancer. *J Dermatol* 2013;40:453-57.
21. Civantos FJ, Moffat F, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for 106 head and neck lesions: contrast between oral cavity and cutaneous malignancy. *Laryngoscope* 2006;116,1-15.
22. Reschly MJ, Messina JL, Zaulyanov LL, et al. Utility of sentinel lymphadenectomy in the management of patients with high-risk cutaneous squamous cell carcinoma. *Dermatol Surg*. 2003;29:135-40.
23. Renzi C, Caggiati A, et al. Sentinel lymph node biopsy for high risk cutaneous squamous cell carcinoma: case series and review of the literature. *European J Surg Oncol*. 2007;33(3):364-9.
24. Ching-Yu Y, Sheng-Yang L, et al. Radiolocalized Sentinel Lymph Node Biopsy in Squamous Cell Carcinoma of the oral cavity and analysis of various parameters. *Annals of Surgical Oncology* 2006;13(8),1130-35.
25. Khalil HH, Elaffandi AH, Afifi A, et al. Sentinel node biopsy (SNB) in management of N0 stage T1-T2 lip cancer as a "Same Day" procedure. *Oral Oncology* 2008;44:608-12.
26. Hkkam E, Gomaa A, Rifaat M, Alharbi F, et al. The role of sentinel lymph node biopsy in managing lip squamous cell carcinoma patients without clinical evidence of nodal metastases. *Gulf J Oncology* 2013 Jul 1(14)57-62.
27. Tartaglione G, Potenza C, Caggiati A, et al. Lymphatic mapping and sentinel node identification in squamous cell carcinoma and melanoma of the head and neck. *Tumori* 2002;88:S39-41.
28. Tartaglione G, Vigili MG, Rahimi S, et al. The impact of superficial injection of radiocolloids and dynamic lymphoscintigraphy on sentinel node identification in oral cavity cancer: a same day protocol. *Nuclear Medicine Comm* 2008;29(4):318-322.
29. Vigili MG, Tartaglione G, Rahimi S, et al. Lymphoscintigraphy and radioguided sentinel node biopsy in oral cavity squamous cell carcinoma: same day protocol. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2007;264(2):163-7.
30. Kwon S, Ming Dong Z, Wu PC. Sentinel lymph node biopsy for high-risk cutaneous squamous cell carcinoma: clinical experience and review of the literature. *J Surg Oncol*, 2011;9:80-86.
31. Rowe D, Carroll R, Day C. Prognostic factors for local recurrence, metastasis, and survival rates in squamous cell carcinoma of the skin, ear, and lip. *J Am Acad Dermatol*; 1992;26:976-990.

32. Veness MJ, Palme CE, Morgan GJ. High-risk cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 2006;106:2389-2396.

IL LINFONODO SENTINELLA NEI MELANOMI CERVICO FACCIALI

A. Caggiati, S. Tenna

La biopsia del linfonodo sentinella (BLS) è una procedura mininvasiva in grado di identificare il primo od i primi linfonodi posti sulle vie linfatiche drenanti le aree corporee sedi di neoplasie primitive. Può evidenziare metastasi linfonodali subcliniche (non evidenziabili clinicamente o ecograficamente) consentendo di identificare quei pazienti affetti da melanomi del distretto cervico facciale che presentino indicazioni alla esecuzione di una linfoadenectomia radicale terapeutica evitando quindi di sottoporre la maggioranza di essi ad inutili ed invasive linfoadenectomie radicali profilattiche^{1,2}. La BLS è indicata in pazienti affetti da melanomi di spessore superiore a 1 mm, oppure di spessore inferiori, con un numero di mitosi per campo uguale o superiore ad 1, che non presentino evidenze cliniche o strumentali di metastasi locoregionali o viscerali³.

Il periodo ottimale per l'effettuazione della biopsia del linfonodo sentinella sembra essere compreso entro le otto settimane dall'escissione delle lesioni primitive⁴ ma non esistono limitazioni assolute alla sua effettuazione anche dopo tale intervallo di tempo.

Problematiche tecniche specifiche del distretto cervico facciale

Il distretto cefalico comporta maggiori difficoltà tecniche nella BLS, rispetto alle regioni inguinali ed ascellari ed in letteratura vengono infatti riportate percentuali di successo inferiori nella identificazione del linfonodo sentinella in questo specifico distretto corporeo (95-97%)⁵.

Questa complessità si traduce clinicamente anche in una maggiore morbidità di questi interventi rispetto agli analoghi interventi eseguiti in altri bacini linfonodali⁵.

Le ragioni delle maggiori difficoltà tecniche nel mappaggio linfatico di questa area e nella conseguente identificazione del linfonodo sentinella sono diverse e generalmente riassumibili in problematiche anatomiche, chirurgiche e linfoscintigrafiche.

Considerazioni anatomiche

Il distretto cervico facciale presenta, rispetto al tronco ed agli arti, una rete linfatica molto più estesa e complessa per la presenza di numerosi circoli anastomotici e per un numero di linfonodi locoregionali di gran lunga superiore^{6,7}. Le dimensioni medie dei linfonodi del distretto cefalico sono inoltre molto minori rispetto a quelle di altri bacini linfonodali (3-5 mm).

Per queste considerazioni anatomiche, che trovano origine anche nella complessa derivazione embriologica dell'estremo cefalico, esiste una quota significativa di pazienti (dal 34% al 84% a seconda delle diverse casistiche) che presentano un drenaggio linfatico discordante con le sedi di drenaggio attese ed in circa il 10% dei pazienti si può verificare un drenaggio linfatico bilaterale⁸⁻¹⁰.

Il linfonodo sentinella può infine essere talvolta localizzato in sedi anatomiche inusuali e non facilmente accessibili, come ad esempio all'interno della ghiandola parotide⁹ oppure in stretta contiguità con strutture delicate come i vasi giugulari.

Problematiche chirurgiche

Il distretto cervico facciale presenta una anatomia topografica molto complessa per il numero di strutture vascolari e nervose, motorie e sensitive, che devono essere preservate onde evitare di incorrere in complicanze emorragiche, deficit nervosi motori, con problemi conseguenti di mimica facciale, o sensitivi.

Aree anatomiche che possono comportare più frequentemente il rischio di danni neurologici nel corso di una dissezione per la ricerca di linfonodi sentinella sono rappresentate dalla regione giugulare/sottomandibolare e dalla regione laterocervicale.

La regione sottostante l'angolo mandibolare deve essere segnalata per il decorso del ramo marginale della mandibola del nervo facciale, responsabile della attività mimica della muscolatura del labbro inferiore. Il decorso di questo nervo è variabile, decorrendo solitamente al di sotto del muscolo platisma in corrispondenza del margine mandibolare, ma talvolta (15% dei casi) a circa 1-2 cm dal margine mandibolare, proprio in corrispondenza di aree interessate dalla dissezione per la ricerca del linfonodo sentinella. Lesioni di questo nervo, complete o parziali (per distrazioni o diatermocoagulazioni), possono comportare asimmetrie e problemi funzionali della mimica labiale permanenti. Per questi motivi è importante, nel corso delle biopsie del linfonodo sentinella laterocervi-

cali, mantenere scoperta nel campo operatorio la rima buccale onde evidenziare prontamente contrazioni muscolari dovute ad accidentali interferenze chirurgiche sul nervo mandibolare.

Per quanto riguarda il potenziale rischio di lesioni nervose di rami sensitivi deve essere principalmente segnalato il decorso del nervo grande auricolare, che emerge dal margine posteriore del muscolo sternocleidomastoideo (in corrispondenza del punto di Erb), per poi decorrere sulla superficie anteriore di questo muscolo fino a raggiungere il padiglione auricolare della cui innervazione sensitiva è il principale responsabile. La regione sternocleidomastoidea è spesso interessata da dissezioni per la ricerca di linfonodi sentinella relativi a lesioni del cuoio capelluto parieto-occipitale e la conoscenza del decorso di questo ramo sensitivo consente di evitare sue accidentali lesioni.

Oltre a queste considerazioni anatomotopografiche vanno anche segnalate le problematiche legate alle minime dimensioni dei linfonodi sentinella del distretto cervico facciale. Nella nostra personale esperienza le dimensioni medie di questi linfonodi sono di circa 3-5 mm. Queste ridotte dimensioni rendono più laboriosa e delicata la dissezione chirurgica che deve essere attentamente guidata dalla gamma camera intraoperatoria, più che dal colorante vitale il cui impiego nel distretto cervico facciale non trova pari efficacia nella identificazione del linfonodo sentinella come negli altri bacini linfonodali. Nel distretto cefalico l'impiego del colorante vitale comporta inoltre un rischio di tatuaggi cutanei persistenti, particolarmente antiestetici in occasione del trattamento di lesioni primitive del volto. L'area di diffusione intradermica perilesionale del colorante vitale, infatti, non sempre può essere completamente compresa nell'ampliamento della exeresi delle neoplasie primitive, restando quindi visibile per diversi mesi dopo l'intervento.

Preoperatoriamente una gamma probe viene utilizzata per verificare la proiezione cutanea del linfonodo sentinella. Questa manovra deve essere eseguita con il paziente nella posizione operatoria definitiva, poiché anche minimi spostamenti della testa dei pazienti sul lettino operatorio possono comportare uno slittamento della cute soprastante il linfonodo sentinella, rendendo imprecisa la valutazione preoperatoria e la scelta della incisione chirurgica.

Per analoghi motivi la marcatura preoperatoria eseguita dal medico nucleare durante la esecuzione della linfoscintigrafia non può essere utilizzata come parametro di scelta della incisione chirurgica, che deve essere sempre programmata con la gamma probe intraoperatoria dopo il completamento della posizione operatoria del paziente.

Nelle dissezioni per la ricerca del linfonodo sentinella del distretto cefalico è infine importante contenere le dimensioni degli accessi chirurgici per

motivazioni estetiche. Per mantenere la operatività della gamma probe in un campo operatorio limitato è opportuno che quest'ultima abbia un diametro più contenuto possibile (10-13 mm) e con un angolo di rilevazione stretto (10°-15°). Una gamma probe sottile consente, anche attraverso piccoli accessi chirurgici, di effettuare quei movimenti tridimensionali e traslazionali necessari per identificare la posizione del linfonodo sentinella nel campo operatorio.

Problematiche linfoscintigrafiche

Abbiamo visto come la complessità anatomica del circolo linfatico dell'estremo cefalico, unitamente alla sua ricca vascolarizzazione, è responsabile di un flusso linfatico molto più veloce di altri distretti corporei, con un conseguente drenaggio del tracciante radioattivo (washout) molto rapido. Questo aspetto della fisiologia linfatica cervico facciale comporta la necessità di eseguire rilevazioni dinamiche linfoscintigrafiche precoci (10 minuti) per visualizzare i linfonodi sentinella locoregionali.

Oltre a questa problematica esiste una ulteriore potenziale difficoltà procedurale legata alla distanza, spesso molto breve, esistente tra le lesioni primitive e la sede del relativo linfonodo sentinella. La infiltrazione locale del tracciante radioattivo (Tc99 Nanocoll), eseguita in un piano intradermico, è infatti sempre seguita da una diffusione locoregionale alle aree adiacenti. Questo fenomeno ("spreading") non comporta solitamente problemi in altre aree corporee, ove esiste una distanza significativa tra le neoplasie primitive ed i relativi linfonodi sentinella. Nel distretto cervico facciale, invece, questa distanza è spesso molto breve od addirittura inesistente per alcuni melanomi primitivi laterocervicali. In questi casi la diffusione centrifuga del tracciante radioattivo può arrivare ad inglobare la area di dissezione del linfonodo sentinella rendendo quest'ultimo indistinguibile dalla gamma probe (definito "effetto ombra" o "shadow effect"). Per contrastare questo pericoloso problema possono essere adottati diversi accorgimenti che presuppongono una stretta collaborazione ed uno scambio attivo di informazioni tra il medico nucleare ed il chirurgo operatore. Tra le manovre utili per limitare l'effetto ombra va inizialmente segnalata la necessità di impiegare volumi ridotti di tracciante radioattivo durante la linfoscintigrafia, onde limitare la diffusione ai tessuti circostanti che è direttamente proporzionale al volume impiegato e che, con il passare del tempo, può arrivare a rendere indistinguibile la attività del linfonodo sentinella dalla attività di fondo (Fig. 1).

La riduzione dei volumi di tracciante radioattivo consente di mantenere una zona di basso segnale tra la zona della infiltrazione ed il linfonodo sentinella che rimane pertanto distinguibile dal valore di fondo del campo operatorio (Fig. 2).

L'effetto ombra può anche essere contenuto attraverso la riduzione dei tempi che intercorrono tra la esecuzione della linfoscintigrafia e la procedura chirurgica della BLS.

La diffusione del tracciante radioattivo è infatti legata in modo direttamente proporzionale sia al volume iniettato che anche al tempo lasciato a quest'ultimo per diffondere ai tessuti circostanti.

Un ulteriore accorgimento per limitare l'effetto ombra, e per rendere comunque più agevole la identificazione del linfonodo sentinella con la gamma probe, è quello di eseguire sempre l'ampliamento chirurgico della asportazione delle lesioni primitive prima della dissezione per la ricerca del linfonodo sentinella, onde eliminare il più possibile le interferenze provocate dalla forte radioattività della sede di infiltrazione del tracciante radioattivo.

Ai fini della identificazione preoperatoria del linfonodo sentinella si potranno effettuare con la gamma probe alcune manovre che consentiranno di identificare accuratamente la posizione del linfonodo e, approssimativamente, anche la sua profondità rispetto al piano cutaneo.

In geometria un punto viene identificato dalla intersezione di due rette. Anche la proiezione cutanea del linfonodo sentinella può essere considerato un punto da identificare attraverso due rette che la gamma probe può consentirci di tracciare. Con il paziente posto nella esatta e definitiva posizione operatoria si deve valutare la massima attività della gamma camera durante uno spostamento lineare di quest'ultima lungo la regione laterocervicale. Il punto di massima attività viene tracciato con una penna dermatografica ed in corrispondenza di questo punto si effettua una nuova rilevazione lungo una retta ortogonale alla direzione della prima rilevazione. Una volta valutato il punto di massima attività lungo questa seconda retta, avremo ottenuto le coordinate della proiezione cutanea del linfonodo sentinella che viene marcata con penna dermatografica (Fig. 3).

Per ottenere informazioni sulla profondità del linfonodo sentinella, informazione utile talvolta per la scelta del tipo di anestesia da utilizzare, con la gamma probe posta ortogonalmente alla superficie cutanea in corrispondenza della proiezione cutanea del linfonodo sentinella si potranno effettuare dei movimenti verso la profondità. Una caduta immediata del segnale indicherà una posizione superficiale del linfonodo sentinella, che viene scavalcato dalla punta della gamma probe, mentre un continuo aumento del segnale che accompagna l'approfondimento della sonda indicherà una posizione profonda del linfonodo sentinella (Fig. 4).

Il drenaggio linfatico delle principali aree dell'estremo cefalico

Nonostante la complessità anatomica del circolo linfatico del distretto cefalico ed i dati riportati in letteratura, il drenaggio linfatico dei diversi distretti dell'estremo cefalico è parso nella nostra esperienza abbastanza ordinato.

Le vie linfatiche provenienti dalle regioni del cuoio capelluto parieto occipitale confluiscono solitamente in linfonodi sentinella della regione mastoidea/retro auricolare, mentre lesioni temporali o frontali sono solitamente drenate in linfonodi preauricolari. Le vie linfatiche della regione frontale, palpebrale, geniena, della piramide nasale e del labbro superiore convergono usualmente verso la regione preauricolare o giugulare. Il flusso linfatico del labbro inferiore si dirige solitamente verso la regione giugulare, ma spesso con la interposizione di un linfonodo sentinella sottomentoniero o sottomandibolare.

È da segnalare la frequente localizzazione di un linfonodo sentinella in corrispondenza della regione sopraclaveare. Questa localizzazione può apparire l'unica localizzazione del linfonodo sentinella oppure, molto frequentemente, una seconda localizzazione, rispetto ad un altro linfonodo sentinella più prossimale rispetto alle neoplasie primitive (Fig. 5).

Appare estremamente interessante la frequente localizzazione sottomandibolare dei linfonodi sentinella per lesioni del labbro inferiore. Infatti, spesso, le linfoadenectomie eseguite profilatticamente per neoplasie di questa regione corporea non vengono erroneamente estese alla loggia sottomandibolare, che invece evidentemente dovrebbe essere sempre inclusa in queste procedure.

Aspetti anatomo patologici

La dimensione delle metastasi all'interno dei linfonodi sentinella sono solitamente minime e possono talvolta consistere in nidi cellulari di dimensioni submillimetriche.

Per questo motivo i linfonodi sentinella vengono abitualmente sezionati interamente lungo il loro asse maggiore ad intervalli di 1 mm. Da ciascun blocco vengono allestite 10 sezioni, 8 sezioni vengono colorate con ematossilina eosina mentre 2 (n. 1 e n. 5) vengono trattate con metodi che immunoistochimiche (S100) che consentono di incrementare la sensibilità della metodica di circa il 12-18% rispetto all'impiego della sola ematossilina-eosina.

Casistica clinica

Nella nostra esperienza sono stati valutati 82 pazienti consecutivi affetti da melanomi dell'estremo cefalico. Uno o più linfonodi sentinella sono stati identificati e prelevati nel 100% dei pazienti. Il volto ed il cuoio capelluto hanno rappresentato circa l'80% delle localizzazioni dei melanomi dell'estremo cefalico. Il linfonodo sentinella è risultato positivo nel 11% dei pazienti. Questo valore è estremamente variabile in letteratura, potendo dipendere dalla accuratezza di esecuzione della metodica, come anche dallo spessore medio delle lesioni primitive che compongono le diverse casistiche. Tutti i pazienti con micrometastasi nel linfonodo sentinella sono stati successivamente sottoposti a linfadenectomia radicale terapeutica.

La tabella I riassume le caratteristiche dei pazienti e delle relative lesioni trattate presso la UOC di chirurgia plastica dell'IDI IRCCS di Roma nel periodo in osservazione.

Considerazioni conclusive

La biopsia del linfonodo nel trattamento dei melanomi del distretto cefalico comporta particolari difficoltà tecniche che ne limitano le percentuali di successo rispetto ad altre sedi corporee. La curva di apprendimento risulta più lunga e complessa sia da un punto di vista strettamente chirurgico che linfoscintigrafico. È quindi opportuno un training formativo specifico di tutta la equipe medica.

Al fine di ottimizzare le percentuali di successo della procedura di biopsia del linfonodo sentinella occorre una stretta collaborazione tra medico nucleare ed il chirurgo operatore con un attivo e continuo scambio di informazioni riguardo specifiche problematiche cliniche o linfoscintigrafiche di ciascun paziente.

Dopo un adeguato periodo di formazione gli interventi chirurgici per la biopsia del linfonodo sentinella nel distretto cervico facciale possono essere eseguiti nella maggioranza dei casi in anestesia locale associata ad una sedazione endovenosa profonda (Propofol). Oltre ad evidenti vantaggi clinici ed economici, la mancata curarizzazione dei pazienti consente di valutare più accuratamente l'attività mimica del paziente durante le dissezioni di aree a rischio di lesioni nervose motorie.

La biopsia del linfonodo sentinella deve sempre preceduta dall'ampliamento della exeresi delle lesioni primitive con i margini previsti in letteratura (1 cm per melanomi di spessore < 1 mm, 2 cm per melanomi di spessore > 1 mm). In caso del volto è sempre opportuno adottare tecniche di

Caratteristiche dei pazienti n=74		No. di pazienti	%
Età media, anni: 52.7; Range, anni: 15-89; Età mediana, anni: 52		74	100
Sesso	- Uomini N°	35	47.2
	• Range, anni	18-83	
	• Età media, anni	52.4	
	• Età mediana, anni	50.5	
	- Donne N°	39	52.7
	• Range, anni	15-79	
	• Età media, anni	53	
	• Età mediana, anni	47	
Caratteristiche del melanoma primario			
Localizzazione	- Orecchio	11	14.8
	- Volto	30	40.5
	- Collo	7	9.4
	- Scalpo	26	35.1
Tipo Istologico	- A diffusione superficiale	46	62.1
	- Nodulare	14	18.9
	- Lentigo maligna	2	2.7
	- Desmoplastico	5	6.7
	- Altri	1	1.3
	- Sconosciuto	6	8.1
Spessore sec. Breslow, mm	- ≤1	13	17.5
	- 1.01-2.0	38	51.3
	- 2.01-4.0	16	21.6
	- >4.0	6	8.1
	- Sconosciuto	1	1.3
Livello di Clark	- I	0	0
	- II	2	2.7
	- III	12	16.2
	- IV	48	64.8
	- V	4	5.4
	- Sconosciuto	8	10.8
Ulcerazione	- Presente	5	6.7
	- Assente	69	93.2
Regressione	- Presente	1	1.3
	- Assente	73	98.6
Quota Mitotica	- Bassa	18	24.3
	- Grado medio	3	4
	- Elevata	11	14.8
	- Sconosciuta	42	56.7
Nodulo	- Presente	11	14.8
	- Assente	63	85.1
Stato del SN	- Negativo	66	88,89
	- Positivo	8	11,11

Tab. I

oncoplastica facciale onde evitare esiti cicatriziali deturpanti o particolarmente visibili che potrebbero pregiudicare la successiva vita di relazione dei pazienti. In questi interventi viene posta la massima attenzione nel posizionamento delle cicatrici chirurgiche sia nelle zone riceventi che anche nelle zone donatrici dei lembi impiegati nelle ricostruzioni e viene garantito il ripristino delle diverse unità e subunità estetiche del volto. Le tecniche avanzate di chirurgia oncoplastica facciale possono consentire eccellenti risultati estetici dopo ampie escissioni di melanomi anche nel trattamento di aree nobili del viso (Fig. 6-7).

SENTINEL LYMPH NODE DISSECTION FOR HEAD AND NECK MELANOMAS

A. Caggiati, S. Tenna

Sentinel lymph node dissection (SLND) is a minimally invasive procedure that identifies the pathway of the lymph and the first lymph nodes draining anatomical areas affected by primary tumors. It may disclose sub-clinical metastasis (not detectable by ultrasonography) screening those patients who, suffering from head and neck melanomas, may benefit from a radical therapeutic lymphadenectomy, thus avoiding unnecessary prophylactic dissections^{1,2}.

SLND is usually indicated for melanomas thicker than 1 mm or, for thinner lesion, in case of mitosis index equal or higher than 1, provided that distant metastases are instrumentally and clinically absent³.

This procedure should be performed within 8 weeks from melanoma's first excision, however there are not absolute contraindications to do it even after⁴.

Head and neck: tip and tricks

SLND in the head and neck district is more challenging than in the axillary or inguinal regions. As a matter of fact data from literature reported a minor identification rate of the node (about 95-97%) and also a higher morbidity than the other areas⁵.

Problems related to anatomy, surgical strategy as well as preoperative lympho-scintigraphy might all be considered in order to decrease unsuccessful dissection of sentinel lymph nodes in these areas.

Anatomy

The lymphatic pathway of head and neck region is very rich and complex, due to its extension and to many anastomotic circles, besides lymph nodes and lymph nodal stations are numerous and widely grouped^{6,7}.

Average dimensions of these lymph nodes are 3-5 mm, that it to say smaller than in other areas. Embryology gives reasons to this complexity and to the high anatomical variability: from 34% to 84% of patients (dif-

ferent series published) can present with unexpected drainage while in 10% of patients the drainage can be bilateral⁸⁻¹⁰.

Finally the sentinel node may be sometimes located in unusual areas requiring complex and delicate dissections such as within the parotid gland or close to the jugular vein⁹.

Surgical tips

Head and neck anatomy is very peculiar due to a large amount of nerves, arteries and veins that must be preserved in order to avoid significant complications as massive bleeding, facial palsy or sensitive deficiencies. The lateral-cervical region, the jugular and the submandibular areas are more risky for nervous injuries during SLND.

The area below the angle of the jaw must be carefully approached due to the relatively superficial course of the marginalis mandibulae nerve, which is a branch of the facial nerve, responsible for lower lip motion. The pathway of the nerve may change; it usually runs beneath the platysma muscle just under the margin of the mandibular arch, but in 15% of cases it lays 1 to 2 cm away from the mandible and it may be injured during SLND. Partial or complete damage of this nerve (due to involuntary section or inattentive cautery) may cause lips asymmetry and persisting alteration of motion. In order to avoid this complication during SLND, the mouth should be included in the operating field, so to point out eventual muscle twitching of the lips caused by nerve accidental stimulation.

Potential risk to damage sensitive nerves is also present in the superior lateral-cervical area, with concern for the great auricularis nerve that becomes superficial in the upper third of the sternocleidomastoid muscle arising from the posterior edge (Erb point), laying on its anterior surface up to the external ear. Injury to the great auricularis nerve may determine lasting anesthesia of the external ear.

The sternocleidomastoid area is often dissected to find out sentinel lymph nodes draining parieto-occipital regions so this nerve must be carefully considered and preserved.

Surgical anatomy is not the only peculiarity for SLND of head and neck, as dimensions of lymph nodes of this district also make this procedure more challenging. In our experience, average dimensions of these nodes range from 3 to 5 mm, thus, being so small, they have to be gently manipulated, may be easily missed, and surgical dissection could be tedious. Gamma probe is then crucial and should guide the dissection. Dye is not used in this district because it is either less effective than in other areas, or there is a higher risk of long lasting tattoo in the face. The blue dye,

in fact, may spread into the dermis surrounding the primitive lesion and may not be completely removed with the safe margin excision, lasting for months after surgery.

A gamma probe is used preoperatively to decide skin incision corresponding to the sentinel node. This maneuver should be done with the patient in the definitive operating position as even small movements of the head may affect preoperative evaluation of sentinel node location and miscalculate skin incision. Similarly, preoperative marking, made during the preoperative lympho-scintigraphy, should not be the primary choice for skin incision as it should always be checked with the gamma probe right before the beginning of surgery, with the patient in the final setting.

Finally skin incision for sentinel node dissection in the head and neck district should be limited also for cosmetic reasons. Nevertheless, to work properly, in a small area, the gamma probe must have at least a 10-13 mm diameter, and a close detection angle (10° - 15°). A slim probe will allow, even through small access, tridimensional and translational movements that are necessary to identify sentinel node location even in a reduced operating field.

Lympho-scintigraphic issues

Due to its rich vascularity, the head and neck district has a faster lymphatic flow than other areas so the radioactive tracer rapidly washout. For this reason, dynamics and early detection (after 10 minutes) are suggested to visualize loco-regional nodes. Another problem may also be the short distance between the primary lesion and its sentinel node. As a matter of fact, intradermic injection of the radioactive tracer (Tc99 Nano-coll) often spread to surrounding areas. Radioactive spreading is a typical problem of the cervical area as in other districts the distance between primary lesion and corresponding sentinel node is longer. In head and neck melanomas the radioactive tracer intradermal diffusion can include the node area so to hide it to the gamma probe. This is also called “shadow effect”.

A precise cooperation between Nuclear medicine specialist and surgeon is mandatory to avoid this problem. To limit the shadow effect only small volumes of tracer should be used during the preoperative lymphoscintigraphy, because spreading into surrounding tissues is proportional to volume of tracer injected. Using large volumes radioactivity of the primary lesion site may become indistinguishable from radioactivity of the sentinel node after a short period of time, as shown in figure 1.

On the contrary, using small volumes, a low signal zone is usually achieved between the lesion and the sentinel node thus making it easily distinguishable from the radioactivity baseline value of the operating field (Fig. 2).

The shadow effect can obviously also be reduced decreasing the interval between lymphoscintigraphy and surgical biopsy (max 3 hours). Tracer diffusion in surrounding tissues, in fact, is either proportional to volume or to interval between lymphoscintigraphy and the surgical procedure.

Lastly another trick to avoid the shadow effect, and simplify the gamma probe SLN identification, is to perform the wide margin excision of the primary lesion first, and then go on with the dissection of sentinel nodes. The high radioactivity surrounding the site of primary lesion site is so removed thus reducing interferences to the sentinel node dissection.

Some specific maneuvers with the gamma probe are also advisable and useful to find out SLN location and depth.

Geometrically speaking, a point is identified by intersection between two lines. As a matter of fact, the sentinel node can be considered the point, and the gamma probe the instrument to trace lines. With the patient in the operating position, the higher radioactivity (highest n. of counts) along a line in the latero-cervical region must be flagged on the skin. Then a second detection is done along another line, perpendicular to the first one and crossing it exactly at the point of highest count. The point of highest radioactivity along this second line corresponds to the cutaneous projection of the sentinel node. With this procedure a precise and simple marking of the underlying sentinel node can be achieved preoperatively (Fig. 3). The depth of the node is the third parameter that is also important to decide the type of anesthesia. To understand how deep the sentinel node is, the gamma probe must be used perpendicular to the skin, right on the previously identified cutaneous projection of the sentinel node, moving it from the outside inwards. A continuous increase of the signal means that the node is deep. On the contrary, a sudden drop will indicate that the tip of the probe has overtaken the node, and it is likely to be more superficial (Fig. 4).

Lymphatic drainage of head and neck

Despite the anatomical complexity and data reported in literature, in our experience lymphatic drainage of the head and neck proved to be relatively constant, systematical, and proper.

Lymphatic vessels from the scalp are oriented according to different regions: parietal and occipital areas converge to mastoid and retro auricular lymph nodes, while temporal and frontal areas usually drain to pre-

auricular stations. Frontal area, eyelid, cheek, nose and upper lip usually drain towards pre-auricular or jugular lymph nodes. Lymphatic flow from the lower lip, instead, may stop also below the jaw into submandibular or sub mental nodes before joining the jugular station as well.

It must also be outlined a frequent localization of the sentinel nodes into the supraclavicular basin. This localization might be unique but it is more likely a second localization with the first one more proximal to the original lesion (Fig. 5).

Finally it should also be stressed how frequently lower lip melanomas drain into the sub mandibular area, and how important it is, in those cases, to extend even prophylactic lymphadenectomy up to this level.

Pathological examination of sentinel nodes

The size of micrometastasis in sentinel node may be very minimal. Thus sentinel nodes have to be completely and serially sectioned at 1 mm interval along their major axis. From each block eight sections are embedded by hematoxylin-eosin while two (the 1th and the 5th) are treated by immunohistochemistry assay (S100). The association of immunostaining procedure allows to increase the sensitivity of the procedure to identify micrometastasis from melanoma (+12-18%).

Patients' population

Eighty-two patients affected by head and neck melanomas have been considered. One or more sentinel nodes have been identified and removed in 100% of patients. Sentinel lymph node resulted positive for melanomas micro metastasis in 11% of cases. This value is extremely variable if compared to literature as influenced by many conditions: thickness of primary lesions as well as methodology for SLN biopsy. The table I below summarized features of patients belonging to our population treated in the I.D.I. Plastic Surgery Division, in Rome.

Melanomas were mostly localized in the face and in the scalp (80% of all lesions).

Conclusions

Sentinel lymph node dissection for head and neck melanomas is a challenging procedure that may fail if not conducted properly.

Patients' population n=74		No. of patients	%
Average age: 52.7; Range, yy: 15-89; Median age: 52		74	100
Sex	- Men N°	35	47.2
	• Range, yy	18-83	
	• Average age, yy	52.4	
	• Median age, yy	50.5	
	- Women N°	39	52.7
	• Range, yy	15-79	
	• Average age, yy	53	
	• Median age, yy	47	
Primary melanoma features			
Localization	- Ear	11	14.8
	- Face	30	40.5
	- Neck	7	9.4
	- Scalp	26	35.1
Histological type	- Superficial spreading	46	62.1
	- Nodular	14	18.9
	- Lentigo maligna	2	2.7
	- Desmoplastic	5	6.7
	- Others	1	1.3
	- Unknown	6	8.1
Thickness (index of Breslow, mm)	- ≤1	13	17.5
	- 1.01-2.0	38	51.3
	- 2.01-4.0	16	21.6
	- >4.0	6	8.1
	- Unknown	1	1.3
Clark level	- I	0	0
	- II	2	2.7
	- III	12	16.2
	- IV	48	64.8
	- V	4	5.4
	- Unknown	8	10.8
Ulceration	- Present	5	6.7
	- Absent	69	93.2
Regression	- Present	1	1.3
	- Absent	73	98.6
Mitotic index	- Low	18	24.3
	- Medium	3	4
	- High	11	14.8
	- Unknown	42	56.7
Nodule	- Present	11	14.8
	- Absent	63	85.1
Histological status of SLN	- Negative	66	88,89
	- Positive	8	11,11

Tab. I

If compared to dissections in inguinal or axillary basins the learning curve for head and neck dissections is longer and more complex either surgically or lymphoscintigraphically. A multidisciplinary training of the whole group is thus crucial to decrease unsuccessful procedures.

A proper cooperation between surgeons and nuclear medicine specialist is mandatory for every case.

Once completed the learning period SLN biopsies, even in this area, can be often performed under local anesthesia combined with deep intravenous sedation (Propofol). Local anesthesia gives obvious clinical and economical advantages. However, it also has surgical advantages because facial movements can be accurately monitored during dissection, decreasing motor nerve lesions.

Margins of excision according to international guidelines should be 1 cm for melanomas thinner than 1 mm, and 2 cm for melanomas thicker than 1 mm.

Facial localization of primary lesions requires oncoplastic reconstructive techniques to minimize scars or major asymmetry so to limit the aesthetic damage mainly responsible of alterations of postoperative patients' relationship life.

In these procedures attention should be paid to surgical scar location of flaps both in the donor and in the recipient areas, using "like with like" reconstructions according to aesthetic units and subunits principles. Distant or free flaps usually don't have poor indications giving them poor cosmetic outcomes. Advanced oncoplastic reconstructive techniques allow excellent, natural and long lasting results even when facing melanoma of complex areas of the areas of the face such as the eyelid (Fig. 6-7).

Immagini/Images

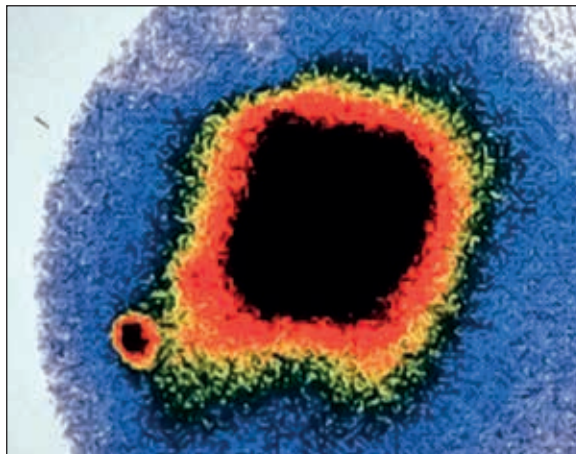


Fig 1: “Effetto ombra” sul linfonodo sentinella dovuto all’impiego di volumi eccessivi di radiotracciante.

Fig 1: “Shadow effect” due to excessive volume of radiotracer during lymphoscintigraphy.

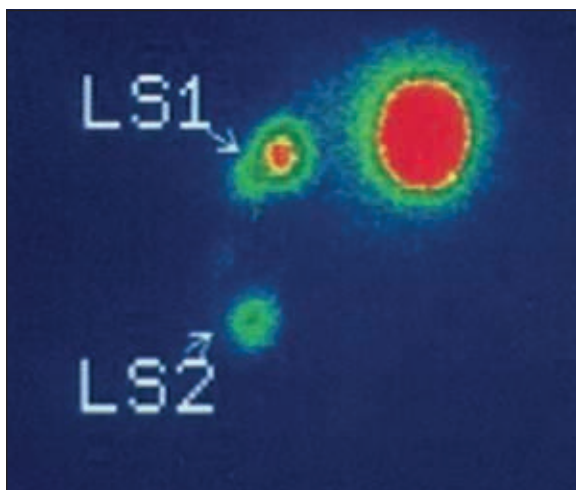


Fig 2: L’uso di volumi limitati di radiotracciante consente di mantenere una area priva di attività radioattiva anche quando la distanza tra la sede primitiva della neoplasia ed il linfonodo sentinella è minima.

Fig 2: Small volumes of radiotracer allow to identify sentinel nodes even when they are in close proximity to the primary lesion site.

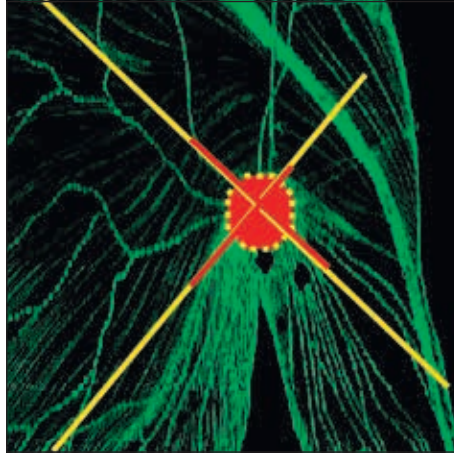


Fig. 3: Identificazione preoperatoria della proiezione cutanea del linfonodo sentinella mediante la rilevazione della massima attività radioattiva lungo due linee ortogonali tra loro.

Fig. 3: Preoperative evaluation of the cutaneous projection of sentinel node through identification of points of major radioactivity along two orthogonal lines.

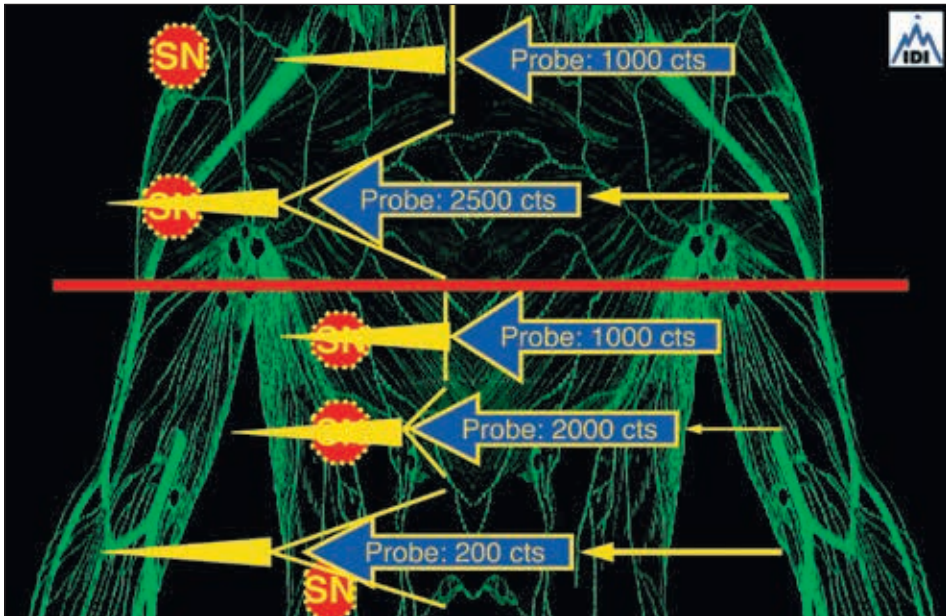


Fig. 4: Valutazione della profondità del linfonodo sentinella mediante movimenti della gamma probe dalla superficie in profondità.

Fig. 4: Preoperative evaluation of sentinel node depth through in-out movements of the gamma probe.

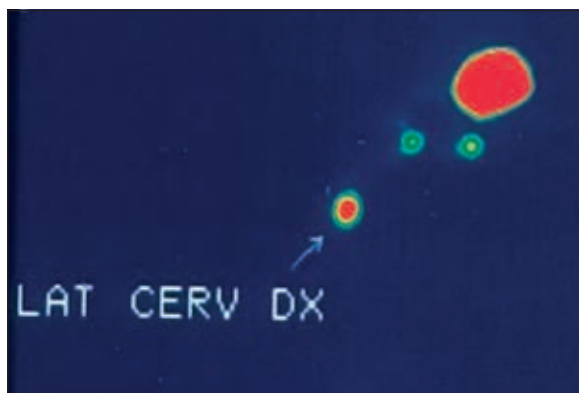


Fig. 5: Linfonodo sentinella secondario sovraclaveare tardivo.

Fig. 5: Late and secondary supraclavicular Sentinel node.

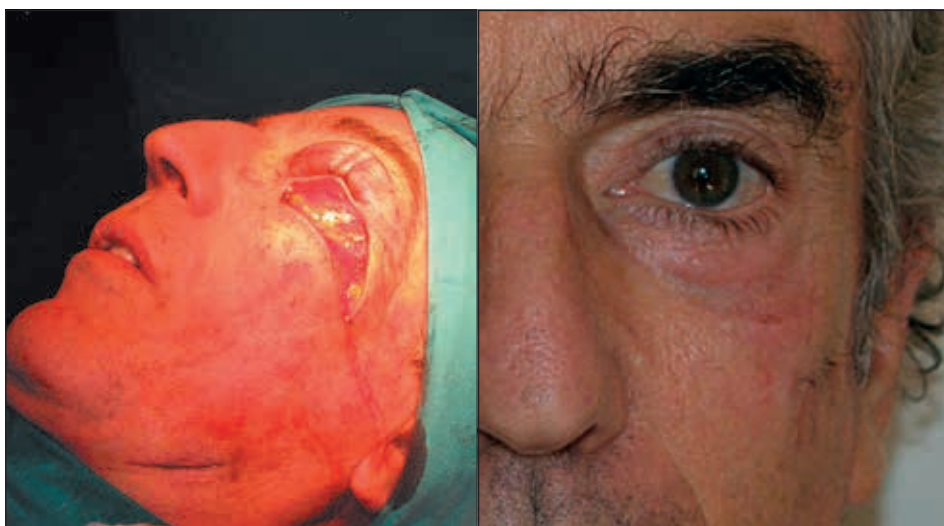


Fig. 6-7: Melanoma palpebrale. Risultato cosmetico seguente all'impiego di tecniche di chirurgia oncoplastica.

Fig. 6-7: Eyelid melanoma. Cosmetic outcome following oncoplastic surgery.

Bibliografia/References

1. Morton DL et al. Intraoperative lymphatic mapping and selective lymphadenectomy: technical details of a new procedure or clinical stage I melanoma. Presented at the Annual Meeting of the Society of Surgical Oncology. Washington, DC, 1990.
2. Reintgen E et al. The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg.* 1994;220:759-767.
3. Francken AB et al. The prognostic importance of tumor mitotic rate confirmed in 1317 patients with primary cutaneous melanoma and long follow-up. *Ann Surg Oncol.* 2004;11:426-433.
4. Johnson TM et al. The role of sentinel lymph node biopsy for melanoma: evidence assessment. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54:19-27.
5. McMasters KM et al. Sentinel lymph node biopsy for melanoma: controversy despite widespread agreement. *J Clin Oncol.* 2001;19:2851-2855.
6. Jansen L et al. Sentinel node biopsy for melanoma in the head and neck region. *Head Neck.* 2000;22:27-33.
7. Larson DL et al. Head and Neck Melanoma. *Clin Plastic Surg.* 2010;37:73-77.
8. Wells KE et al. The use of lymphoscintigraphy in melanoma of the head and neck. *Plast Reconstr Surg.* 1994;93:747-761.
9. O'Brien CJ et al. Prediction of potential metastatic sites in cutaneous head and neck melanoma using lymphoscintigraphy. *Am J Surg.* 1995;170:461-466.
10. Shah JP et al. Patterns of regional lymph node metastases from cutaneous melanoma of the head and neck. *Am J Surg.* 1991;162:320-323.

**L'ESPERIENZA PERSONALE NELLA BIOPSIA
DEL LINFONODO SENTINELLA NEI T1-T2 DEL CAVO ORALE**

*M.G. Vigili, A. Celebrini, B. Mafera, I. Villanova,
G. Tartaglione, M. Pagan, C. Marani, M.E. Natale, S. Rahimi*

Tra il 2001 e il 2004, sulla scorta dell'esperienza di numerosi centri Europei¹⁻¹¹, abbiamo intrapreso un trial singolo istituzionale per lo studio del Linfonodo Sentinella (LS) nei carcinomi squamosi del cavo orale (CSCO) in stadio non avanzato (T1-T2) che non presentassero linfonodi latero cervicali sospetti (N0).

Seguendo le linee guida del protocollo di Canniesburn⁹, presso la Unità Operativa Complessa di Otorinolaringoiatria dell'Ospedale San Carlo di Roma, abbiamo studiato 12 casi di pazienti con Carcinoma squamoso T1-T2 N0 del Cavo orale (Tab. I). Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad asportazione trans orale del tumore primitivo e Biopsia del linfonodo sentinella (BLS) seguita da Svuotamento latero cervicale nella stessa seduta chirurgica, al fine di valutare l'efficacia e validità della procedura nelle nostre mani e nelle nostre istituzioni. Tutti i pazienti risultavano stadiati N0 dopo TAC e RM del collo. I criteri di esclusione dallo studio erano rappresentati da linfonodi di diametro superiore a 1.5 cm, presa di contrasto periferica marginale, necrosi centrale, forma sferica e/o contorno mal definito del linfonodo. Veniva effettuato uno studio linfoscintigrafico approssimativamente entro le tre ore prima del trattamento chirurgico (same-day protocol) presso la Divisione di Medicina Nucleare dell'Ospedale Cristo Re. Dopo la somministrazione di anestetico locale in spray (lidocaina 10%), venivano iniettati superficialmente nello stroma sub epiteliale ai quattro punti cardinali intorno alla lesione tumorale 30-50 MBq, di Albumina Umana Nanocolloidale, marcata con 99mTc (*99mTc-Nanocoll® GE-Amersham Health*) diluita in 0.3 ml. Subito dopo il paziente sciacquava la bocca per prevenire l'accumulo del tracciante radioattivo e la sua involontaria ingestione. In tutti questi pazienti l'iniezione veniva praticata dal medico nucleare alla presenza del chirurgo cervico-facciale che avrebbe poi effettuato il prelievo del LS.

Il protocollo di acquisizione delle immagini iniziava immediatamente dopo l'iniezione del tracciante utilizzando una Gamma Camera con LEGP o un Collimatore ad alta sensibilità (Pixel matrix 256x256) in proiezione laterale e/o anteriore. Immagini dinamiche e statiche precoci venivano fotografate immediatamente dopo l'iniezione e per un tempo massimo di circa

30 minuti (Fig. 1). La sede del linfonodo radio-captante veniva indicata marcando con inchiostro indelebile la cute cervicale, con il paziente in posizione chirurgica.

L'asportazione chirurgica del tumore e la BLS radioguidata venivano effettuate presso le sale operatorie dell'Ospedale San Carlo, entro le tre ore successive alla linfo-scintigrafia. Il medico nucleare che aveva fatto l'esame era presente in sala operatoria per verificare la correlazione fra numero e posizione dei linfonodi evidenziati con quella dei linfonodi sentinella individuati ed asportati nella procedura chirurgica. Nella ricerca dei LS il chirurgo si è avvalso di un probe manuale (*Neoprobe - Ethicon*) (Fig. 2), che testava la radioattività dei linfonodi nei tessuti del collo attraverso l'incisione effettuata, poi verificandola sui linfonodi asportati e sullo specimen dello svuotamento. Per classificare un linfonodo come sentinella abbiamo considerato necessario un valore di radioattività tre volte superiore rispetto al background basale, testato a livello del fegato. In questo gruppo di pazienti è stato effettuato comunque a tutti lo svuotamento latero cervicale, con esame istologico di tutti i linfonodi.

I LS venivano fissati in formalina 10%, poi sezionati lungo l'ilo, quando riconoscibile, o comunque lungo l'asse maggiore del linfonodo. Ogni emi-parte veniva tagliata con sezioni di 1 mm, di cui alternativamente una esaminata con colorazione tradizionale Ematossilina-Eosina (E-E), ed una riservata per lo studio immunoistochimico con anticorpi anticitocheratine (AE1/AE3), se l'esame con E-E fosse risultato negativo.

La tabella I mostra la stadiazione di T, la sede di T, il numero di linfonodi sentinella positivi e negativi asportati per ciascun livello ed il numero globale e patologico di linfonodi dello Svuotamento latero cervicale.

In tutti i casi il linfonodo sentinella è stato identificato; nell'83% dei casi (10/12) i LS erano localizzati unicamente ai livelli I e II del collo omolaterale al T. Il numero medio di linfonodi asportati risultava essere 2.1 per paziente, con un diametro medio del LS di 13.8 mm. Sono risultati affetti da metastasi 5/12 casi (41.6%) intercettate ai livelli I, II e III, tutte identificate con la colorazione routinaria E-E. Tra questi 5 pazienti con linfonodo sentinella positivo una ulteriore metastasi nello specimen dello svuotamento è stata riscontrata in un solo caso al III livello.

L'esame istopatologico dei linfonodi asportati con lo svuotamento nei 7 pazienti con LS negativo non ha reperito alcuna metastasi negli oltre 300 linfonodi esaminati (VPN 100%).

Il follow up di questi pazienti, seguito con studio ecografico del collo ogni 3 mesi è superiore ai 5 anni. Tutti sono rimasti liberi da malattia sul collo dal lato svuotato. In due casi con LS positivo si è verificata una recidiva di malattia su T e M in un paziente, su T ed N controlaterale nell'altro, rispettivamente nove e sei mesi dopo l'intervento. Due pazienti sono deceduti,

Pat	cT	SEDE di T	I Livello		II Livello		III Livello		Ln svuot		Tot LN
			SN -	SN +	SN -	SN +	SN -	SN +	N -	N +	
1	T2	Lingua post	0	0	2	0	0	1	50	1	54
2	T2	Lingua ant	0	0	1	0	0	0	31	0	32
3	T2	Lingua post	1	0	1	0	0	0	23	0	25
4	T1	Mucosa bocca	2	0	0	0	0	0	36	0	38
5	T2	Lingua post	0	0	1	0	0	0	57	0	58
6	T2	Lingua e pavimento	1	0	0	0	0	0	55	0	56
7	T2	Lingua post	0	0	4	0	0	0	77	0	81
8	T2	Lingua ant	3	1	1	0	0	0	50	0	55
9	T2	Lingua ant	1	0	0	1	0	0	82	0	84
10	T2	Lingua ant	0	0	1	1	0	0	53	0	55
11	T2	Lingua post	1	0	0	1	0	0	54	0	56
12	T1	Lingua ant	0	0	1	0	1	0	23	0	25
TOTALE			9	1	12	3	1	1	591	1	618

Tab. I: Pazienti sottoposti a BLS e Svuotamento: Stadio di T, sede del Tumore e numero di LS positivi e negativi asportati per ogni livello del collo. Le due colonne di destra mostrano il numero di linfonodi riscontrati nello specimen dello svuotamento, con i linfonodi patologici.

uno per la recidiva ed uno per un arresto cardiaco durante una seduta di chemioterapia. Un paziente con LS negativo ha avuto ripresa di malattia su T 14 mesi dopo l'intervento, ma è tutt'ora vivo dopo chirurgia di recupero seguita da radioterapia.

I dati di questo studio sono stati pubblicati nel 2007¹², ma sin dal 2004, incoraggiati dai risultati di questa esperienza preliminare e dai numerosi lavori della Letteratura, abbiamo deciso di continuare ad effettuare la procedura del LS con il protocollo same day, non sottoponendo più a svuotamento i casi con LS negativo, ma riservando lo svuotamento in secondo tempo, ai soli casi con metastasi comprovate.

Nel 2006 abbiamo aderito allo studio osservazionale prospettico Europeo del Linfonodo sentinella approvato dell'EORTC volto a validarne il ruolo

nei tumori del cavo orale. Allo studio multicentrico hanno partecipato 15 Centri Europei ed il nostro contributo è stato di 22 pazienti trattati presso l'Ospedale San Carlo.

Dal giugno 2004 al dicembre 2014, sono stati sottoposti presso il nostro Centro alla procedura del linfonodo sentinella 45 pazienti affetti da T1-T2 N0 del cavo orale. Trentacinque di essi (19 f, 16 m, età media 66.9 anni) hanno raggiunto un follow up di 5 anni (media 65 mesi). I dati di questi pazienti vengono presentati nella tabella II.

Tutti i pazienti erano classificati N0 dopo studio del collo con TAC o RM. Il protocollo Linfoscintigrafico di Chirurgia radioguidata e patologico era lo stesso della precedente esperienza e rispondente alle indicazioni dello studio europeo (SENT). La Linfoscintigrafia e la Chirurgia venivano sempre effettuate a distanza di poche ore (same day protocol).

La tabella II mostra per ogni paziente lo stadio di T, la sede tumorale, il livello cervicale dei LS ed il loro stato e i linfonodi dello svuotamento nei casi di LS positivo.

Il LS è stato identificato in tutti i casi, sia con la Linfoscintigrafia, che con il gamma probe durante la procedura chirurgica. In 27/35 casi (77%) i LS erano localizzati unicamente nei livelli cervicali omolaterali I-II; in 8/35 casi (23%) nel III livello e solo in un caso nel V livello. Il numero medio di linfonodi asportati è stato di 1.7 per ogni paziente. Metastasi sono state trovate in 10/35 casi (28.6%) al I, II e III livello, tutte identificate con la colorazione E-E. Nello svuotamento di questi 10 pazienti con LS positivo sono stati riscontrati altri 10 linfonodi positivi in 4 casi: 4 linfonodi in 2 casi, e 1 linfonodo negli altri 2, tutti allo stesso livello del linfonodo sentinella.

I 25 pazienti con LS negativo sono stati seguiti con attento follow up, che prevedeva esame ecografico del collo ogni 3 mesi per i primi 3 anni e ogni 6 mesi fino al quinto anno. In nessun caso si è verificata comparsa di metastasi ai linfonodi del collo omolaterale.

Nove pazienti (25.7%) hanno avuto una recidiva: 5 su T, 2 su T e M ed 1 su T e N. Un caso ha sviluppato una metastasi su N contro laterale. In 7 casi è stata praticata una chirurgia di salvataggio, seguita da radiochemioterapia in 4 di essi.

Quattro pazienti sono stati colpiti da un secondo tumore, orofaringeo in 2, laringeo in uno e del colon retto in un caso. Il paziente con la recidiva laterocervicale contro laterale ha avuto una concomitante recidiva di un precedente Linfoma.

Quattro pazienti sono deceduti per la patologia oncologica, due per il tumore orofaringeo uno per il Linfoma ed uno, senza recidiva, per altra patologia. Un paziente è stato perso dal follow up. I pazienti vivi a 5 anni sono il 77%, di cui liberi da malattia il 71%.

Pat	cT	SEDE T	I Livello		II Livello		III Livello		IV-VLiv.		Ln svuot		Tot LN
			SN -	SN +	SN -	SN +	SN -	SN +	SN -	SN+	N -	N+	
1	T2	Lingua post	0	0	0	1	0	0	0	0	46	4	51
2	T1	Pavimento	0	0	1	1	0	0	0	0	106	0	108
3	T1	Mucosa Buccale	3	0	1	0	0	0	0	0	3	0	7
4	T1	Lingua ant	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	4
5	T1	Gengiva-Mucosa Buccale	1	0	0	0	0	0	1	0	6	0	8
6	T2	Lingua post	0	1	1	0	0	0	0	0	26	0	28
7	T1	Alveolo superiore	3	0	1	0	0	0	0	0	4	0	8
8	T1	Lingua ant	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2
9	T1	Pavimento	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
10	T2	Lingua post	0	0	1	1	0	0	0	0	33	1	36
11	T1	Alveolo superiore	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2
12	T1	Lingua ant	0	1	2	0	0	0	0	0	30	1	34
13	T2	Pavimento	0	0	2	0	0	0	0	0	5	0	7
14	T1	Mucosa Buccale	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
15	T1	Lingua post	0	0	0	0	0	1	0	0	39	0	40
16	T1	Lingua ant	0	0	2	0	0	0	0	0	4	0	6
17	T1	Trigono retromolare	0	0	1	0	1	0	0	0	3	0	5
18	T1	Alveolo superiore	2	0	0	0	0	0	0	0	3	0	5
19	T1	Mucosa Buccale	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
20	T2	Lingua ant	0	0	1	1	0	0	0	0	27	0	29
21	T1	Lingua ant	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	3
22	T2	Lingua ant	1	0	0	1	0	0	0	0	44	0	46
23	T2	Lingua post	0	0	1	0	2	0	0	0	3	0	6
24	T1	Lingua ant	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2
25	T1	Lingua ant	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
26	T1	Pavimento	0	0	3	1	0	0	0	0	5	4	13
27	T1	Lingua post	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	4
28	T1	Lingua ant	0	0	3	0	0	0	0	0	6	0	9
29	T1	Lingua ant	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0	4
30	T1	Lingua inf	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
31	T2	Mucosa Buccale	1	1	0	0	0	0	0	0	15	0	17
32	T1	Lingua ant	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
33	T1	Lingua ant	0	0	1	0	0	0	0	0	10	0	11
34	T1	Lingua ant	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
35	T1	Mucosa Buccale	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
TOTALE			23	3	32	6	11	1	1	0	422	10	509

Tab. II: Stadio di T, sede del Tumore e numero di LS positivi e negativi asportati per ogni livello del collo. Le due colonne di destra mostrano il numero di linfonodi riscontrati nello specimen dello svuotamento, con i linfonodi patologici.

La morbilità della biopsia del linfonodo sentinella sul collo è stata minima. Abbiamo riscontrato in un caso un sieroma, in un caso un ematoma ed in un caso un deficit parziale del ramo marginalis mandibulae del Facciale. Non è capitata nessuna complicanza maggiore.

La degenza ospedaliera media dopo la BLS e l'asportazione del tumore è stata di 5.9 gg (range 3-15 gg) ed il 60% dei pazienti è stato dimesso entro 3 gg. dall'intervento chirurgico.

Discussione e conclusioni

Al momento si può affermare che importanti trial multicentrici¹³⁻¹⁵ con casistiche ampie hanno confermato i risultati incoraggianti dei primi studi sul linfonodo sentinella e che nella stadiazione e trattamento dei tumori non avanzati N0 del cavo orale il LS abbia avuto una sua validazione: la sensibilità della metodica varia fra 87% e 93% ed il valore predittivo negativo (VPN) è compreso fra il 94% ed il 97%.

La nostra esperienza decennale conferma i dati della letteratura riguardo l'accuratezza nel predire la presenza di metastasi occulte. Nei pazienti trattati presso l'Ospedale San Carlo tra il 2001 ed il 2010, 15 casi su 47 (31.9%) hanno potuto avere un upstaging da N0 a N+ e sono stati trattati precocemente con lo svuotamento latero cervicale.

Il VPN dei nostri casi è stato pari al 96% (24/25), valutato sul follow up minimo di 5 anni. Questo dato vuol dire che circa 70% dei pazienti ha evitato uno svuotamento latero cervicale, che si sarebbe rivelato inutile e potenzialmente dannoso.

Nella nostra esperienza, durante la Linfoscintigrafia è sempre consigliabile l'iniezione superficiale del tracciante radioattivo, poiché nello stroma sub epiteliale ci sono molti più capillari linfatici; ciò fornisce una maggior area di captazione ed un drenaggio linfatico più rapido che permettono di avere una immagine linfoscintigrafica del LS più chiara e in tempi rapidi (5-15 min). Se l'iniezione viene fatta più in profondità, il tempo della linfoscintigrafia si allunga, la qualità dell'immagine è peggiore, il radio tracciante si accumula nel sangue aumentando la radioattività basale e rendendo più difficoltosa la individuazione del LS.

Riteniamo inoltre che per identificare più agevolmente il LS sia importante effettuare un'acquisizione linfoscintigrafica dinamica e statica precoce entro al massimo 15-30 minuti dopo l'iniezione del radio farmaco e sottoponendo il paziente alla procedura chirurgica radioguidata entro le tre ore successive (protocollo same day).

L'obiettivo del protocollo che abbiamo applicato nei nostri casi è stato volto ad identificare i LS presenti quasi sempre nelle stazioni linfonodali

più vicine al Tumore primitivo, che per il cavo orale sono quasi sempre il I e II livello. Nel 79% dei casi (37/47) i LS erano individuati solo nei livelli I e II del collo omolaterale al T, ma in tutti i casi il LS veniva riscontrato al livello I e/o al livello II (Fig. 3).

Il numero medio di linfonodi asportato per ogni paziente è stato globalmente inferiore a 2. Questo risultato permette di affermare che il protocollo così applicato garantisce l'asportazione di un numero limitato di LS, con un'estensione chirurgica altrettanto limitata (un'unica incisione per uno o due livelli contigui), minimizzando pertanto la morbidità ed i costi. L'uso della sonda per la chirurgia radioguidata rimane obbligatorio. Il conteggio della radioattività del LS selettivamente asportato risulta molto preciso e deve essere almeno di tre volte superiore al valore di radioattività basale. L'uso di coloranti vitali quali il Blue dye rimane controverso e personalmente, in accordo con altri¹¹, non lo abbiamo utilizzato.

Lo svuotamento latero cervicale nei casi di LS positivo è stato effettuato entro 28 gg dalla BLS, e la chirurgia differita non ha comportato alcuna complicanza.

Nell'applicazione di questa procedura concordiamo con la necessità di una curva di apprendimento valutata in circa 10 casi. La prima fase dovrebbe comportare sempre la combinazione della BLS e dello svuotamento latero cervicale, per verificare sullo specimen chirurgico dello svuotamento l'assenza di linfonodi positivi in caso di LS negativo.

Infine, la procedura della BLS rimane una procedura di gruppo, in cui la collaborazione di competenze diverse necessita una integrazione multidisciplinare fra Chirurgo, Medico Nucleare ed Anatomo Patologo. Nonostante il continuo miglioramento della tecnologia attuale, riteniamo che il successo della metodica possa essere tutt'ora favorito dalla presenza in Sala Operatoria, durante la identificazione del LS, del Medico Nucleare che ha effettuato la Linfoscintigrafia, come da anni avviene nella nostra esperienza.

**PERSONAL EXPERIENCE WITH SENTINEL NODE BIOPSY
FOR T1-T2 N0 ORAL CAVITY SQUAMOUS CELL CARCINOMA**

*M.G. Vigili, A. Celebrini, B. Mafera, I. Villanova,
G. Tartaglione, M. Pagan, C. Marani, M.E. Natale, S. Rahimi*

Between 2001 and 2004, following multiple European centers experiences¹⁻¹¹, we initiated single institutional trial, studying sentinel node biopsy (SNB) for early Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma (OCSCC). According to the Canniesburn protocol⁹, in the Department of Otorhinolaryngology of San Carlo Hospital in Rome, we studied 12 cases of cT1-T2 N0 OCSCC (Tab. I). All patients were submitted to excision of tumour and SNB followed by neck dissection (ND) at the same time, to validate, in our hands and in our institution, the procedure.

All were classified as N0 neck by a CT scan or MRI. Exclusion criteria were node CT/MR size > 1.5 cm; marginal enhancement following i.v. administration of medium contrast; central necrosis; spherical shape with not definable contour. A lymphoscintigraphic (LS) examination was performed one-three hours before surgery (same-day protocol) in the Department of Nuclear Medicine of Cristo Re Hospital. After a local anaesthetic (10% lidocaine spray), 30-50 MBq, Human Albumin Nanocolloid marked with ^{99m}Tc (*^{99m}Tc-Nanocoll® GE-Amersham Health*) diluted in 0.3 mL, was injected superficially into the sub-epithelial stroma in four points around the tumour. The mouth was immediately washed to prevent pooling and the swallowing of residual radioactivity. In all these patients the injection of the radiotracer was performed by the Nuclear Medicine specialist in the presence of the Head and Neck surgeon.

The image acquisition protocol commenced immediately after injection using a Gamma Camera with LEGP or High Sensitivity collimator (Pixel matrix 256x256) in Lateral and/or Anterior views. Dynamic and early Static images were taken immediately after injection and for up to 30 minutes later (Fig. 1). The skin above the SN was coloured with an indelible marker with patient in surgical position.

Surgery and a radio-guided SNB were performed three hours after lymphoscintigraphy in San Carlo Hospital. The Nuclear Medicine specialist who had performed LS was present in the Operatory Room to verify correlation between lymphoscintigraphic data and SN excised. A hand held gamma probe (*Neoprobe – Ethicon*) searched the lymphatic basin for SNs during neck surgery (Fig. 2) and then on the lymph nodes selectively

excised and finally on the surgical specimens obtained. To be classified as SN, the activity counts of it should be at least three times that of the background. All patients underwent an elective neck dissection.

The SN's were fixed in 10% neutral buffered formalin and bisected through the hilum (when identifiable) or through the long axis of the node. Each half was cut into 1 mm slices; some were stained with H&E and others were reserved for immunohistochemistry analysis with antibody against cytokeratin (AE1/AE3) when the traditional method result was negative. Table I shows cTNM stage, tumour site, number of LNs examined after neck dissection and the neck level of SNs detected and their pathological status.

SNs were found in all cases; 83% (10/12) were located only in the ipsilateral neck levels I-II. The mean number of SNs detected was 2.1 and the mean size, measured on pathological specimens, was 13.8 mm. Metastases were found in 5/12 cases (41.6%) at levels I, II and III, all of which were identified by step serial sectioning and routine H&E staining. Among these SN+ patients, another metastatic node was found only in one case, in level III of the neck dissection specimen.

Histopathological examination of the neck specimens in the 7 patients with negative SNs, revealed no other metastases in the 300 neck nodes dissected. The mean follow up of these patients, based on US of the neck every three months, was at least 5 years long. All patients remained disease free on the neck dissected site. In two cases with positive SN the disease re-occurred on T and M in one patient, on T and contralateral neck in another patient, 9 and 6 months after surgery, respectively. Two of these patients died, one of the disease, and the other of a heart attack during chemotherapy. One patient had recurrence on T, 14 months after surgery; he is still alive and disease free, after surgery and radio therapy.

Data from this study were published in 2007¹², but since 2004 we were encouraged, by our results in agreement with data from Literature, to go on with the same day SNB protocol, reserving ND only for proven positive lymphatic metastases.

In 2006 a prospective European Sentinel Node observational trial approved by the EORTC was commenced to establish the role of SNB in the management of mouth cancer. This multicenter study was involving 15 European Head and Neck Cancer Centres (SENT) and San Carlo Hospital contributed 22 patients to the Study.

From June 2004 to December 2014 45 patients were treated with SNB protocol in our institution. Thirty-five of them (19 f, 16 m, mean age 66.9 years old) reached a 5 years follow up (mean 65 month). Data of these patient are presented here (Tab. II).

Pat	cT	SCC Site	I Level		II Level		III Level		END LN		Tot LN
			SN -	SN +	SN -	SN +	SN -	SN +	N -	N +	
1	T2	Tongue post	0	0	2	0	0	1	50	1	54
2	T2	Tongue ant	0	0	1	0	0	0	31	0	32
3	T2	Tongue post	1	0	1	0	0	0	23	0	25
4	T1	Buccal mucosa	2	0	0	0	0	0	36	0	38
5	T2	Tongue post	0	0	1	0	0	0	57	0	58
6	T2	Tongue ant FOM	1	0	0	0	0	0	55	0	56
7	T2	Tongue post	0	0	4	0	0	0	77	0	81
8	T2	Tongue ant	3	1	1	0	0	0	50	0	55
9	T2	Tongue ant	1	0	0	1	0	0	82	0	84
10	T2	Tongue ant	0	0	1	1	0	0	53	0	55
11	T2	Tongue post	1	0	0	1	0	0	54	0	56
12	T1	Tongue ant	0	0	1	0	1	0	23	0	25
TOTAL			9	1	12	3	1	1	591	1	618

Tab. I: Patient submitted to SNB and END: cT staging, site of Tumour and number of SNs positive and negative detected for each neck level. The two columns on the right side of the Tab. show the number of lymph nodes found in the specimen of the neck dissection and the histopathological result.

All patients were classified as N0 neck by a CT scan or MRI neck examination. The Lymphoscintigraphic and Radioguided surgical protocol was exactly the same as the previous experience. LS was performed about three hours before surgery.

Table I shows for each patient cT stage, tumour site, number of SNs detected for each neck level and their pathological status.

SNs were found in all cases by LS and then by gamma probe during surgical procedure. In 27/35 cases (77%) they were localised only on the ipsilateral neck levels I-II; in 8/35 (23%) in the level III and in 1/35 in level V. The mean number of SNs detected was 1.7 for each patient. Metastases were found in 10/35 cases (28.6%) at levels I, II and III; all of them were identified by step serial sectioning and routine H&E staining.

Among these SN+ patients, 10 other metastatic nodes were found in 4 cases (4 in two and 1 in the other two), in the ND specimen. All of them were in the same neck level of the positive SN.

The 25 SNB negative cases were submitted to follow up protocol performing US of the neck every 3 month for the following three years, and twice a year to the fifth year after surgery.

No one ipsilateral neck metastases was found in the long term follow up. 9 patients (25.7%) had recurrence: 5 on T, 2 on T and M and 1 on T and N. One case had neck metastases in the contralateral neck In 7 cases savage surgery was performed followed by radio-chemotherapy in 4 of them. Four patients had second tumour, in oropharynx 2, in larynx 1, in colon rectal tract 1. The patient with contralateral neck recurrence had also recurrence of concomitant Lymphoma.

Four patients died of the disease; two of the oropharyngeal tumour, one of the Lymphoma and one, with no recurrence, by other disease. One patient was lost for follow up.

77% of patients are alive after 5 years. Disease free survival rate is 71%. The morbidity of SNB was minimal. Minor complication were seroma (1), haematoma (1) and temporary palsy of the marginal branch of the facial nerve (1). No major complications occurred. Mean Hospital stay following SNB and primary tumour resection was 5.9 days (range 3-15 days) and 60% of patients were discharged within 3 days of their surgery.

Discussion and conclusion

Nowadays large multi-institutional pathologic validation trial¹³⁻¹⁵ have supported previous encouraging results on SNB: sensitivity is ranging between 87% and 93% and NPV is 94-97%, confirming that SNB is a reliable and safe method of staging the N0 neck in patients with early OCSCC.

Our study confirms data from literature about the accuracy of SNB in predicting occult metastases. In our Centre between 2001 and 2010 a total of 15/47 (31.9%) patients were upstaged from cN0 to pN+.

The NPV was 96% (24/25), evaluated after 5 years follow-up. This means that about 70% of patients avoided unnecessary neck dissection.

In our experience during LS, superficial injections of the radiotracer are advised, because in the sub-epithelium stroma there are many more lymphatic capillaries: this provides a larger surface area for uptake, faster lymph drainage and gives a clearer view of SN in a shorter time (15). When a deep injection is performed the time of LS is longer, the quality of

Pat	cT	SCC Site	I Level		II Level		III Level		IV-V Lev.		END LN		Tot LN
			SN -	SN +	SN -	SN +	SN -	SN +	SN -	SN+	N -	N+	
1	T2	Tongue post	0	0	0	1	0	0	0	0	46	4	51
2	T1	FOM	0	0	1	1	0	0	0	0	106	0	108
3	T1	Buccal mucosa	3	0	1	0	0	0	0	0	3	0	7
4	T1	Tongue ant	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	4
5	T1	Gengiva-Buccal mucosa	1	0	0	0	0	0	1	0	6	0	8
6	T2	Tongue post	0	1	1	0	0	0	0	0	26	0	28
7	T1	Upper alveolus	3	0	1	0	0	0	0	0	4	0	8
8	T1	Tongue ant	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2
9	T1	FOM	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
10	T2	Tongue post	0	0	1	1	0	0	0	0	33	1	36
11	T1	Upper alveolus	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2
12	T1	Tongue ant	0	1	2	0	0	0	0	0	30	1	34
13	T2	FOM	0	0	2	0	0	0	0	0	5	0	7
14	T1	Buccal mucosa	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
15	T1	Tongue post	0	0	0	0	0	1	0	0	39	0	40
16	T1	Tongue ant	0	0	2	0	0	0	0	0	4	0	6
17	T1	Retromolar area	0	0	1	0	1	0	0	0	3	0	5
18	T1	Upper alveolus	2	0	0	0	0	0	0	0	3	0	5
19	T1	Buccal mucosa	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
20	T2	Tongue ant	0	0	1	1	0	0	0	0	27	0	29
21	T1	Tongue ant	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	3
22	T2	Tongue ant	1	0	0	1	0	0	0	0	44	0	46
23	T2	Tongue post	0	0	1	0	2	0	0	0	3	0	6
24	T1	Tongue ant	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2
25	T1	Tongue ant	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
26	T1	FOM	0	0	3	1	0	0	0	0	5	4	13
27	T1	Tongue post	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	4
28	T1	Tongue ant	0	0	3	0	0	0	0	0	6	0	9
29	T1	Tongue ant	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0	4
30	T1	Tongue inf	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
31	T2	Buccal mucosa	1	1	0	0	0	0	0	0	15	0	17
32	T1	Tongue ant	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
33	T1	Tongue ant	0	0	1	0	0	0	0	0	10	0	11
34	T1	Tongue ant	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
35	T1	Buccal mucosa	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
TOTAL			23	3	32	6	11	1	1	0	422	10	509

Tab. II: cT staging, site of Tumour and number of SNs, positive and negative detected for each neck level. The two columns on the right side of the Table show the number of lymph nodes found in the specimen of the neck dissection and the histopathological result.

image poorer, the blood accumulation rate of tracer and background are increased, and the success rate in SN identification is lower.

We believe that in order to detect true SNs, it is important to perform a dynamic and early static acquisition at least 15-30 minutes after the radiotracer injection and a radio-guided biopsy within three hours.

The aim of this same day protocol is to detect the SNs which are almost always present in the 1st and 2nd neck levels. In 79% of cases (37/47) SNs were localised only in the ipsilateral neck levels I-II, but in all cases SNs were found in level I and/or level II (Fig. 3). The mean number of lymph node excised was less than 2 LN for patient. These data means that this technique has the advantage of limiting the number of lymph nodes to be examined and the extent of surgery, so minimizing morbidity and costs.

Radioguided surgery is mandatory. The activity count of the SN selectively excised is measured by a gamma probe and should be at least three times the count of the background activity. Use of Blue dye remains controversial and, in accordance with some authors¹¹, we did not use it. END in positive SNB was performed within 28 days and no more complications occurred after second surgery.

We agree with previous studies that the learning curve should be of at least 10 procedures and that the first step to start with SNB is to perform the excision of the SN, followed by neck dissection to verify that no other LNs positive are present in the neck specimen when SNB is negative.

SNB procedure remains a Cooperative group procedure. The presence of the Nuclear Medicine specialist in OR for helping the surgeon to search the SN marked on the skin after Lymphoscintigraphy, is nowadays actual and useful.

Immagini/Images

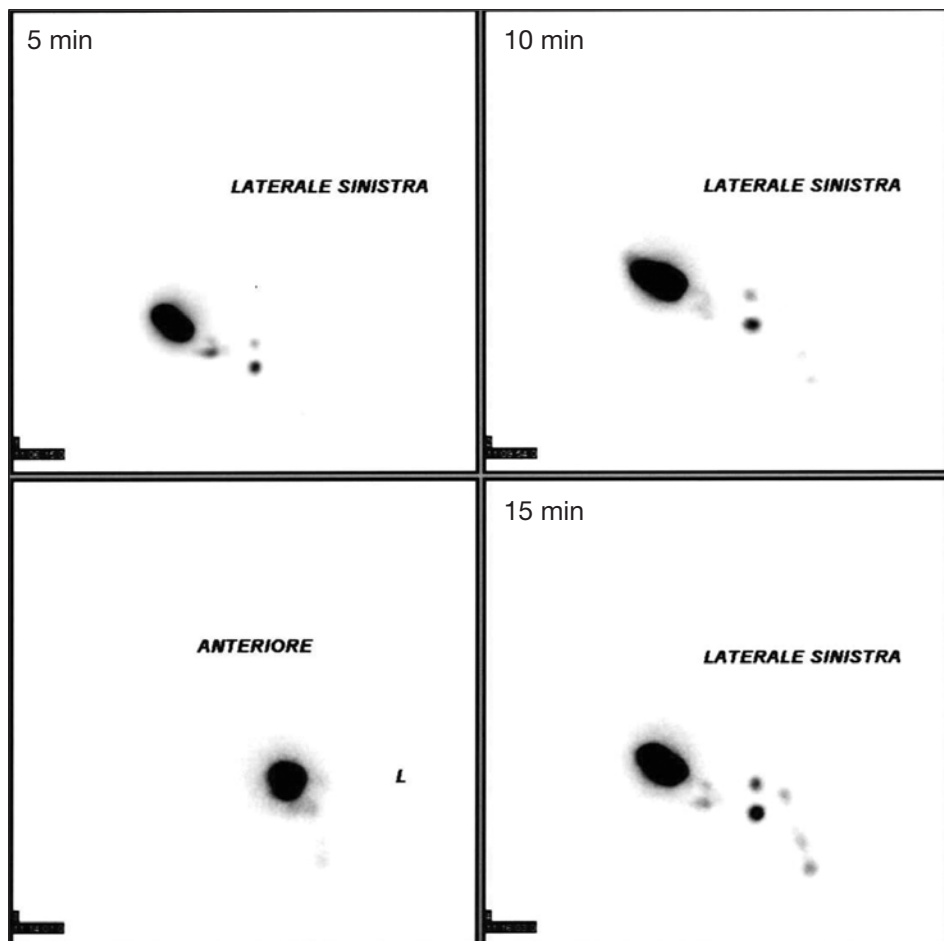


Fig. 1: T2NO del pavimento orale. Visione linfoscintigrafica anteriore e laterale sinistra. È evidente il punto di iniezione, i linfonodi sentinella al I e II livello, 5-10 e 15 minuti dopo l'iniezione del Nanocol®.

Fig. 1: SCC cT2N0, FOM tumour, Lymphoscintigraphy Ant and Left Lateral view. The scan shows the point of injection, the SNs at level I and II, 5,10 and 15 minutes after the injection of Nanocol®.

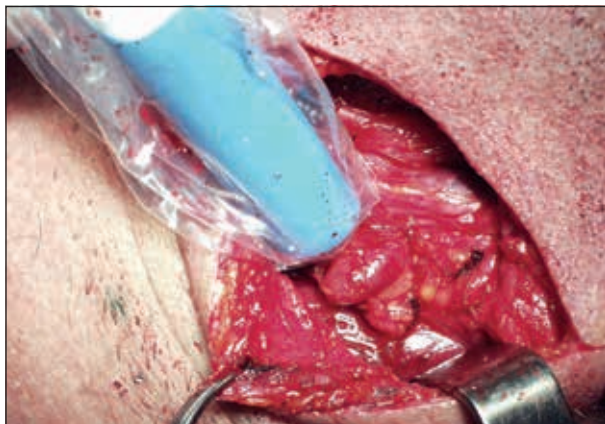


Fig. 2: Il LS è ricercato utilizzando la sonda gamma probe (*Neoprobe – Ethicon*) entro il campo chirurgico nel testare la radioattività del LS e nello specimen dello svuotamento.

Fig. 2: The lymphatic basin is searched with a hand held gamma probe (*Neoprobe – Ethicon*) for SNs in the surgical field (up) and in neck specimen after neck dissection (down).

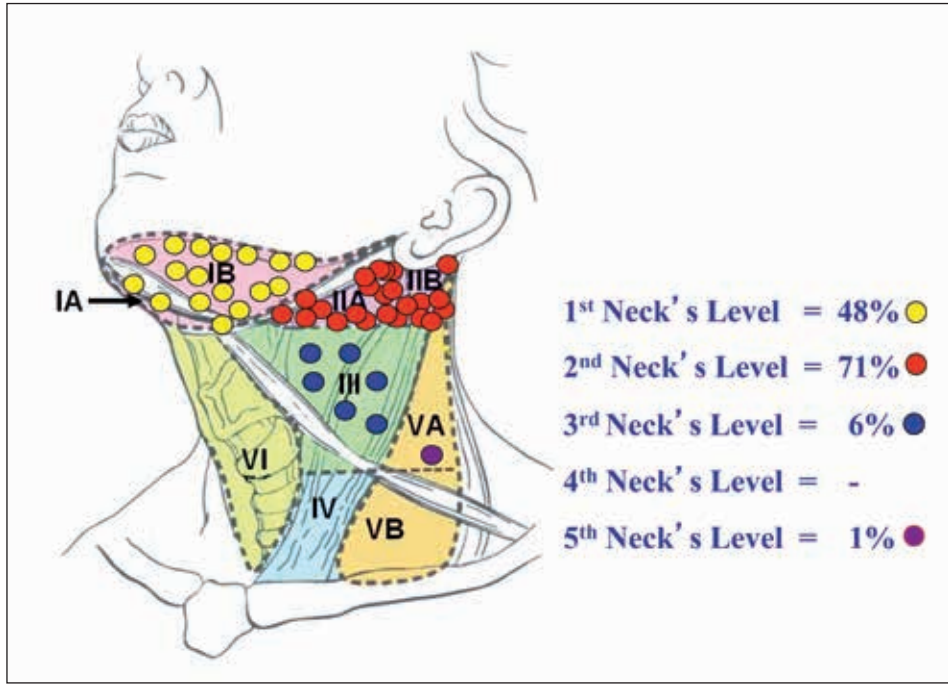


Fig. 3: Sede dei LS individuati nel collo. La maggior parte sono al I e II livello.

Fig. 3: Site of SN in the neck. Most of them are in Level I and II.

Bibliografia/References

1. Alex JC, Sasaki CT, et al. Sentinel lymph node radiolocalisation in head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*, 2000;110:198-203.
2. Chiesa F, Mauri S, et al. Is there a role for sentinel node biopsy in early NO tongue tumors? *Surgery* 2000;128:16-21.
3. Civantos F, Gomez C, et al. Sentinel node biopsy in oral cavity cancer. Correlation with pet scan and immunohistochemistry. *Head & Neck*, 2003;25:1-9.
4. Dunne AA, Kulkens C, et al. Value of sentinel lymphonodectomy in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Auris nasus Larynx*, 2001;28:339-344.
5. Mozzillo N, Chiesa F, et al. Sentinel node biopsy in head and neck cancer. *Ann Surg Oncol* 2001;8 (9 suppl) 103-105.
6. Poli T, Massarelli O, et al. Role of intraoperative sentinel node biopsy in oral cavity and oropharynx squamous cell carcinoma. *Acta Otorhinolaryngol ital*, 2003;23:305-313.
7. Ross GL, Shoaib T, et al. The First International Conference on Sentinel Node Biopsy in Mucosal Head and Neck Cancer and adoption of a multicenter trial protocol. *Ann Surg Oncol* 2002;9(4):406-10.
8. Ross GL, Soutar DS, et al. Improved staging of cervical metastases in clinically node-negative patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2004; Feb;11(2):213-8.
9. Shoaib T, Soutar DS, et al. A suggested method for sentinel node biopsy in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 1999;21:728-733.
10. Shoaib T, Soutar DS et al. The accuracy of head and neck Carcinoma Sentinel lymph node biopsy in clinical NO neck, *Cancer*, 2001;91,11:2077-83.
11. Stoeckli SJ, Steinert H, et al. Sentinel lymph node evaluation in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;125:221-226.
12. Vigili MG, Tartaglione G, Rahimi S, Mafera B, Pagan M. Lymphoscintigraphy and radioguided sentinel node biopsy in oral cavity squamous cell carcinoma: same day protocol. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2007 Feb;264(2):163-7.
13. Alkureishi LW, Burak Z, Alvarez JA, Ballinger J, Bilde et al. European Association of Nuclear Medicine Oncology Committee; European Sentinel Node Biopsy Trial Committee. Joint practice guidelines for radionuclide lymphoscintigraphy for sentinel node localization in oral/oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009 Nov;36(11):1915-36.
14. Civantos F, Zitsch R, Bared A. Sentinel Node Biopsy in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Surgical Oncology* 2007;96:330-336.
15. Gurney BAS, Schilling C, Putcha V, Alkureischi LW, McGurk M, et.al. Implication of a positive sentinel node in oral squamous cell carcinoma *Head & Neck*, 2012;34 (11)1580-5.
16. Tartaglione G, Vigili MG, Rahimi S, Celebrini A, Pagan M, Lauro L, Al-Nahhas A, Rubello D. The impact of superficial injections of radiocolloids and dynamic lymphoscintigraphy on sentinel node identification in oral cavity cancer: a same-day protocol. *Nucl Med Commun*. 2008 Apr;29(4):318-22.

**LA BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA NEL TRATTAMENTO
DEI CARCINOMI SQUAMOSI DEL CAVO ORALE:
ANALISI DEI COSTI MEDIANTE
“BALANCE ECONOMIC HEALTH CARD” (BEHC)
G. D’Agnese, G. Percoco, M.G. Vigili**

Introduzione

Nei pazienti affetti da carcinoma squamoso del distretto cervico facciale, lo stato dei linfonodi al momento della diagnosi ha un impatto rilevante sulla prognosi, particolarmente nel Cavo orale¹.

La disseminazione delle cellule neoplastiche avviene quasi esclusivamente per via linfatica ed è noto che il rischio di metastasi occulte nei Carcinomi squamosi del cavo orale N0 sia compreso fra 15% e 25%²⁻⁵, inducendo molti chirurghi ad effettuare uno svuotamento profilattico del collo, anche se poi la maggior parte dei pazienti stadati N0 non avranno micrometastasi all’esame istologico dei linfonodi asportati con lo svuotamento latero cervicale. Ciò significa che una quota fra il 75 % e l’85% dei pazienti in stadio I e II subiscono uno svuotamento del collo non necessario, per proteggersi da quel 15-25% di rischio di metastasi linfonodali occulte⁶.

Costi, tempi e morbidity imposti da questa strategia potrebbero essere notevolmente ridotti se il concetto di Linfonodo Sentinella (LS) fosse dimostrato valido, in quanto la biopsia del LS eviterebbe lo svuotamento nella maggior parte dei pazienti con il collo clinicamente negativo.

Esistono oramai numerosi studi che hanno documentato come la radio-localizzazione del LS, usando sia la mappatura dei linfonodi con la Linfoscintigrafia, che la ricerca intraoperatoria con la sonda probe gamma counter, sia fattibile. I dati di trials multi istituzionali dimostrano inequivocabilmente come la sensibilità della metodica oscilla fra 91% e 93% ed il valore predittivo negativo sia compreso fra 95% e 97%, dopo 5 anni di follow up^{7,8}.

In termini di costi è noto che negli USA le spese per i tumori cervico facciali siano assai rilevanti rispetto ad altri tumori solidi. Risultano infatti inferiori solamente al tumore del polmone e al carcinoma ovarico e sono valutate fra 1.0 ed 1.9 bilioni di euro per anno⁹⁻¹⁰. In Germania le spese ammontano a 893 milioni di euro¹¹, in Francia a 530.5 milioni¹², con il Cavo Orale che assorbe il 25% del totale. Il costo del trattamento per

paziente calcolato in Olanda è di Euro 25.425, con 10 anni di follow up¹³. Speight e coll.¹⁴ hanno documentato che i costi del trattamento dei casi avanzati (stadio III e IV) di tumori del cavo orale sono circa il doppio di quelli dei casi precoci (stadio I e II). Tale differenza sarebbe dovuta essenzialmente all'allungamento dei tempi di degenza ed al ricorso alle cure chemioterapiche e radioterapiche⁶.

Esistono in Letteratura solo due studi che hanno esaminato il trattamento del LS in termini di convenienza economica nei tumori del distretto cervico facciale. Kosuda e coll. nel 2003¹⁵ hanno raccolto i dati di 11 pazienti con carcinoma squamoso del cavo orale in stadio II e III (con collo cNO), trattati con procedura del LS in Giappone, confrontandoli con risultati di studi simili. Questi dati sono stati proiettati su 2000 ipotetici pazienti al fine di comparare la strategia della biopsia del LS con quella dello svuotamento latero cervicale ipsilaterale profilattico: il risparmio in termini di costi era pari a \$1,218 (Eu 882) per paziente. Sebbene questo risparmio andasse riducendosi con l'aumento di incidenza delle micrometastasi intercettate, gli Autori calcolarono che vi sarebbe stato comunque un vantaggio nella procedura del LS fino a un valore di metastasi occulte che non superasse l'85%. Il tasso di micro metastasi nello studio era solamente del 36%.

O'Connor e coll.⁶, utilizzando i dati ricavati dai pazienti afferenti al trial europeo SENT, ha ricavato le stime dei costi relative al trattamento chirurgico tradizionale confrontate con quelli della biopsia del LS. I pazienti dello studio erano 481, con 25% di LS positivi, 75% negativi e 2.5% falsi negativi. Da questi dati è stato ricavato un costo relativo (RCR) per 100 ipotetici pazienti per ognuna delle due linee di trattamento. Ne risultava che il costo del trattamento dei 100 ipotetici pazienti che facevano la biopsia del LS era lo 0.35-0.60 del costo della stessa coorte di pazienti sottoposti allo svuotamento latero cervicale tradizionale. Anche se il 100% dei pazienti fossero stati positivi allo studio del LS, questa procedura avrebbe rappresentato lo 0.91 del costo della chirurgia tradizionale. Per O'Connor tale differenza era dovuta sia alla elevata percentuale dei LS veri negativi, che al mancato ricorso alla ricostruzione con lembi microchirurgici in questo gruppo di pazienti, non realizzandosi al momento dell'intervento chirurgico una comunicazione fra cavo orale e collo. Anche i T2 sottoposti a biopsia del LS sono stati trattati solo con ricostruzioni locali. Se il LS risultava positivo, lo svuotamento del collo doveva essere effettuato in un secondo ricovero per procedere al trattamento della metastasi accertata, con un evidente aggravio di costi.

Questo studio usa in modo prospettico i dati ricavati dalla nostra esperienza sulla metodica del LS attuata presso l'U.O.C. di Otorinolaringoiatria dell'Ospedale San Carlo di Roma per costruire un modello di analisi

che compari i costi relativi della procedura LS con quelli dello svuotamento profilattico elettivo del collo nei pazienti con tumore non avanzato del cavo orale.

Materiali e metodi

Dal 2001 al 2014, 58 pazienti affetti da Carcinoma squamoso del cavo orale T1-T2 N0 sono stati sottoposti al protocollo della biopsia del LS presso la Unità Operativa di Otorinolaringoiatria dell'Ospedale San Carlo. Per ottenere una popolazione omogenea in termini di risorse utilizzate, unicamente i pazienti con tumore della lingua mobile (78%) sono stati arruolati nello studio. Trenta erano T1 e 15 T2 ed il protocollo era identico per entrambi i gruppi. Tutti i pazienti venivano sottoposti a linfoscintigrafia statica precoce e dinamica¹⁶⁻¹⁷ dopo iniezione peritumorale di Human Albumin Nanocolloid marcata con^{99m}Tc (99mTc-Nanocoll® GE-Amersham Health). I LS identificati alla linfoscintigrafia venivano marcati con inchiostro indelebile sulla cute del paziente in posizione chirurgica. Circa tre ore dopo, (protocollo same day) veniva effettuata la chirurgia radioguidata del LS utilizzando un probe manuale (Neoprobe – Ethicon), simultaneamente all'escissione del tumore. I LS asportati selettivamente venivano inviati per l'esame istologico dettagliato secondo l'apposito protocollo utilizzato per i tumori del cavo orale¹⁶, che prevede multiple sezioni seriate del linfonodo ad intervalli di 150 micron, con colorazione Ema-tossilina-Eosina e studio immunoistochimico con anticorpi anticitocheratine (AE1/AE3) della sezione immediatamente successiva se la prima risultasse negativa. Il trattamento chirurgico del tumore consisteva in una glossectomia parziale laterale nei casi T1 ed una emiglossectomia nei T2. La ricostruzione con lembi microchirurgici non era ritenuta necessaria in quanto, senza svuotamento latero cervicale, non veniva creata comunicazione fra cavo orale e collo. La ferita chirurgica veniva chiusa direttamente nei T1 o ricorrendo a lembi locali (lembo naso-genieno o foam flap) nei casi T2 (Fig. 1). In tutti i casi per l'escissione tumorale è stato utilizzato il Ligasure Small Jaw® (Covidien Ltd. Company Dublin – Ireland) (Fig. 2), che consente di ottenere grazie ad un sistema controllato, la sezione del tessuto e simultaneamente l'emostasi complete dei vasi linguiali, con un danno termico inferiore rispetto al bisturi elettrico od al bisturi ad ultrasuoni. Ciò ha consentito di ridurre significativamente i tempi chirurgici e l'incidenza di complicanze emorragiche postoperatorie e del dolore. Il costo del device per procedura ha inciso per un valore di 488 euro. Il LS è stato identificato in tutti i casi. È risultato positivo in 12/45 casi (26.6%), di cui 4 erano T1 (13.3%) e 8 erano T2 (53%). Questi pazienti

con LS positivo sono stati sottoposti a svuotamento latero cervicale (SLC) entro un mese dalla biopsia.

Riguardo al gruppo di pazienti non LS, sono stati esaminati retrospettivamente i dati di 30 casi T1 e 15 casi T2 di carcinoma squamoso della lingua operati presso la nostra Unità Operativa dal 1998 al 2014. Il protocollo per i casi T1 (1-2 cm) prevedeva una singola operazione in cui veniva asportato il tumore ed effettuato uno svuotamento latero cervicale selettivo (livelli I-IV). La riparazione avveniva per sutura diretta, senza lembi. Per i tumori T2 (2-4 cm) il trattamento era analogo, salvo che per il tempo ricostruttivo con il ricorso ad un lembo microvascolare (lembo di avambraccio radiale o antero-laterale di coscia (ALT), in accordo con quanto viene ritenuto il trattamento standard in Europa per tumori della lingua superiori a 2 cm (Fig. 3).

Le indicazioni al trattamento radiochemioterapico complementare erano identiche per il gruppo dei pazienti con LS e per quelli con chirurgia tradizionale: margini chirurgici positivi, due o più linfonodi metastatici e diffusione extracapsulare. Dato che l'incidenza di questi fattori risultava pressochè analoga nei due gruppi, il costo dei trattamenti complementari è stato escluso dall'analisi in questo studio.

Per l'analisi dei costi è stato utilizzato lo strumento della Balance Economic Health Card (BEHC) e più precisamente il modello Health Activity Based Costing (HABC). Balance Economic Health Card (BEHC) è lo strumento necessario per misurare la performance in sanità ed è stato utilizzato in questo studio per analizzare il costo di ogni singola procedura¹⁸⁻²¹. Il costo a giornata di degenza è stato calcolato tenendo conto di tutti i costi diretti, indiretti e generali ed al netto del costo del personale medico già imputato nelle sale operatorie e negli ambulatori. I dati relativi al tempo medio ad intervento, numero di medici ad intervento e materiali utilizzati per l'intervento sono stati rilevati direttamente da specifici monitoraggi effettuati nelle sale operatorie. Il costo del personale infermieristico e del personale medico anestesista è stato compreso nel costo di sala operatoria (S.O.). Il costo orario medico per intervento è stato rilevato dagli istituti contrattuali in essere. Per il calcolo del costo dell'anatomia patologica sono stati rilevati tutti i costi relativi alle attività di produzione della tecnica diagnostica, mentre per la linfoscintigrafia, essendo nel nostro caso un esame eseguito all'esterno dell'Ospedale San Carlo, presso la Medicina Nucleare dell'Ospedale Cristo Re, è stato utilizzato il costo sostenuto dall'azienda per il pagamento della consulenza, comprensivo del costo dei materiali impiegati.

I costi unitari per singola procedura (LST1, LS T2, SLCT1, SLCT2) e poi globali per strategia terapeutica intrapresa (LS e SLC) sono stati analizzati e confrontati.

Risultati

La Tab. I mostra i costi medi per singolo paziente valutati in base al metodo HABC per i pazienti con T1 sottoposti al protocollo della biopsia del LS. Il tempo chirurgico medio è stato di 90 min (45 per la glossectomia e 45 per la biopsia del LS). La degenza media è stata di 5.4 giorni (range 3-10 giorni).

La Tab. II mostra i costi medi per singolo paziente valutati in base al metodo HABC per i pazienti con T2 sottoposti al protocollo della biopsia del LS. Il tempo chirurgico medio è stato di 126 min (80 per la glossectomia ed eventuale lembo locale e 45 per la biopsia del LS). La degenza media è stata di 6.3 giorni (range 4-12 giorni).

La Tab. III mostra i costi medi per singolo paziente valutati in base al metodo HABC per i pazienti con T1 sottoposti a glossectomia parziale e SLC elettivo. Il tempo chirurgico medio è stato di 165 min. La degenza media è stata di 7 giorni.

La Tab. IV mostra i costi medi per singolo paziente valutati in base al metodo HABC per i pazienti con T2 sottoposti a emiglossectomia, ricostruzione con lembo microchirurgico e SLC elettivo. Il tempo chirurgico medio è stato di 526 min, dovuto al tempo ricostruttivo. Sono stati impiegati 4 chirurghi in due equipe, per il tempo demolitivo e ricostruttivo. La degenza media è stata di 15 giorni.

La Tab. V mostra i costi medi per singolo paziente valutati in base al metodo HABC per i pazienti T1- T2 con LS positivo sottoposti a SLC in secondo ricovero. Il tempo chirurgico medio è stato di 90 min. La degenza media è stata di 7 giorni.

Nella Tab. VI sono riassunti i costi del percorso terapeutico della Biopsia del LS (T1, T2 e totale).

La Tab. VII mostra i costi dei pazienti T1-T2 trattati con unica procedura chirurgica su T, ricostruzione con lembo nei T2 SLC in tutti.

Nella Tab. VIII vengono comparati i costi delle due strategie terapeutiche attuate (biopsia LS e SLC) sia per i casi T1 che per i T2 con i costi totali.

Discussione e conclusioni

Il trattamento dei tumori del cavo orale comporta un elevato utilizzo di risorse sia dal punto di vista clinico che finanziario. La finalità di questo studio è quella di misurare l'impatto economico in termini di costi di due protocolli di trattamento considerati oncologicamente corretti e di valutarne la comparazione.

Biopsia LS T1								
MEDICI UTILIZZATI		Costo della sala operatoria	Costo della degenza	Costo dei Presidi di S.O	Costo dei farmaci in corsia	Costo della Linfoscintigrafia	Costo dell'esame istologico	Totale
Chirurghi	Costo medici nella procedura							
2	€ 122,40	€ 599,40	€ 2.072,64	€ 839,26	€ 22,56	€ 235,00	€ 145,00	€ 4.036,26
Parametri – costo unitario								
Tempo medio procedura chirurgica			Min	90				
Costo/ Min Personale medico			euro	0,68				
Costo/ Min Sala Operatoria			euro	6,66				
Costo giornata di degenza			euro	388				
Tempo medio di degenza			giorni	5,4				

Tab I: Costi pazienti T1-Linfonodo Sentinella.

Biopsia LS T2								
MEDICI UTILIZZATI		Costo della sala operatoria	Costo della degenza	Costo dei Presidi di S.O	Costo dei farmaci in reparto	Costo della Linfoscintigrafia	Costo dell'esame istologico	Totale
Chirurghi	Costo medici nella procedura							
2	€ 171,36	€ 839,16	€ 2.420,20	€ 839,26	€ 24,20	€ 235,00	€ 145,00	€ 4.674,18
Parametri – costo unitario								
Tempo medio procedura chirurgica			Min	126				
Costo/ Min Personale medico			euro	0,68				
Costo/ Min Sala Operatoria			euro	6,66				
Costo giornata di degenza			euro	388				
Tempo medio di degenza			giorni	6.3				

Tab II: Costi pazienti T2-Linfonodo Sentinella.

T1: Glossectomia parziale e Svuotamento Elettivo							
MEDICI UTILIZZATI		Costo della sala operatoria	Costo della degenza	Costo dei Presidi di S.O	Costo dei farmaci in reparto	Costo dell'esame istologico	Totale
Chirurghi	Costo medici nella procedura						
2	€ 224,40	€ 1098,90	€ 2.683,42	€ 840,91	€ 32,58	€ 18,88	€ 4.899,09
Parametri – costo unitario							
Tempo medio procedura chirurgica			Min	165			
Costo/ Min Personale medico			euro	0,68			
Costo/ Min Sala Operatoria			euro	6,66			
Costo giornata di degenza			euro	388			
Tempo medio di degenza			giorni	7			

Tab III: Costi pazienti T1-Svuotamento latero cervicale.

T2 Emiglossectomia + Lembo microchirurgico + Svuotamento Elettivo							
MEDICI UTILIZZATI		Costo della sala operatoria	Costo della degenza	Costo dei Presidi di S.O	Costo dei farmaci in reparto	Costo dell'esame istologico	Totale
Chirurghi	Costo medici nella procedura						
2+2	€ 1428,00	€ 3496,50	€ 5748,32	€ 1572,96	€ 71,68	€ 18,88	€ 12.336,34
Parametri – costo unitario							
Tempo medio procedura chirurgica			Min	525			
Costo/ Min Personale medico			euro	0,68			
Costo/ Min Sala Operatoria			euro	6,66			
Costo giornata di degenza			euro	388			
Tempo medio di degenza			giorni	15			

Tab IV: Costi pazienti T2-Svuotamento latero cervicale.

T1-T2 LS+: Svuotamento latero cervicale (2 nd operazione)							
MEDICI UTILIZZATI		Costo della sala operatoria	Costo della degenza	Costo dei Presidi di S.O	Costo dei farmaci in corsia	Costo dell'esame istologico	Totale
Chirurghi	Costo medici nella procedura						
2	€ 122,40	€ 599,40	€ 2683,42	€ 245,55	€ 32,58	€ 18,88	3702,23
Parametri – costo unitario							
Tempo medio procedura chirurgica			Min	90			
Costo/ Min Personale medico			euro	0,68			
Costo/ Min Sala Operatoria			euro	6,66			
Costo giornata di degenza			euro	388			
Tempo medio di degenza			giorni	7			

Tab V: Costi pazienti sottoposti a SLC (2° tempo) per LS+.

T1 30 casi	T2 15 casi	Totale costi
€ 121.087,80	€ 70.112,70	€ 191.200,50
LS + 4 casi SLC	LS + 8 casi SLC	
€ 14.808,92	€ 29.617,89	€ 44.425,89
€ 135.896,72	€ 99.730,54	€ 235.626,39

Tab VI: Costi pazienti procedura Linfonodo Sentinella.

T1 30 casi	T2 15 casi	Totale costi
€ 146.972,70	€ 185.045,10	€ 332.017,80

Tab. VII: Costi pazienti procedura Svuoatamento Latero Cervicale.

	Protocollo LS	Protocollo SLC	Differenza
T1	€ 135.896,72	€ 146.972,70	- € 11.075,98
T2	€ 99.730,54	€ 185.045,10	- € 85.314,56
Totale	€ 235.626,39	€ 332.017,80	- € 96.391,47

Tab. VIII: Analisi dei costi: confronto fra i gruppi LS e SLC.

I risultati mostrano in modo evidente il potenziale vantaggio in termini di costi del trattamento dei casi di carcinoma squamoso del cavo orale T1-T2 N0 con la ricerca del Linfonodo sentinella, piuttosto che con lo svuotamento latero cervicale sistematico.

La riduzione di costi nei T1 è risultata dell'8%, pari ad un risparmio totale di -11.075 euro in una popolazione di 30 pazienti. Maggiore è risultato il vantaggio economico nei 15 casi T2 con una riduzione di costi pari al 30% ed un risparmio complessivo di 85.314 euro.

Nello studio di O'Connor e coll. si evidenzia come la necessità di due operazioni, un secondo ricovero ospedaliero ed un ulteriore esame istologico, rendono il percorso basato sulla biopsia del LS più costoso rispetto all'approccio tradizionale dello SLC, soltanto quando l'incidenza dei casi di LN positivi risultasse superiore al 50%. L'analisi dei nostri dati sembra smentire questo cut-off, specialmente nel gruppo dei T2. Nella nostra casistica abbiamo trovato 8/15 LS positivi (53%), tutti andati incontro ad una seconda operazione. Confrontando il costo medio delle singole procedure, appare evidente come il vantaggio sia in favore dell'approccio con la biopsia del LS: 8.376 euro (4674+3702) rispetto a 12.336 euro per singolo paziente (-32%).

La differenza di costi tra i due protocolli operativi è data prevalentemente dai costi elevati della chirurgia ricostruttiva micro vascolare che, come noto, ha oltretutto un'ampia variabilità fra i diversi centri. Per un difetto tissutale conseguente all'asportazione di T ed alla violazione chirurgica del collo per lo SLC, con ampia comunicazione fra cavo orale e collo (tumori di 2-4 cm), il ricorso al lembo microvascolare è tutt'ora considerato il trattamento standard in Europa. Questo comporta un allungamento significativo del tempo chirurgico, del numero di chirurghi e di strumentisti impegnati (spesso doppia equipe), oltre che il prolungarsi della degenza postoperatoria. Per O'Connor anche quando fossero eliminati i costi aggiuntivi della chirurgia dei lembi liberi, l'approccio con la biopsia del LS rimane comunque meno costoso rispetto alla chirurgia tradizionale, purché l'incidenza di metastasi occulte sia del 27,5% come si riscontrava nella casistica del SENT. Non possiamo che concordare, considerando che nella nostra esperienza il tasso di metastasi occulte era del 26.6%.

I costi associati alle complicanze postchirurgiche, quali infezioni, malnutrizione, deiscenze dei lembi etc, non sono state analizzate e comparate fra i due gruppi di pazienti in questo studio. Chiaramente, ogni complicanza può prolungare la degenza o portare a nuovi ricoveri ospedalieri, con ovvio aumento dei costi del trattamento. Dal momento che il trattamento chirurgico tradizionale è più invasivo ed accompagnato da maggior incidenza di complicanze, particolarmente nella chirurgia ricostrut-

tiva, c'è da aspettarsi un ulteriore maggior aggravio di costi in questo gruppo rispetto al protocollo del linfonodo sentinella. Nella nostra esperienza, infatti, in accordo con i dati del trial SENT⁶, le complicanze direttamente collegate alla ricerca del LS sono pressoché inesistenti. L'analisi di questi aspetti richiede un apposito studio prospettico.

Il pregio del sistema di analisi dei costi utilizzato in questo studio (HABC) è dato dalla facilità con cui può essere applicato allo studio di altri gruppi di pazienti in tutti i campi del sistema sanitario. La BECH fornisce il modello e il metodo di misurazione della performance in sanità fondato sull'integrazione tra l'analisi gestionale e l'analisi economica di un'azienda sanitaria. I modelli di riferimento sono analisi dei costi per singola prestazione sanitaria, analisi gestionale ed analisi economica periodica con indicatori specifici. La BECH consente, attraverso l'uso dei suoi modelli applicativi (HABC, Data analysis Model con indicatori periodici specifici, Data Analysis Model Management; BECH dashboard), non soltanto la determinazione dei costi delle prestazioni sanitarie, ma anche la valutazione della produttività sulla base della appropriatezza clinica ed organizzativa. È uno strumento utilizzato dalle Aziende Sanitarie per rilevare incongruità ed inappropriatezza delle attività cliniche.

In conclusione, sulla base delle attuali evidenze, si può ragionevolmente affermare che nei casi T1-T2 N0 del cavo orale, la strategia della Biopsia del Linfonodo Sentinella sia oggi quella più vantaggiosa in termini di costi. Inoltre, con l'avvento delle nuove tecnologie che potrebbero consentire l'analisi intraoperatoria del linfonodo sentinella utilizzando la metodica OSNA (One Step Nucleic acid Amplification), come già avviene nei tumori della mammella, potrebbe superarsi anche il problema dello svuotamento differito nei casi positivi, e risolversi tutto nel primo intervento, con ulteriore vantaggio in termini di costi.

**SENTINEL NODE BIOPSY
IN ORAL CAVITY SQUAMOUS CELL CARCINOMA:
ANALYSIS OF COST EFFECTIVENESS USING
“BALANCE ECONOMIC HEALTH CARD” (BEHC)
G. D’Agnese, G. Percoco, M.G. Vigili**

Introduction

In patients with head and neck squamous cell carcinoma (SCC), the lymph node status at the time of presentation has a profound effect on prognosis particularly in oral cavity¹.

The dissemination of tumour cells is almost exclusively via the lymphatic system, and it is accepted that the risk of occult metastasis in early cN0 OCSCC is about 15%-25%²⁻⁵, leading many authors to perform a prophylactic neck dissection, even if most patients with stage N0 have no micrometastases at the histopathological exam of the neck specimen. This means that 75% to 85% of patients with stage I and II OSCC undergo an unnecessary neck dissection to protect the 15-25% with occult cervical metastasis⁶.

Cost, time spent, and morbidity could be reduced or eliminated if the Sentinel Node (SN) concept proved to be valid, because SN Biopsy (SNB) would allow unnecessary elective neck dissection to be avoided in most clinically node negative patients.

Several studies have documented that the identification of the SN, using lympho-scintigraphic mapping and gamma probe radiolocalization with biopsy is feasible and data by multi institutional trials show 91%-93% sensitivity and 95%- 97% NPV after 5 years^{7,8}.

In the USA the cost of treating head and neck cancer is significant when compared with other solid tumours, only surpassed by lung and ovarian cancer⁹⁻¹⁰. In Germany and the USA the estimated cost was Eu 893 million and Eu 1.0 to 1.9 billion per year respectively¹¹; in France the estimated cost was Eu 530.5 million¹², with OCSCC contributing 25% to the total. Per patient the cost of treatment calculated in the Netherlands, was Eu 25.425 with 10 years follow up where appropriate¹³. Speight et al.¹⁴ found the cost of managing stage III and IV OCSCCs was up to twice as expensive as managing stage I and II disease. The difference was attributed to increased hospital stays and radiotherapy or chemotherapy in stage III and IV tumours⁶.

There are only two studies that have looked at the economic advantage of head and neck cancer treatment using SNB. Kosuda et al. in 2003¹⁵ pooled data from 11 patients with stage II and III OCSCC's (cN0 neck) treated in their department in Japan with results from similar studies. These data were extrapolated to 2000 hypothetical patients to compare the SNB approach with ipsilateral elective neck dissection, predicting a cost saving of \$1,218 (Eu 882) per patient. Although this saving would diminish with an increasing prevalence of micrometastases in the neck, the incidence would have to exceed 85% for the financial advantage to be eliminated. Yet the micrometastatic rate was only 36% in their series. Using a treatment model derived from SENT trial information, O'Connor et al.⁶ produced estimates of relative treatment costs between patients managed through a traditional surgical or SNB pathway. Using SENT trial data on 481 patients regarding the proportion of patients with positive (25%), negative (75%) and false negative (2.5%) SNB's, a relative cost ratio (RCR) for 100 hypothetical patients passing down each pathway was generated. Treatment of 100 hypothetical patients using the SNB pathway is 0.35-0.60 the cost of treating the same cohort using traditional surgery techniques. Even if 100% of SNB's are positive the SNB approach is 0.91 of the cost of the traditional surgical approach. For O'Connor this is due to the large proportion of true negative SNB results and the avoidance of free flap repairs.

For a patient undergoing SNB, the advantage is that there is no opening between the mouth and neck, at the time of primary surgery. Also T2 OCSCCs were treated by local repair alone. When the SNB is positive a delayed neck dissection is performed, by which time the oral cavity has sealed itself so there is no risk of saliva soiling the neck wound. The extra cost in these patients is derived from the need for these second operative episodes for a therapeutic neck dissection to treat the occult metastasis.

The present study uses prospectively collected data from the experience on SNB of the Department of Otorhinolaryngology of San Carlo Hospital in Rome, to construct a treatment model that compares the relative costs of SNB with elective neck dissection in patients with early OCSCC.

Material and method

From 2001 to 2014, 58 patients affected by T1-T2 N0 OCSCC were treated with same day SNB protocol in our institution. To have a homogeneous population, only patients affected by tumour of the tongue (78%) were included in the study. Thirty of them were classified as T1 and 15

as T2. The SNB protocol was the same for both T1 and T2 tumours. All patients were submitted to dynamic and early static Lymphoscintigraphy¹⁶⁻¹⁷ after a peritumoural injection of Human Albumin Nanocolloid marked with 99mTc (99mTc-Nanocoll® GE-Amersham Health). Sentinel nodes were marked on the skin of the patient in the surgical position and a radio-guided SNB was performed three hours later, using hand held gamma probe (Neoprobe – Ethicon). SNs selectively excised were examined using the pathological protocol for SNB in OCSCC¹⁶, which need step-serial sections of the node at approximately 150µ intervals stained alternatively with H&E and immunohistochemistry analysis with antibody against cytokeratin (AE1/AE3) when the traditional method result is negative. The surgical treatment of the tumour consisted of partial lateral glossectomy in T1 or hemiglossectomy in T2. Free flap reconstruction was not necessary in T2 cases, because, without a neck dissection, there was no communication between the mouth and the neck. Instead oral wounds were closed directly in T1 or by local flaps (nasolabial flap or foam flap) for T2 (Fig. 1). In all cases for tumour excision we used the Ligasure Small Jaw® instrument (Covidien Ltd. Company Dublin – Ireland) to obtain a controlled cutting mechanism of the tissue and a simultaneous seal of blood vessels at a cooler temperature compared to electronic or harmonic scalpels (Fig 2). This device allows us to dramatically reduce the operating time and the incidence of intra and post-op complications blood loss, seroma and pain). The cost of this device per single operation was 488 euros.

SN was found in all cases, SN positive was found in 12/45 cases (26.6%). Four cases were T1 (13.3%) and 8 were T2 (53%). Those patients with a positive SN had a neck dissection performed within a month of primary surgery.

Concerning the non SNB population, 30 T1 and 15 T2 tongue OCSCC, treated in the same Department between 1998 and 2014, were enrolled in the study and data from these patients examined in comparison.

The protocol for T1 cancers (1-2 cm) was a single operation that included local excision, primary repair and a selective neck dissection. For T2 tumours (2-4 cm) treatment was identical except it was assumed that a through and through defect would be left from the mouth to the neck which would be sealed with a microvascular flap (radial forearm flap or antero-lateral thigh flap (ALT), in agreement with the European standard treatment for tumours larger than 2 cm (Fig. 3).

Indications for adjuvant chemoradiotherapy were the same for the SNB pathway as for the traditional surgical pathway: close surgical margins, two or more positive nodes, or nodes with extra-capsular spread, received adjuvant chemoradiotherapy. Because the rates should be simi-

lar between the traditional surgery and SNB pathways, the costs of the adjuvant complementary therapy were not considered in the analysis. The Health Activity Based Costing model (HABC) was used to provide useful information about the type and amount of resources used. The Balance Economic Health Card (BECH) is the tool needed to perform measurement in health. BECH models were used in this study to analyse the cost for each single medical procedure (Health Activity based costing HABC). The daily hospital stay cost was calculated taking into account all the direct and indirect costs and general costs of the Hospital. Information on the average time intervention, medical personnel employed and materials used were collected from the existing registries in the operating room. The cost of nursing and anesthesiology staff was included in the cost of the operating rooms. The medical specialist hours cost for medical personnel employed in each surgical procedure was obtained from the work contract. Lymphoscintigraphy was carried out in Cristo Re Hospital: the cost was based on the consultancy contract. For the histopathological exam, all the costs related to the production of the diagnostic technique were detected. The unit costs of the ND and SN procedure were compared.

Results

Tab. I shows the HABC (Health Activity Based Costing) for patients with T1 tumour submitted to SNB protocol (cost per single patient). Mean surgical time is 90 min (45 for glossectomy and 45 for SNB) and mean hospital stay is 5.4 days (range 3-10 days).

Tab. II shows the HABC (Health Activity Based Costing) for patients with T2 tumour submitted to SNB protocol (cost per single patient). Mean surgical time is 126 min (80 for glossectomy and 46 for SNB) and mean hospital stay is 6.3 days (range 4-12 days).

Tab. III shows the HABC (Health Activity Based Costing) per patient with T1 tumour submitted to partial glossectomy and Elective neck dissection (cost per single patient) Mean surgical time is 165 min. and mean hospital stay is 7 days.

Tab. IV shows the HABC (Health Activity Based Costing) per patient with T2 tumour submitted to Hemiglossectomy – Microvascular free flap and Elective neck dissection (cost per single patient). Mean surgical time is 525 min due to free flap reconstruction. Four surgeons are employed for the excision and reconstruction procedure, and mean hospital stay is 15 days.

SNB T1								
Medical doctors employed		Cost of Operatory Room	Cost of Hospital stay	Cost of Drugs and devices in O.R.	Cost of Drugs in ward	Cost of Lympho-scintigraphy	Cost of Pathological exam	Total
Surgeons	Cost for Surgical procedure							
2	€ 122,40	€ 599,40	€ 2.072,64	€ 839,26	€ 22,56	€ 235,00	€ 145,00	€ 4.036,26
Parameter of unit price cost								
Mean time of Surgical procedure			Min	90				
Cost/ Min Medical Doctors			euros	0,68				
Cost/ Min Operatory Room			euros	6,66				
Daily Cost for Hospital Stay			euros	388				
Mean Hospital stay			days	5,4				

Tab I: Costs of T1 SNB group.

SNB T2								
Medical doctors employed		Cost of Operatory Room	Cost of Hospital stay	Cost of Drugs and devices in O.R.	Cost of Drugs in ward	Cost of Lympho-scintigraphy	Cost of Pathological exam	Total
Surgeons	Cost for Surgical procedure							
2	€ 171,36	€ 839,16	€ 2.420,20	€ 839,26	€ 24,20	€ 235,00	€ 145,00	€ 4.674,18
Parameter of unit price cost								
Mean time of Surgical procedure			Min	126				
Cost/ Min Medical Doctors			euros	0,68				
Cost/ Min Operatory Room			euros	6,66				
Daily Cost for Hospital Stay			euros	388				
Mean Hospital stay			days	6,3				

Tab II: Costs of T2 SNB group.

T1: Partial Glossectomy and Elective Neck Dissection							
Medical doctors employed		Cost of Operatory Room	Cost of Hospital stay	Cost of Drugs and devices in O.R.	Cost of Drugs in ward	Cost of Pathological exam	Total
Surgeons	Cost for Surgical procedure						
2	€ 224,40	€ 1098,90	€ 2.683,42	€ 840,91	€ 32,58	€ 18,88	€ 4.899,09
Parameter of unit price cost							
Mean time of Surgical procedure			Min	165			
Cost/ Min Medical Doctors			euros	0,68			
Cost/ Min Operatory Room			euros	6,66			
Daily Cost for Hospital Stay			euros	388			
Mean Hospital stay			days	7			

Tab III: Costs of T1 END group.

T2 Hemiglossectomy + Microvascular Free Flap + Elective Neck Dissection							
Medical doctors employed		Cost of Operatory Room	Cost of Hospital stay	Cost of Drugs and devices in O.R.	Cost of Drugs in ward	Cost of Pathological exam	Total
Surgeons	Cost for Surgical procedure						
2+2	€ 1428,00	€ 3496,50	€ 5748,32	€ 1572,96	€ 71,68	€ 18,88	€ 12.336,34
Parameter of unit price cost							
Mean time of Surgical procedure			Min	525			
Cost/ Min Medical Doctors			euros	0,68			
Cost/ Min Operatory Room			euros	6,66			
Daily Cost for Hospital Stay			euros	388			
Mean Hospital stay			days	15			

Tab IV: Costs of T2 END group.

Tab. V shows the HABC (Health Activity Based Costing) for patients T1 and T2 with SNB+.

Second surgical procedure: Elective neck dissection (cost per single patient). Mean surgical time is 90 min and mean hospital stay is 7 days. In Tab VI the costs of SNB pathway (T1, T2 and total) are resumed.

Tab VII shows the costs for T1- T2 patients treated in one surgical procedure with glossectomy, free flap reconstruction in T2 and Elective neck dissection without SNB.

In Tab VIII the costs of the two pathways (SNB and END) are compared both for T1 and for T2, and for Total.

T1-T2 SNB+: Elective Neck Dissection (2 nd operation)							
Medical doctors employed		Cost of Operatory Room	Cost of Hospital stay	Cost of Drugs and devices in O.R.	Cost of Drugs in ward	Cost of Pathological exam	Total
Surgeons	Cost for Surgical procedure						
2	€ 122,40	€ 599,40	€ 2683,42	€ 245,55	€ 32,58	€ 18,88	3702,23
Parameter of unit price cost							
Mean time of Surgical procedure			Min	90			
Cost/ Min Medical Doctors			euros	0,68			
Cost/ Min Operatory Room			euros	6,66			
Daily Cost for Hospital Stay			euros	388			
Mean Hospital stay			days	7			

Tab V: Costs of END in patients with SNB+.

T1 30 cases	T2 15 cases	Total costs
€ 121.087,80	€ 70.112,70	€ 191.200,50
SNB + 4 cases END	SNB+ 8 cases END	
€ 14.808,92	€ 29.617,89	€ 44.425,89
€ 135.896,72	€ 99.730,54	€ 235.626,39

Tab. VI: Costs of SNB group.

T1 30 cases	T2 15 cases	Total cost
€ 146.972,70	€ 185.045,10	€ 332.017,80

Tab VII: Costs of END group.

	SNB pathway	END pathway	Difference
T1	€ 135.896,72	€ 146.972,70	- € 11.075,98
T2	€ 99.730,54	€ 185.045,10	- € 85.314,56
Total	€ 235.626,39	€ 332.017,80	- € 96.391,47

Tab VIII: analysis of costs: comparison between SNB and END pathway.

Discussion and conclusions

Oral cavity cancer carries a heavy burden, both clinically and financially. The aim of this study is to measure the financial impact of two treatment pathways felt to be oncologically comparable by evaluating their costs relative to each other.

The results show the potential cost effectiveness of Sentinel Node procedure in T1-T2 OCSCC.

SNB strategy was found to be on average more effective than Neck dissection (ND) in T1 (8% of reduction costs = -11.075 euros in 30 patient population) and slightly more effective than Surgical excision –free flap reconstruction and ND in 15 T2 patients (30% of reduction costs -85.314 euros).

O'Connor et al. state that the need for two operations, a second hospital admission and additional pathology costs makes the SLNB pathway more expensive than traditional surgery only when the proportion of positive SLNB results exceeds 50%. This was not really born out in our analysis, especially in the T2 population. We had 8/15 SN positive patients (53%) and all of them had second surgical operations, but the comparison of the average cost was in favor of the SN approach: 8376 euros (4674+3702) vs 12.336 euros per single patient (-32%).

The difference in costs between the two treatment pathways is caused by the disproportionate cost of microvascular surgery, which is acknowledged to vary from centre to centre. For a through and through defect from the mouth to the neck larger than 4 cm (T2 2-4 cm of tumor size), a microvascular flap is the standard treatment in Europe. The mean time of surgical procedure, the number of surgeons and nurses engaged, and

the length of hospital stay are really more significant. For O'Connor even when the cost of free flap surgery is eliminated, the SLNB approach is still less expensive than traditional surgery when the rate of occult metastasis is 27.5% as in the SENT trial. In our experience the rate of occult metastases is 26.6%.

Costs associated with complications such as infection and malnutrition following surgery have not been compared between the two approaches. Clearly any complication could prolong hospital stay or lead to readmission thereby increasing the treatment cost. Since traditional surgical treatment is more invasive, a higher incidence of post-op complications, particularly for free flap surgery, AND a higher cost would be expected, compared to the SNB approach. In our experience, in agreement with data from the SENT trial⁶, complications directly related to SNB were almost non-existent.

This analysis will require a prospective study for accurate figures.

The advantage of the cost analysis system used for this study (HABC) is that it could easily be applied to other patient populations and healthcare systems.

The BECH guarantees, through the use of its models (HABC, Data analysis Model with periodic specific indicators; Data Analysis Model Management; BECH dashboard), not only the detection of costs per health facility but also the detection of the production costs on the basis of clinical and organizational appropriateness. The BECH is a tool for detecting the incongruity and inappropriateness of clinical activities. The methodological approach of BECH is fundamentally based on the integration between management accounting and economic analysis (clinical governance and economic government).

In conclusion, on the basis of currently available evidence, the Sentinel Node Biopsy approach in T1-T2 N0 OCSCC appears nowadays to be the most cost effective strategy.

Furthermore, with the advent of new emerging techniques that incorporate intra-operative sentinel lymph node analysis using one-step nucleic acid amplification (OSNA), similar to that employed in breast cancer, the need for two operations in the SLNB pathway and the additional costs will be diminished.

Immagini/Images

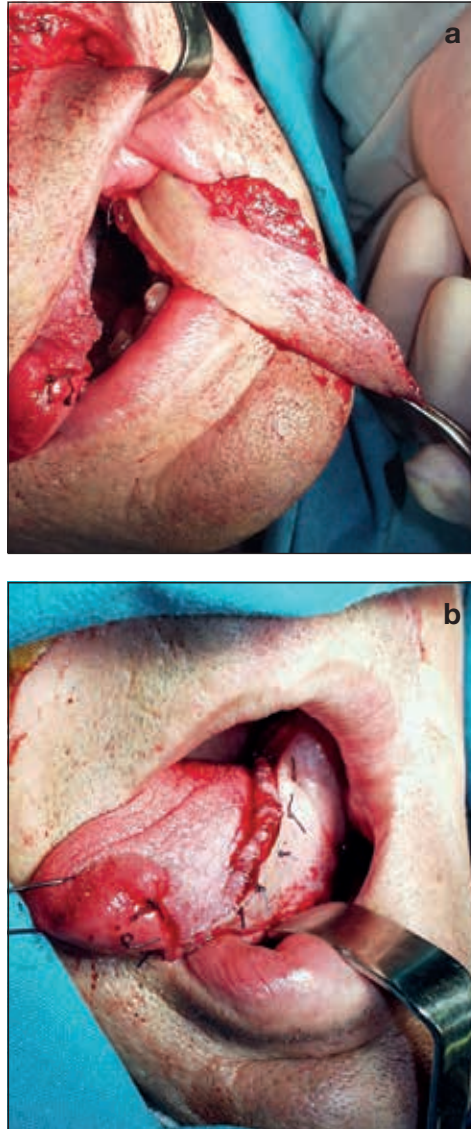


Fig. 1 a, b: Glossectomia parziale laterale e ricostruzione con lembo nasogenieno.

Fig. 1 a, b: Left partial glossectomy and reconstruction with nasolabial flap.



Fig. 2: L'uso del Ligasure Small Jaw consente di ridurre i tempi chirurgici ed il sanguinamento.

Fig. 2: Ligasure Small Jaw helps in tongue resection, saving time and reducing bleeding.



Fig. 3: Emiglossectomia sinistra e ricostruzione con lembo libero di avambraccio radiale.

Fig. 3: Left hemiglossectomy and reconstruction with radial forearm free flap.

Bibliografia/References

1. Stoeckly SJ, Alkureisky LW, Ross GL. Sentinel node biopsy for early oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009; 266(6):787-793.
2. Sivanandan R, Kaplan MJ, Lee KJ, Lebl D, Pinto H, Le QT, et al. Long-term results of 100 consecutive comprehensive neck dissections: implications for selective neck dissections. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130(12):1369-373.
3. Iype EM, Sebastian P, Mathew A, Balagopal PG, Varghese BT, Thomas S. The role of selective neck dissection (I-III) in the treatment of node negative (N0) neck in oral cancer. *Oral Oncol*, 2008; 44(12):1134-1138.
4. Lodder WL, Sewnaik A, den Bakker MA, Meeuwis CA, Kerrebijn JD. Selective neck dissection for N0 and N1 oral cavity and oropharyngeal cancer: are skip metastases a real danger? *Clin Otolaryngol*, 2008; 33(5):450-457.
5. Ferlito A, Silver CE, Rinaldo A. Elective management of the neck in oral cavity squamous carcinoma: current concepts supported by prospective studies. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2009;47(1):5-9.
6. O'Connor R, Pezier T, Schilling C, Mc Gurk M. The relative cost of sentinel lymph node biopsy in early oral cancer. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery* 2013;41,721-727.
7. Civantos FJ, Zitsch RP, Schuller DE et al. Sentinel lymph node biopsy accurately stages the regional lymph nodes for T1-T2 oral squamous cell carcinomas: results of a prospective multiinstitutional trial. *J Clin Oncol* 2010 [Epub ahead of print].
8. Ross GL, Soutar DS, MacDonald DG et al. Sentinel node biopsy in head and neck cancer: preliminary results of a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2004;11:690-696.
9. Lang K, Menzin J, Earle CC, Jacobson J, Hsu MA. The economic cost of squamous cell cancer of the head and neck: findings from linked SEER-Medicare data. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004 130(11):1269-1275.
10. Lang K, Sussman M, Friedman M, Su J, Kan HJ, Mauro D et al. Incidence and costs of treatment-related complications among patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;135(6): 582-588.
11. Lee JM, Turini M, Botteman MF, Stephens JM, Pashos CL. Economic burden of head and neck cancer. A literature review. *Eur J Health Econ* 2004;5(1):70-80.
12. St Guily JL, Borget I, Vainchtock A, Remy V, Takizawa C. Head and neck cancers in France: an analysis of the hospital medical information system (PMSI) database. *Head Neck Oncol* 2010;2: 22.
13. van Agthoven M, van Ineveld BM, de Boer MF, Leemans CR, Knegt PP, Snow GB et al. The costs of head and neck oncology: primary tumours, recurrent tumours and long-term follow-up. *Eur J Cancer* 2001 37(17): 2204-2211.
14. Speight PM, Palmer S, Moles DR, Downer MC, Smith DH, Henriksson M, et al. The cost-effectiveness of screening for oral cancer in primary care. *Health Technol Assess* 2006;10(14):1-144.

15. Kosuda S, Kusano S, Kohno N, Ohno Y, Tanabe T, Kitahara S et al. Feasibility and cost-effectiveness of sentinel lymph node radiolocalization in stage N0 head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129(10):1105-1109.
16. Vigili MG, Tartaglione G, Rahimi S, Mafera B, Pagan M. Lymphoscintigraphy and radioguided sentinel node biopsy in oral cavity squamous cell carcinoma: same day protocol. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2007 Feb;264(2):163-7.
17. Tartaglione G, Vigili MG, Rahimi S, Celebrini A, Pagan M, Lauro L, Al-Nahhas A, Rubello D. The impact of superficial injections of radiocolloids and dynamic lymphoscintigraphy on sentinel node identification in oral cavity cancer: a same-day protocol. *Nucl Med Commun*. 2008 Apr;29(4):318-22.
18. Cooper R, Kaplan RS. Activity-based systems: measuring the costs of resource usage. *Accounting Horizons*, 1992,9,1-13.
19. Suneel U. Activity-based costing for hospitals *Health Care Management Review*; 1996; 21,3,83.
20. D'Agnese G, Percoco G. La Balance Economic Health Card Strumento Italiano di misurazione delle performance in sanità. Soluzione alle disfunzioni presenti nel Ssn. *Panorama della Sanità*, 2014(12), n° 45-46.
21. D'Agnese G, Percoco G. Il Controllo di gestione in Sanità: "quello che si dovrebbe fare". Dai costi standard ai modelli standard di rilevazione dei costi TEME, 2014 5/6.

LE NUOVE TECNOLOGIE NELLA BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA: EVOLUZIONE VERSO IL FUTURO

T. Poli, D. Lanfranco

Il razionale d'impiego della biopsia del linfonodo sentinella (SNB) si fonda su una riduzione della morbilità nel confronto con lo svuotamento laterocervicale elettivo (END) e sul miglioramento della stadiazione patologica linfonodale. Infatti la SNB ha mostrato diversi vantaggi rispetto all'END:

1. riduzione della morbilità¹;
2. più accurata deteazione delle cosiddette skip metastases e definizione dei pattern di drenaggio linfatico aberranti²⁻⁴;
3. affinamento delle analisi patologiche per il rilevamento di (micro) metastasi^{5,6}.

Impiegando la SNB, sono stati riportati valori di sensibilità globali del 91% a 5 anni di follow-up⁷.

Nel cancro del distretto testa-collo, l'impiego combinato di radiocolloide e di colorante blu sopravivale rappresenta oggi il gold standard per la ricerca del linfonodo sentinella (SLN). Tuttavia, la tecnica a doppio tracciante non è scevra da problematiche: infatti l'utilizzo dei radiocolloidi implica l'impossibilità di visualizzazione intraoperatoria in tempo reale e la necessità di disporre di un medico nucleare, mentre gli svantaggi derivanti dall'iniezione dei coloranti sopravivali sono la limitata penetrazione in profondità e la impregnazione blu del campo operatorio.

Altri problemi connessi alla tecnica di SNB sono la difficile individuazione transcutanea del linfonodo sentinella (soprattutto nel caso di tumori del pavimento della bocca (FOM), in cui SNB mostra sensibilità e valore predittivo negativo molto più bassi rispetto ad altri siti, 80 contro 97% e 88 vs 98%, rispettivamente), il fenomeno "shine-trough" e l'esposizione a radiazioni. Al contrario, gli ipotizzati costi più elevati rispetto ad altre strategie diagnostiche e terapeutiche sono stati smentiti nei recenti lavori di Govers et al. e di O'Connor et al^{8,9}.

Per questi motivi, nonostante gli ottimi risultati ottenuti con la tecnica di SNB nei carcinomi del distretto testa-collo, c'è ancora spazio per miglioramenti e gli Autori impegnati in questo campo di ricerca stanno prendendo in considerazione la possibilità di affinare la tecnica classica testando nuovi traccianti, l'applicazione di nuove attrezzature e l'esecuzione di nuove analisi patologico/ molecolari.

**Nuovi traccianti:
Indocianina verde (ICG)/
Fluorescenza vicino ai raggi infrarossi (NIR)**

L'imaging basata sulla fluorescenza NIR è una tecnica promettente per identificazione intraoperatoria del SLN. Infatti, grazie alla fluorescenza NIR del tracciante indocianina verde (ICG) è possibile il riconoscimento visivo dei SLN senza alterare il campo operatorio (come, al contrario, capita sistematicamente utilizzando il colorante blu sopravvitalo) e senza esposizione a radiazioni; inoltre, l'uso di questa sostanza è più conveniente. ICG non è visibile ad occhio nudo, non interferendo pertanto con l'identificazione visiva dei margini tumorali¹⁰. Tuttavia, analogamente ai coloranti blu vitali, ICG migra rapidamente attraverso il sistema linfatico con conseguente finestra diagnostica limitata e colorazione evanescente del SLN per diffusione veloce ai linfonodi del livello superiore¹¹.

Sistemi di imaging basati sulla fluorescenza NIR di ICG

In uno studio pubblicato da Van der Vorst nel 2013¹² è stata impiegata ICG adsorbita all'albumina sierica umana (ICG:HSA) per la mappatura del SLN nei pazienti affetti da carcinoma della testa e del collo. Sono stati reclutati 10 pazienti consecutivi con carcinoma del cavo orale o dell'orofaringe cN0. Una dose di 1,6 ml di ICG:HSA (500 lm) è stata iniettata nei quattro quadranti attorno al tumore. Durante la dissezione del collo, è stata misurata la fluorescenza dei livelli linfonodali I-IV con un sistema di imaging specifico. In tutti i 10 pazienti, la valutazione della fluorescenza NIR ha permesso la visualizzazione di uno o più SLNs; si è così dimostrata la fattibilità della rilevazione dei linfonodi nei pazienti con carcinomi testa-collo. Unica problematica rilevata la rapida migrazione del tracciante fluorescente oltre il SLN verso i linfonodi di livello superiore.

Anche se i sistemi di imaging basati sulla fluorescenza di ICG sono vantaggiosi rispetto ai metodi tradizionali, risulta difficile identificare su immagini monocromatiche tessuti molli quali muscoli o nervi disposti intorno ai linfonodi. Ciò obbliga il chirurgo ad eseguire la SNB sia mediante diretta visualizzazione, sia facendo riferimento alle immagini monocromatiche sul monitor.

Per ovviare a tale limite, Iwai et al. nel 2013¹³ hanno descritto l'impiego di un nuovo sistema di imaging dotato di una charge-coupled device (CCD) camera, per realizzare la SNB in pazienti affetti da cancro orale. Tale

apparecchiatura ha permesso di sfruttare la fluorescenza di ICG durante l'intervento per discriminare le strutture intensificate in colori vivaci, nonché per identificare e infine biottizzare i SLNs fluorescenti anche se localizzati in profondità nel tessuto sottocutaneo e quindi non sempre rilevabili dalla cute.

In conclusione, nonostante la serie limitata, questa tecnica sembra essere promettente volendo risolvere la problematica delle immagini monocromatiche.

SNB guidata da radio e fluorescenza concomitanti: il tracciante ibrido ICG -99mTc-nanocolloide

Il radiocolloide ibrido auto-assemblante ICG-99mTc-nanocolloide è stato clinicamente testato al fine di superare i limiti di rapida migrazione che si accompagnano all'utilizzo dei coloranti ottici durante la SNB^{14,15}. In quest'associazione, ICG acquisisce, di fatto, le proprietà di migrazione linfatiche dei radiocolloidi, con il risultato di un tempo di ritenzione nei SLNs significativamente più lungo rispetto a un suo utilizzo isolato. Grazie a questo tracciante ibrido sia radioattivo che fluorescente, la pianificazione chirurgica preoperatoria può essere combinata con la radioguida intraoperatoria verso i SLNs. Utilizzando una NIR fluorescence camera le proprietà fluorescenti del tracciante ibrido estendono le potenzialità diagnostiche della metodica radioguidata permettendo la localizzazione ottica in tempo reale.

Van der Berg et al. nel 2012¹⁶ hanno applicato questa tecnica in 14 pazienti affetti da carcinoma del cavo orale, iniettando ICG-99mTc-nanocolloide alla periferia del tumore. Prima dell'intervento chirurgico i SLNs sono stati identificati con una linfoscintigrafia seguita da una tomografia computerizzata a emissione di fotone singolo (SPECT)/CT per la localizzazione anatomica. Durante l'intervento, i SLNs sono stati rilevati con una gamma-camera e una NIR fluorescence camera manuali. Con una gamma camera portatile sono state acquisite immagini pre e post incisione ed escissione al fine di confermare la completa rimozione di tutti i SLNs (compresi quelli topograficamente situati vicino al sito di iniezione primario, localizzati solo durante l'intervento grazie all'impiego di sistemi di imaging basati sulla fluorescenza NIR di ICG). I SLNs sono stati identificati sia in fase preoperatoria (sfruttando la radioattività di ICG-99mTc-nanocolloide) che localizzati e quindi escisi, durante l'intervento (sfruttando contemporaneamente la radioattività e la guida della fluorescenza). Inoltre, in quattro pazienti, è stato identificato un SLN vicino al sito di iniezione primario (in tre pazienti

questo SLN era situato al livello I) la cui localizzazione intraoperatoria è stata possibile solo grazie al sistema di imaging basato sulla fluorescenza (particolarmente utile quando i SLNs sono situati in prossimità del tumore primitivo).

Più recentemente lo stesso gruppo di ricerca¹⁷ ha proposto un approccio multimodale innovativo per la mappatura e la biopsia del linfonodo sentinella nelle neoplasie del distretto testa e collo, combinando SPECT/CT preoperatoria e imaging intraoperatorio con dispositivi portatili (una gamma camera portatile in combinazione con una NIR fluorescenza camera) ed il tracciante ibrido ICG-(99m)Tc-nanocolloide. Ancora una volta più SLNs (precisamente, 26% dei SLNs accessori) sono stati identificati utilizzando l'approccio multimodale, in particolare nel caso di tumori localizzati vicino alla zona di drenaggio linfatico.

[99mTc] Tilmanocept, un nuovo radiofarmaco mirato al recettore CD206

[99mTc] Tilmanocept, è un nuovo radiofarmaco non-particolato, target-specifico sul recettore, approvato dalla FDA degli Stati Uniti e la cui immissione in commercio è stata recentemente autorizzata dal Comitato dell'Agenzia Europea dei Medicinali per uso clinico nell'uomo al fine di identificare il SLN in soggetti affetti da cancro al seno, melanoma e carcinomi del distretto testa-collo. Le piccole dimensioni molecolari (7 nm di diametro) di Tilmanocept e il suo specifico target recettoriale CD206 mannosio-legante presente sulle cellule reticoloendoteliali all'interno dei linfonodi, consente una rapida clearance del sito di iniezione ed un legame avido e stabile ai target linfonodali¹⁸.

Agrawal A. et al. nel 2015 hanno pubblicato i risultati di uno studio open-label, di fase III, in cui [99mTc] Tilmanocept è stato testato per determinare il tasso di falsi negativi (FNR) della SNB relativamente allo stato linfonodale patologico in pazienti affetti da carcinomi squamocellulari del distretto testa-collo (HNSCC) sia intraorali che cutanei, sottoposti a resezione del tumore, SNB ed END. Il lavoro ha dimostrato un alto tasso di identificazione dei SLN in pazienti con HNSCC intraorale e cutaneo. Inoltre la SNB impiegando [99mTc] Tilmanocept predice accuratamente lo stato linfonodale patologico dei pazienti affetti da HNSCC del cavo orale con bassa percentuale di FNR, elevato tasso di valori predittivi negativi (VAN), e un'alta precisione complessiva. In conclusione l'uso di [99mTc] Tilmanocept per la SNB in pazienti selezionati può ritenersi appropriato e può ovviare alla necessità di eseguire più ampie procedure quali END¹⁹.

Nuove attrezzature

Come anticipato, uno dei principali limiti della tecnica di SNB si rivela in caso di vicinanza del tumore primario ai primi linfonodi drenanti, soprattutto per i pazienti affetti da SCC del FOM: infatti, il risultante fenomeno di shine-through determina tassi di rilevamento inferiori²⁰⁻²³. Preoperatoriamente, questa limitazione può essere superata con l'uso della tomografia computerizzata a emissione di fotone singolo (SPECT)/CT, che prevede tassi di rilevamento superiori e migliori informazioni morfologiche^{24,25}. Inoltre, con la SPECT/CT possono essere visualizzati più SLNs rispetto alla linfo-scintigrafia convenzionale²⁶. Tuttavia, siccome i vantaggi della SPECT/CT non possono essere trasferiti direttamente in sala operatoria, i medici hanno iniziato a testare dispositivi utilizzabili direttamente dal chirurgo durante l'intervento. Risultati promettenti sono stati descritti per una mini gamma-camera portatile bidimensionale che fornisce immagini paragonabili alla scintigrafia planare²⁷, ma non è in grado di misurare esattamente la profondità o di guidare verso il SLN. Più recentemente, è stato descritto l'impiego nella chirurgia di navigazione della SPECT a mano libera (fhSPECT) che combina l'informazione acustica di una sonda gamma convenzionale ad immagini 3-D intraoperatorie con visualizzazione in tempo reale della distribuzione del radiotracciante all'interno del campo chirurgico e pertanto dei SLNs. FhSPECT è una modalità 3D-imaging tomografica basata sui principi della SPECT convenzionale, ma con la differenza principale di essere basata su acquisizione di dati da una scansione a mano libera utilizzando rivelatori portatili invece di gamma camere gantry-based. Questa tecnologia è stata progettata per utilizzare gamma probes convenzionali per il rilevamento di radiazioni e sistemi di posizionamento per determinare l'esatta posizione del sensore rispetto al paziente. In base all'integrazione dei dati rilevati dal gamma-probe e della sua posizione e orientamento, il sistema è in grado di generare immagini 3D nucleari durante la SNB fornendo al chirurgo informazioni sulla direzione e la profondità del SLN in relazione alla sonda.

Gamma camera portatile

L'imaging intraoperatorio in tempo reale mediante gamma-camera portatile è in grado di identificare globalmente tutti gli spots radioattivi e, grazie alla regolazione della sua posizione, può mostrare i SLNs prossimi al sito di iniezione. Usando questo dispositivo il chirurgo può acquisire un ulteriore vantaggio, ossia la certezza della completa ed accurata escissione dei SLNs, in quanto la gamma-camera mostra l'attività radioattiva residua²⁷.

3D Freehand SPECT

I primi risultati positivi riguardanti l'esecuzione di SNB su guida fhSPECT nella regione testa-collo sono stati pubblicati da Heuveling DA et al. nel 2012²⁸. Il rationale alla base della tecnica risiede in un'apparecchiatura specificatamente dedicata alla sala operatoria e in grado di guidare il chirurgo verso l'esatta localizzazione del SLN generando immagini 3D con informazioni inerenti la direzione e la profondità dello spot radioattivo nel collo. Gli Autori, nonostante il limitato numero di pazienti trattati, sostengono che fhSPECT possa teoricamente consentire una riduzione della FNR, grazie alla migliore e più accurata rilevazione dei SLNs localizzati in stretta vicinanza al tumore primitivo. Inoltre, l'utilizzo della navigazione 3D fornisce informazioni più precise sulla localizzazione del SLN consentendo un'esplorazione meno invasiva e quindi minimizzando il rischio di complicanze e di formazione di tessuto fibroso, fattore che può influenzare negativamente l'eventuale successiva dissezione del collo in caso di SLN positivo.

Dopo questo primo report, lo stesso gruppo di ricerca ha pubblicato nel 2015 un nuovo lavoro²⁹: aumentando la coorte di pazienti (da 3 a 66), l'uso di fhSPECT ha confermato una buona performance in quanto ha permesso l'individuazione intraoperatoria del 94% dei SLNs (quando messi a confronto con i SLNs identificati con la linfoscintigrafia preoperatoria). La maggior parte dei SLNs non rilevati (7 su 9) si trovavano nel I livello laterocervicale. Nelle conclusioni tratte dagli Autori, la fhSPECT avrebbe facilitato l'individuazione del SLN nel 24% delle procedure (un quarto dei pazienti), ma non sarebbe in grado di rilevare tutti i SLNs situati in prossimità del sito di iniezione.

Bluemel C et al. nel 2014^{30,31} hanno pubblicato i promettenti risultati ottenuti in una serie di 23 pazienti consecutivi affetti da cancro del cavo orale: per la precisione tutti i SLNs eccetto uno rilevati all'imaging preoperatorio sono stati mappati con successo durante l'intervento grazie alla fhSPECT (tasso di rilevamento del 98%), compresi sei pazienti con un tumore del FOM.

PET/CT

Con l'obiettivo di migliorare l'imaging preoperatorio del SLN, sono state proposte alcune novità. La tomografia computerizzata a emissione di fotone singolo con CT integrata (SPECT/CT) può migliorare la visualizzazione del rapporto dei SLNs con diverse strutture vascolari e nervose vitali, permettendone così la rimozione in sicurezza. Inoltre, il miglior orienta-

mento topografico e la più precisa definizione dei SLNs nei confronti delle strutture circostanti, potrebbero anche ridurre i tempi chirurgici. Sebbene la SPECT/CT abbia il potenziale per rilevare più SLNs, mostra ancora difficoltà nella visualizzazione dei linfonodi in stretta relazione spaziale con il sito d'iniezione³². Risultati preclinici promettenti sono stati riportati con l'utilizzo di un tracciante a base di albumina nanocolloidale (89Zr-nanocolloidale albumina-based) espressamente dedicato alla rilevazione mediante PET/CT ad alta risoluzione³³. In questo studio la PET/CT ha mostrato un distinto assorbimento di 89Zr-nanocolloidale albumina-based nei SLNs, con visualizzazione dei vasi linfatici, e con una biodistribuzione paragonabile a quella del 99mTc-nanocolloidale albumina.

Nuove analisi patologica/molecolare

Nuovi passi avanti sono stati compiuti anche nella diagnostica patologica delle metastasi nei campioni chirurgici di SLNs. Durante l'esecuzione di SNB, sezioni estemporanee al congelatore, imprint cytology, o tecniche molecolari possono essere utilizzate per migliorare la diagnostica delle metastasi nei SLNs³⁴.

Uno dei principali problemi che si riscontrano confrontando SNB con END è la necessità, in caso di SLN positivo, di tornare in sala operatoria in un secondo tempo per realizzare uno svuotamento laterocervicale radicale modificato (MRND). Nonostante le sezioni estemporanee al congelatore siano in grado di identificare una percentuale significativa di SLNs positivi, rimane un sottogruppo di pazienti in cui la malattia occulta si paleserà solo a seguito di sezioni seriate e di analisi immunoistochimiche definitive.

Nel tentativo di superare questo problema, sono stati compiuti progressi nello sviluppo di una PCR real-time quantitativa automatizzata (qRT-PCR) per rilevare metastasi occulte all'interno di un SLN; in particolare, è stata descritta una PCR rapida automatizzata quantitativa trascrittasi-inversa, che impiega circa 35 minuti per completare il ciclo con una precisione del 94,2% nell'identificazione di linfonodi positivi e negativi, metodica che potrebbe rivelarsi essere più accurata rispetto alle analisi patologiche intraoperatorie³⁵.

Altro metodo proposto è un'amplificazione one-step dell'acido nucleico (OSNA), basata sull'identificazione di mRNA di citocheratine e in grado di garantire l'esame dell'intero linfonodo in tempi compatibili con quelli chirurgici (circa 30 minuti).

Utilizzando queste metodiche molecolari la procedura chirurgica, compreso lo svuotamento laterocervicale in caso di SLN positivo, potrebbe

essere limitata a un'unica sessione invece delle due oggi necessarie, ma al costo di un significativo aumento nella durata del tempo chirurgico (perché la dissezione del collo richiede circa cinque volte più tempo rispetto al SNB).

**NEW TECHNOLOGIES
IN SENTINEL NODE BIOPSY:
EVOLUTION TOWARD THE FUTURE**

T. Poli, D. Lanfranco

To decrease the morbidity of elective neck dissection (END) and to improve lymph node staging by fine pathology, the sentinel lymph node biopsy (SNB) procedure has been advocated. In fact SNB has shown several advantages over END:

1. reduced morbidity¹;
2. improved identification of so-called skip metastases and aberrant lymphatic drainage patterns²⁻⁴;
3. improved pathological specimen analysis for the detection of (micro-)metastases^{5,6}.

For SNB, overall sensitivity rates of 91% after 5-year follow-up have been reported⁷.

In head and neck cancer, the use of radiocolloids and a blue dye can be considered the gold standard to locate the sentinel node (SLN). However, the use of radiocolloids has the disadvantage of the lack of real-time intraoperative visual information and the need for a nuclear physician; and blue dyes shows limited depth penetration and blue staining of the surgical field.

Other problems associated with SNB technique are poor transcutaneous identification of sentinel nodes (especially in case of floor of mouth (FOM) tumours, in which SNB shows sensitivity and negative predictive values much lower compared to other sites, 80 vs 97% and 88 vs 98%, respectively), the shine-through phenomenon and exposure to radiations.

On the contrary, the hypothesized higher costs in comparison to other diagnostic and therapeutic strategies were disproved by the recent manuscript of Govers et al. and O'Connor et al^{8,9}.

For these reasons, despite excellent results of the SNB procedure in oral cancer, there is still room for improvements and Authors devoted to this field of research considered the possibility to refine the classic technique testing new tracers, applying new equipments and performing new pathological/molecular analysis.

New tracers:

Indocyanine green (ICG)/Near infrared fluorescence (NIR)

Near-infrared (NIR) fluorescence imaging is a promising technique to identify the SLN intraoperatively. In fact the NIR fluorescence tracer indocyanine green (ICG) enables visual detection of SLNs without affecting the surgical field (such as in case of use of blue dye) and without radiation exposure; furthermore the use of this substance is cost-effective. ICG is not visible by the naked eye and does, therefore, not interfere with the visual identification of tumour margins¹⁰. However, similar to vital blue dyes, ICG rapidly migrates through the lymphatic system leading to a limited diagnostic window and staining of higher echelon nodes¹¹.

ICG fluorescence imaging systems

Van der Vorst et al. in 2013¹² used the ICG adsorbed to human serum albumin (ICG:HSA) for SLN mapping in head and neck cancer patients. A total of 10 consecutive patients with oral cavity or oropharyngeal cancer and a clinical N0 neck were included. A dose of 1.6 mL of ICG:HSA (500 IM) was injected at four quadrants around the tumor. During the neck dissection, levels I-IV were measured for fluorescence using a specific imaging system. In all 10 patients, NIR fluorescence imaging enabled visualization of one or more SLNs. This study showed the feasibility to detect draining lymph nodes in head and neck cancer patients using NIR fluorescence imaging; the only drawback to solve in the future is the quick migration of the fluorescent tracer beyond the SLN to higher tier nodes.

Although ICG fluorescence imaging systems have advantages over conventional methods, identifying soft tissues such as muscles or nerves around the nodes is challenging on the monochromatic images produced. This requires surgeons to biopsy sentinel nodes under direct visualisation while also referring to the monochromatic images on the monitor.

Iwai et al. in 2013¹³ reported the use of a new ICG fluorescence imaging system with a colour charged couple device (CCD) camera for SNB in patients with oral cancer. They used the equipment to visualise ICG-enhanced structures in vivid colour and so to detect SLNs intraoperatively. Although ICG-fluorescing nodes cannot always be detected transcutaneously if they are deep in the subcutaneous tissue, nodes can be biopsied using ICG in such cases by mapping them preopera-

tively and then making the skin incision. In conclusion, despite the limited series, this technique seems promising to overcome the problems related to monochromatic images.

Concomitant radio and fluorescence guided SNB/ Indocyanine green (ICG)-99mTc-nanocolloid hybrid tracer

The self-assembled hybrid radiocolloid ICG-99mTc-nanocolloid was clinically introduced to address the migratory limitations of optical dyes during selective SLN biopsy^{14,15}. In this complex, ICG adopts the lymphatic migration properties of the radiocolloid, resulting in a significantly longer retention time in the SLNs as compared to ICG alone. With this hybrid tracer being both radioactive and fluorescent, preoperative surgical planning can be combined with intraoperative radioguidance towards the SLNs. The fluorescent properties of the hybrid tracer extend the diagnostic capabilities/possibilities of the radioguided procedure by providing real-time optical localization using an NIR fluorescence camera.

Van der Berg et al. in 2012¹⁶ applied this technique in 14 patients with oral cavity squamous cell carcinoma; these cases were peritumourally injected with ICG-99mTc-nanocolloid. SLNs were preoperatively identified with lymphoscintigraphy followed by single photon emission computed tomography (SPECT)/CT for anatomical localization. During surgery, SLNs were detected with a handheld gamma ray detection probe and a handheld near-infrared fluorescence camera. Pre-incision and post-excision imaging with a portable gamma camera was performed to confirm complete removal of all SLNs (included SLNs located close to the primary injection site, only intraoperatively localized using fluorescence imaging). SLNs were either preoperatively identified (using the radioactive signature of ICG-99mTc-nanocolloid) and intraoperatively localized and excised (with combined radio- and fluorescence guidance). Additionally, in four patients, a SLN located close to the primary injection site (in three patients this SLN was located in level I) could only be intraoperatively localized using fluorescence imaging. Thus the addition of fluorescence imaging seems to be particularly useful when SLNs were located in close proximity to the primary tumour.

More recently, the same research team¹⁷ proposed an innovative multi-modality approach for sentinel node mapping and biopsy in head and neck malignancies, combining preoperative SPECT/CT, intraoperative imaging using portable devices (a portable gamma camera in combination with a near-infrared fluorescence camera) and the hybrid tracer ICG-(99m)Tc-nanocolloid. Once again more SLNs (precisely, 26% additional

SLNs) were found using the multimodal approach, particularly in case of tumours located close to the area of lymphatic drainage.

[99mTc]Tilmanocept, a novel CD206 receptor-targeted radiopharmaceutical

[99mTc]Tilmanocept, is a novel, receptor-targeted, non-particulate radiopharmaceutical approved by the US FDA and recently granted marketing authorization by the European Medicine Agency's Committee for Medicinal Products for Human Use for breast cancer, melanoma, and oral HNSCC SLN detection. The small molecular size (7 nm diameter) of Tilmanocept and its specific targeting to CD206 mannose-binding receptors, located on reticuloendothelial cells within lymph nodes, permit rapid injection site clearance and avid, stable binding within target nodes¹⁸.

Agrawal A. et al. in 2015 published the results of an open-label, phase III trial in which [99mTc]Tilmanocept was tested to determine the false negative rate (FNR) of SNB relative to the pathologic nodal status in patients with intraoral or cutaneous head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) undergoing tumor resection, SNB, and planned END. The paper showed a high rate of SLN identification in patients with intraoral and cutaneous HNSCC. Furthermore SNB employing [99mTc]Tilmanocept accurately predicts the pathologic nodal status of intraoral HNSCC patients with low FNR, high negative predictive values (NPV), and high overall accuracy. In conclusion the use of [99mTc]Tilmanocept for SNB in select patients may be appropriate and may avoid the need to perform more extensive procedures such as END¹⁹.

New equipments

It is well known that one of the main limitations of SNB technique appears in case of close proximity of the primary tumour to the first draining lymph node/nodes, especially for patients affected by SCCs of the floor of the mouth (FOM): the resulting shine-through phenomenon leads to inferior detection rates²⁰⁻²³. Preoperatively, this limitation may be overcome by the use of single-photon computed tomography/CT (SPECT/CT), which provides higher detection rates and better morphological information^{24,25}. Additionally, with SPECT/CT more SLNs can be visualized compared to conventional lymphoscintigraphy²⁶. However, the advantages of SPECT/CT cannot be transferred to the operating room and so physicians started to test devices usable directly by the surgeon in the operating room.

Promising results have been described for a portable two-dimensional mini gamma camera, which provides images comparable to planar scintigraphy²⁷ but it is unable to measure exactly the depth or to navigate to the SLN. More recently, freehand SPECT (fhSPECT) was introduced for navigational surgery, combining the acoustic information of a conventional gamma probe and intraoperative 3-D images with real-time visualization of radiotracer distribution within the surgical field thus providing intraoperative visualization of the SLNs. FhSPECT is a 3D tomographic imaging modality based on the imaging concepts of SPECT, but with the major difference of being based on data acquisition by a freehand scan using handheld detectors instead of gantry-based gamma cameras. The technology is designed to use conventional gamma probes for detection of radiation and positioning systems to determine the position of the detector relative to the patient: based on the integration of the acquired set of probe read-outs and their position and orientation, the system is capable of generating 3D nuclear images during SNB, providing the surgeon with information about the direction and depth of the SN in relation to the probe.

Portable gamma camera

Intraoperative real-time imaging with the portable gamma camera is able to identify globally all radioactive spots and can show SLNs near the injection site by adjustment of its position. Using this device the surgeon could be complete and accurate in SLN excision, due to the fact that the gamma camera shows the remaining activity²⁷.

3D Freehand SPECT

The first positive results with the use of fhSPECT-guided SNB in the head and neck region have been presented by Heuveling DA et al. in 2012²⁸. The rationale behind the use of the technique was an equipment specifically dedicated to the operating room and able to guide the surgeon to the exact localisation of the SLN, by generating 3D images with information about the direction and depth of the spot in the neck. The Authors, despite the limited number of patients tested, concluded that fhSPECT can theoretically lead to a reduction of the FNR, which may be achieved by improved detection of SLN localised close to the primary tumour. Furthermore, more precise information on the localisation of the SLN using 3D navigation may reduce the extent of exploration and therefore the risk of complications

and formation of fibrous tissue, a factor that can negatively influence an eventual staged neck dissection in case of a positive SLN.

After this previous report, the same Authors published a new paper in 2015²⁹: expanding the cohort of patients (from 3 to 66), the use of fhSPECT has confirmed a good performance since it allowed the intraoperative detection of 94% of SLNs, when compared to the SLNs preoperative identified on lymphoscintigraphy. Most SLNs not detected (7/9) were located in level I of the neck. Finally, they concluded that fhSPECT appeared to be of additional value for facilitating the intraoperative detection of the SLN in 24% of procedures (a quarter of the patients), but cannot detect all SLNs located in the vicinity of the injection site.

Bluemel C et al. in 2014^{30,31} published the promising results obtained in series of 23 consecutive patients affected by OSCC, precisely all but one of the SLNs detected by preoperative imaging have been successfully mapped intraoperatively by fhSPECT (detection rate 98%), including those in six patients with a tumour in the floor of the mouth.

PET/CT

To improve preoperative imaging of the SLN, some innovations were proposed. Hybrid single-photon emission CT with integrated CT (SPECT/CT) can augment the visualisation of SLNs in relation to several vital vascular and neural structures, thus enabling safer removal of these nodes. Furthermore, enhanced topographical orientation and delineation of SLNs against surrounding structures might also reduce surgical time. Although SPECT/CT has the potential to detect more SLNs, it still has some difficulties in visualising nodes in close spatial relation to the injection site³². Promising preclinical results have been reported using a nanocolloidal albumin-based tracer (89Zr-nanocolloidal albumin-based) specifically dedicated for high-resolution PET/CT detection³³. In this study PET/CT showed distinguished uptake of 89Zr-nanocolloidal albumin in the SLNs, with visualization of lymphatic vessels, and with a biodistribution comparable to 99mTc-nanocolloidal albumin.

New pathological/molecular analysis

Also in detecting metastasis in SLN specimen new steps have been taken. In fact, while the SNB procedure is taking place, immediate frozen section, imprint cytology, or molecular techniques can be applied to improve diagnosis of SLN metastasis³⁴.

One of the major problems comparing SNB technique to END is the need to return to the operating room on a separate occasion for a modified radical neck dissection in case of positive SLN. Although intraoperative frozen section can identify a significant percentage of positive SLNs, there remains a subset of patients whose occult disease will only become apparent with stepsectioning and immunohistochemical definitive analysis.

In efforts to overcome this issue, progress has been made in the development of an automated quantitative real-time PCR (qRT-PCR) assay to detect occult metastases within a SLN; in particular a rapid automated quantitative reverse transcriptase PCR assay has been described: it takes about 35 min to be completed and had an accuracy of 94,2% for identification of positive and negative nodes, which might be more accurate than intraoperative pathological analysis³⁵.

Another method proposed is one step nucleic acid amplification (OSNA), based on the identification of mRNA of cytokeratin and able to allow the examination of the entire lymph node in times compatible with those surgical (about 30 minutes).

Using these assays, the surgical procedure (including neck dissection in case of a positive SLN) could be restricted to one session instead of the two, but at the cost of a significant increase in the duration (complete neck dissection takes about five times longer than SNB does).

Bibliografia/References

1. Murer K, Huber GF, Haile SR, Stoeckli SJ. Comparison of morbidity between sentinel node biopsy and elective neck dissection for treatment of the N0 neck in patients with oral squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2011;33(9):1260-4.
2. Byers RM, Weber RS, Andrews T, et al. Frequency and therapeutic implications of "skip metastases" in the neck from squamous carcinoma of the oral tongue. *Head Neck* 1997;19(1):14-9.
3. Civantos FJ, Moffat FL, Goodwin WJ. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for 106 head and neck lesions: contrasts between oral cavity and cutaneous malignancy. *Laryngoscope* 2006;112(3 Pt 2 Suppl 109):1-15.
4. Stoeckli SJ. Sentinel node biopsy for oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope* 2007;117(9):1539-51.
5. Civantos Jr F, Zitsch R, Bared A, Amin A. Sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Surg Oncol* 2008;97(8):683-90.
6. Stoeckli SJ, Pfaltz M, Ross GL, et al. The second international conference on sentinel node biopsy in mucosal head and neck cancer. *Ann Surg Oncol* 2005;12(11):919-24.
7. Alkureishi LW, Ross GL, Shoaib T, et al. Sentinel node biopsy in head and neck squamous cell cancer: 5-year follow-up of a European multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2010;17(9):2459-64.
8. Govers TM, Takes RP, Karakullukcu B, et al. Management of the N0 neck in early stage oral squamous cell cancer: A modeling study of the cost-effectiveness. *Oral Oncology* 49(2013)771-777.
9. O'Connor R, Pezier T, Schilling C, McGurk M. The relative cost of sentinel lymph node biopsy in early oral cancer. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery* 2013;41:721-727.
10. Vahrmeijer AL, Frangioni JV. Seeing the invisible during surgery. *Br J Surg* 2011;98(6):749-50.
11. van Leeuwen AC, Buckle T, Bendle G, et al. Tracer-cocktail injections for combined pre- and intraoperative multimodal imaging of lymph nodes in a spontaneous mouse prostate tumor model. *J Biomed Opt* 2011;16(1):016004.
12. van der Vorst JR, Schaafsma BE, Verbeek FPR, et al. Near-infrared fluorescence sentinel lymph node mapping of the oral cavity in head and neck cancer patients. *Oral Oncology* 2013;49:15-19.
13. Iwai T, Maegawa J, Hirota M, Tohnai I. Sentinel lymph node biopsy using a new indocyanine green fluorescence imaging system with a colour charged couple device camera for oral cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2013;51(2):26-8.
14. 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(4):826-33.
15. Brouwer OR, Klop WM, Buckle T, et al. Feasibility of sentinel node biopsy in head and neck melanoma using a hybrid radioactive and fluorescent tracer. *Ann Surg Oncol*. 2012 Jun;19(6):1988-94.
16. van den Berg NS, Brouwer OR, Martin W, 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;39:1128-1136.

17. Borbón-Arce M, Brouwer OR, van den Berg NS, et al. An innovative multimodality approach for sentinel node mapping and biopsy in head and neck malignancies. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2014; 33(5):274-9
18. Vera DR, Wallace AM, Hoh CK, et al. A synthetic macromolecule for sentinel node detection: (99m)Tc-DTPA-mannosylidextra. *J Nucl Med*. 2001;42:951-9.
19. Agrawal A, Civantos FJ, Brumund KT et al. ^{99m}Tc]Tilmanocept Accurately Detects Sentinel Lymph Nodes and Predicts Node Pathology Status in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: Results of a Phase III Multi-institutional Trial. *Ann Surg Oncol* 2015.
20. Civantos FJ, Zitsch RP, Schuller DE et al. Sentinel lymph node biopsy accurately stages the regional lymph nodes for T1-T2 oral squamous cell carcinomas: results of a prospective multi-institutional trial. *J Clin Oncol* 2010;28:1395-400.
21. Civantos Jr F, Zitsch R, Bared A, Amin A. Sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Surg Oncol*. 2008;97:683-90.
22. Ross GL, Soutar DS, Gordon MacDonald D, et al. Sentinel node biopsy in head and neck cancer: preliminary results of a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2004;11: 690-6.
23. Alkureishi LW, Burak Z, Alvarez JA, et al. Joint practice guidelines for radionuclide lymphoscintigraphy for sentinel node localization in oral/ oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009;36:1915-36.
24. Wagner T, Buscombe J, Gnanasegaran G, Navalkisoor S. SPECT/CT in sentinel node imaging. *Nucl Med Commun*. 2013;34:191-202.
25. Khafif A, Schneebaum S, Fliss DM, et al. Lymphoscintigraphy for sentinel node mapping using a hybrid single photon emission CT (SPECT)/CT system in oral cavity squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2006;28:874-9.
26. Haerle SK, Hany TF, Strobel K, et al. Is there an additional value of SPECT/CT over planar lymphoscintigraphy for sentinel node mapping in oral/oropharyngeal squamous cell carcinoma? *Ann Surg Oncol* 2009;16:3118-24.
27. Vermeeren L, Valdes Olmos RA, Klop WM, et al. A portable gamma-camera for intraoperative detection of sentinel nodes in the head and neck region. *J Nucl Med* 2010; 51:700-03.
28. Heuveling DA, Karagozoglu KH, van Schie A, et al. Sentinel node biopsy using 3D lymphatic mapping by freehand SPECT in early stage oral cancer: a new technique. *Clin Otolaryngol* 2012;37(1):89-90.
29. Heuveling DA, van Weert S, Karagozoglu KH, de Bree R. Evaluation of the use of freehand SPECT for sentinel node biopsy in early stage oral carcinoma. *Oral Oncology* 2015;51:287-290.
30. Bluemel C, Herrmann K, Müller-Richter U, et al. Freehand SPECT-guided sentinel lymph node biopsy in early oral squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2014; 36(11): E 112-6.
31. Bluemel C, Herrmann K, Kübler A, et al. Intraoperative 3-D imaging improves sentinel lymph node biopsy in oral cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014;41:2257-2264.
32. Haerle SK, Hany TF, Strobel K, Stoeckli SJ. Is there an additional value of SPECT/CT over planar lymphoscintigraphy for sentinel node mapping in oral/oropharyngeal squamous cell carcinoma? *Ann Surg Oncol* 2009;16:3118-24.
33. Heuveling DA, Visser GW, Baclayon M, et al. ⁸⁹Zr-nanocolloidal albumin-based PET/CT lymphoscintigraphy for sentinel node detection in head and neck cancer: pre-clinical results. *J Nucl Med* 2011;52:1580-84.

34. Vorburger MS, Broglie MA, Soltermann A, et al. Validity of frozen section in sentinel lymph node biopsy for the staging in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Surg Oncol* 2012;106(7):816-9.
35. Ferris RL, Xi L, Seethala RR, et al. Intraoperative qRT-PCR for detection of lymph node metastasis in head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2011;17:1858-66.

torgraf ■

Finito di stampare nel mese di Aprile 2015
presso lo stabilimento tipografico della **torgraf**
S.P. 362 km. 15,300 - Zona Industriale - 73013 **GALATINA** (Lecce)
Telefono +39 0836.561417 - Fax +39 0836.569901
e-mail: stampa@torgraf.it

