

Pesquisa do linfonodo sentinela em pacientes com melanoma: experiência com fitato marcado com Tecnécio-^{99m} e revisão da literatura*

*The role of sentinel node mapping in malignant melanoma: experience with ^{99m}Tc-phytate and a review of the literature**

Marcelo T. Sapienza¹

Guilherme C. Campos Neto²

Francisco A. Belfort³

Marília M. S. Marone¹

Marcia G. M. Tavares²

Margarida M. M. F. Lopes³

Jose Soares Jr.¹

Irene S. Endo²

Sérgio Nakagawa³

Shlomo Lewin²

Resumo: FUNDAMENTOS - A progressão linfática do melanoma maligno habitualmente se inicia pelo linfonodo sentinela (LNS), cuja análise histopatológica permite prever o acometimento de toda a cadeia.

OBJETIVO - O trabalho tem por objetivo descrever a utilização do ^{99m}Tc-Fitato na detecção do LNS em pacientes com melanoma maligno, revisando as indicações e informações fornecidas por sua biópsia.

MÉTODO - A pesquisa de LNS foi realizada por meio da linfocintilografia com ^{99m}Tc-Fitato em 92 pacientes com melanoma (54,0 ± 14,3 anos). Após 18-24 horas, 88 pacientes foram submetidos à localização intra-operatória com detector portátil, seguida da ressecção e análise histopatológica do LNS.

RESULTADOS - A linfocintilografia permitiu a identificação do LNS em todos os estudos, havendo detecção intra-operatória em 98,8% dos casos. O LNS estava acometido em 23 pacientes (26%). O valor preditivo negativo foi de 100% e não se observaram reações adversas pelo uso do ^{99m}Tc-Fitato.

CONCLUSÃO - A detecção do LNS pode ser realizada com diferentes radiofármacos, incluindo o ^{99m}Tc-Fitato, que apresenta vantagens de custo e disponibilidade no Brasil. A pesquisa de LNS resulta em maior acurácia e menor morbidade no estadiamento de pacientes com melanoma maligno

Palavras-chave: biópsia de linfonodo sentinela; cintilografia; melanoma.

Summary: BACKGROUND - Sentinel lymph node (SLN), corresponding to the first lymph node draining the tumor, is usually the first one to receive its metastasis, and its biopsy is used to define the status of the whole lymphatic basin.

OBJECTIVE - The aim of this paper is to describe the use of ^{99m}Tc-Fitato in SLN localization in malignant melanoma patients, and to review the main indications and information provided by SLN biopsy.

METHOD - A total of 92 patients with malignant melanoma was studied. Lymph node scintigraphy was carried out after the subdermal injection of ^{99m}Tc-Phytate. After 18-24 hours, intra-operative SLN localization was carried out using the gamma-probe and lymph node dissection was then performed.

RESULTS - Lymphoscintigraphy identified the sentinel node in all studies and intra-operative detection using gamma-probe was reached in 98.8% of the cases. The SLN was involved in 23 patients (26%). The method's negative predictive value was 100%, and there were no side effects related to ^{99m}Tc-Phytate.

CONCLUSION - Scintigraphic and intra-operative sentinel node detection was satisfactorily performed using ^{99m}Tc-Phytate, an easily available and low cost radiopharmaceutical. SLN mapping allows the use of more accurate tumor staging techniques and reduces surgical morbidity.

Keywords: sentinel lymph biopsy; radionuclide imaging; melanoma.

Recebido em 13.06.2003. / Received in June, 13th of 2003.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 07.10.2003. / Approved by the Consultive Council and accepted for publication in October, 07th of 2003.

* Trabalho realizado na Unidade de Diagnóstico e Densitometria Óssea - Uddo, São Paulo e no Instituto Brasileiro de Controle do Câncer - IBCC, São Paulo. / Work done at "Unidade de Diagnóstico e Densitometria Óssea - Uddo, São Paulo" and "Instituto Brasileiro de Controle do Câncer - IBCC, São Paulo".

¹ MD, PhD, Unidade de Diagnóstico e Densitometria Óssea - Uddo, São Paulo - Brasil. / MD, PhD, Bone Densitometry and Diagnosis Unit - Uddo, São Paulo - Brasil.

² MD, Unidade de Diagnóstico e Densitometria Óssea - Uddo, São Paulo - Brasil. / MD, Bone Densitometry and Diagnosis Unit - Uddo, São Paulo - Brasil.

³ MD, Instituto Brasileiro de Controle do Câncer - IBCC, São Paulo - Brasil. / MD, Brazilian Cancer Control Institute - IBCC, São Paulo - Brasil.

INTRODUÇÃO

A incidência do melanoma maligno é crescente em todo o mundo, com a detecção de aproximadamente 3.050 novos casos por ano no Brasil, resultando em 1.085 óbitos (1,7 novos casos e 0,57 mortes para cada 100.000 habitantes).¹ O tratamento do melanoma primário da pele inicia-se pela ressecção com margens amplas do tumor. A ressecção pode ser curativa, em casos de doença localizada, porém a probabilidade de envolvimento ganglionar aumenta para lesões de maior espessura, atingindo 20% dos pacientes com melanoma de espessura de Breslow intermediária (1-4mm). A remoção de toda a cadeia linfática pode ser realizada para complementar o tratamento desses pacientes, porém sua indicação é questionada por não haver impacto claro do procedimento na sobrevida, além de ser um fator de morbidade, pois frequentemente leva ao desenvolvimento de linfedema.²

Os resultados do tratamento dependem essencialmente do estágio inicial da doença, pois a maioria dos tratamentos sistêmicos (incluindo quimio e imunoterapia) apresenta pouco impacto na sobrevida, com exceção do tratamento com altas doses de interferon-alfa, modalidade que vem apresentando resultados animadores.^{3,4} Os principais fatores prognósticos do melanoma cutâneo são a espessura do tumor, a presença de ulceração e a detecção de metástases ganglionares.^{5,6} A sobrevida de cinco anos também está relacionada ao número de linfonodos acometidos e à presença de acometimento micro ou macroscópico.⁷

O conceito de linfonodo sentinela (LNS) tem sido amplamente empregado na última década, com grande impacto no estadiamento e prognóstico de diversos tumores, incluindo o melanoma. O LNS corresponde ao primeiro linfonodo da base linfática que recebe a drenagem de uma determinada região, quase sempre correspondendo ao primeiro local de implantação tumoral (Figura 1), pois a disseminação ocorre tipicamente de forma ordenada e seqüencial. Portanto, a análise do LNS permite prever o estado de toda a cadeia linfática. Além de menor morbidade do que a ressecção de toda a cadeia linfática, o estadiamento ganglionar a partir do linfonodo sentinela pode ter maior acurácia do que a ressecção completa, pois permite o emprego dirigido de técnicas tais como a imuno-histoquímica.

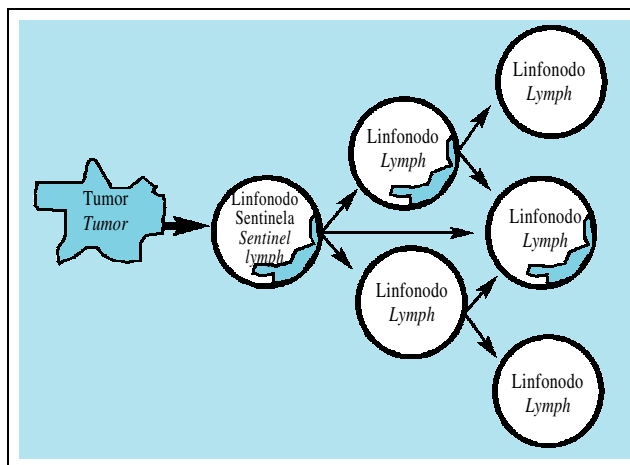


Figura 1: O conceito de linfonodo sentinela baseia-se na progressão ordenada e seqüencial do tumor ao longo do sistema linfático. O linfonodo sentinela recebe a drenagem da região do tumor e é o primeiro a ser acometido pela doença

INTRODUCTION

The incidence of malignant melanoma is growing worldwide. Three-thousand fifty new cases are detected in Brazil yearly, which results in 1,085 deaths (1.7 new cases and 0.57 deaths per 100,000 inhabitants).¹ The treatment of primary melanoma of the skin begins by resection with an ample margin of the tumor. Resection may lead to a cure in cases of localized disease. However, the likelihood of ganglionic involvement increases with thicker lesions, notably affecting 20% of melanoma patients who have intermediary Breslow thickness (1-4 mm). The removal of the entire lymphatic basin may be carried out as complementary treatment in these patients. There is no clear impact of this procedure upon survival rates, apart from its morbidity factor for lymphedema frequently ends up developing. This is why its indication has been questioned.²

The outcome of treatment basically depends on the initial stage of the disease, because most systemic treatments (including chemistry and immunotherapy) have little impact upon survival. The exception here is high-dose interferon- α treatment, which has shown encouraging results.^{3,4} The main prognosis factors of cutaneous melanoma are tumor thickness, presence of ulceration and detection of ganglionic metastases.^{5,6} The five-year survival rate is also related to the number of lymph nodes affected, and the presence of micro- or macroscopic affection.⁷

The concept of sentinel lymph node (SNL) was widely used during the last decade. It has had a large impact upon the staging and prognosis of diverse tumors, including melanoma. SNL corresponds to the first lymph node of the lymphatic basin to receive drainage from a determined region. The latter virtually always corresponds to the first tumoral implantation site (Figure 1), since dissemination typically occurs in an orderly and sequential way. Nevertheless, SNL analysis allows one to define the status of the entire lymphatic basin. Beyond lower morbidity rates resulting from resection of the entire lymphatic basin, ganglion staging starting from the sentinel lymph node may prove to have greater accuracy than a complete resection,

for it allows a guided use of existing techniques, such as immunohistochemistry.

Figure 1: The concept of sentinel lymph node is based on the orderly and sequential progression of the tumor through the lymphatic system. Sentinel lymph node receives draining from the tumor region and is the first to be affected by the disease

Os estudos iniciais de LNS foram realizados por Cabanas, em 1977, que evidenciou a menor mortalidade de pacientes com carcinoma de pênis quando o primeiro linfonodo de drenagem se apresentava livre de doença.⁸ Em 1992, Morton e cols. realizaram a pesquisa de LNS em pacientes com melanoma, com a injeção pré-operatória de corante azul na lesão, seguida da pesquisa do trajeto linfático e do linfonodo corado durante a cirurgia.⁹

O uso de corantes apresenta bons resultados,¹⁰ porém com algumas limitações. A análise visual para identificação do linfonodo corado parte do pressuposto de que a cadeia de drenagem do tumor seja previamente conhecida, o que não é a regra (particularmente em pacientes com melanoma de tronco). Da mesma forma, a detecção de linfonodos em localizações atípicas também pode ser difícil. O intervalo necessário para o aparecimento do corante no linfonodo também é variável, o que leva ao risco da dissecação do linfático antes de o LNS ser corado ou após a progressão do corante para um grande número de linfonodos.

Alex e Krag propuseram em 1993 a injeção intradérmica do enxofre coloidal marcado com tecnécio-99m ao redor do melanoma, seguida da realização de cintilografia para determinar a via linfática de drenagem do tumor e identificar o LNS.¹¹ A marcação da projeção do linfonodo na pele antes da cirurgia serve como um guia para o cirurgião, permitindo incisões e dissecações menos agressivas. O desenvolvimento do detector portátil de radiação (*gamma-probe*) permitiu a aplicação intra-operatória das técnicas radioisotópicas de localização do linfonodo sentinela. A utilização combinada da linfocintilografia e do *probe* aumenta a porcentagem de detecção e permite a abordagem da cadeia ganglionar mais rápida e com menor morbidade.

A detecção do LNS em pacientes com melanoma maligno foi uma das primeiras situações nas quais o conceito de LNS foi validado, e os estudos iniciais foram amplamente confirmados desde então.^{6,12,13} A melhoria no estadiamento e as informações prognósticas obtidas a partir da biópsia do LNS explicam a rápida e disseminada aceitação da técnica. Neste trabalho será descrita a experiência do grupo na detecção do LNS com o uso do ^{99m}Tc-Fitato, bem como revisadas as indicações e principais informações fornecidas pela biópsia do LNS.

MATERIAL E MÉTODOS

A linfocintilografia para detecção do LNS foi realizada em 92 pacientes (32 homens e 60 mulheres, 54±14,3 anos de idade), entre março de 1998 e julho de 2002. O Comitê de Ética da instituição aprovou o estudo, e os pacientes foram previamente informados sobre o procedimento.

Todos os pacientes haviam sido submetidos à ressecção de melanoma, não apresentando suspeita clínica de envolvimento ganglionar. A lesão primária estava localizada no tronco em 38 pacientes, membros inferiores em 35, membros superiores em 15 e cabeça e pescoço em quatro casos.

The very first SNL studies were performed by Cabanas in 1977. They evidenced lower mortality in patients with penile carcinoma when the first lymph node draining the tumor proved to be disease free.⁸ In 1992, Morton and cols. undertook SNL mapping of melanoma patients with a preoperative injection of blue dye in the lesion. This was followed by mapping the lymphatic and stained lymph node pathways during surgery.⁹

The use of dyes has shown good results,¹⁰ though within certain limits only. Visual analysis as a means of identifying stained lymph nodes is based upon the assumption that the tumor's drainage basin is known beforehand. Such is not usually the case (especially in patients with melanoma of the trunk). Likewise, lymph node detection in atypical localizations can also be difficult. The required interval for the appearance of dye in the lymph node varies. This leads to an increased risk of lymphatic dissection prior to the staining of SNL or after the dye's progression to a larger number of lymph nodes.

In 1993, Alex and Krag proposed intradermal injection of colloidal sulfur marked with ^{99m}Tc-Phytate around the melanoma, followed by scintigraphy to determine the lymphatic drainage path and identify SNL.¹¹ Marking the lymph node projection on the skin prior to surgery helps guide surgeons. Furthermore it allows for less aggressive incisions and dissections. Development of a portable radiation detector, a.k.a. the gamma-probe, allows intraoperative application of radioisotope techniques to localize sentinel lymph nodes. A combined use of lymphoscintigraphy and the probe enhances detection rates and allows rapid access to the ganglionic chain with a lower mortality rate.

SNL detection in patients with malignant melanoma was one of the first situations in which the SNL concept gained validity. These initial studies have been widely confirmed ever since.^{6,12,13} Improved staging and prognostic information obtained from SNL biopsies are extra reasons for explaining the speed with which the technique has acquired such widespread acceptance. This paper describes the group's experience in detecting SNL by the use of ^{99m}Tc-Phytate. It also offers revised indications, and discusses the main information gathered from a SNL biopsy.

MATERIAL AND METHODS

Lymphoscintigraphy used for detecting SNL was carried out on 92 patients (32 male and 60 female, 54±14.3 years of age) between March 1998 and July 2002. The Institution's Ethics Board approved the study, and patients were previously informed as to the procedures involved.

None of the patients subjected to melanoma resection showed any suspected clinical ganglionic involvement. The first lesion was localized on the trunk in 38 patients, lower limbs in 35, upper limbs in 15 and the throat in four cases. The medial depth of the tumor was 4 mm ± 3.9 (vary-

A profundidade média do tumor foi de $4\text{mm} \pm 3,9$ (variando de 0,4 a 20mm) e o índice de Clark foi I em 1,5% das lesões, II em 13%, III em 42%, IV em 25% e V em 18%.

A linfocintilografia foi realizada após a injeção subdérmica de 0,8ml de Fitato marcado com tecnécio-99m (Ipen, São Paulo), com atividade de 55 a 74MBq (1,5-2mCi). A injeção foi aplicada em quatro ou mais pontos ao redor da cicatriz resultante da ressecção do tumor primário.

A linfocintilografia foi realizada em câmara cintilográfica modelo SPX-6 (Elscont, Haifa) com colimador de baixa energia e alta resolução, na UDDO/Serviço de Medicina Nuclear do Instituto Brasileiro de Controle do Câncer. A fase dinâmica do estudo consistiu em imagens de 30 segundos de duração obtidas durante cinco minutos após a injeção do radiofármaco. Imagens estáticas foram capturadas em intervalo de 10 a 60 minutos após a injeção, com a realização de imagens mais tardias (até quatro horas) caso não fosse possível a identificação do LNS na primeira hora de estudo. O posicionamento do paciente variou de acordo com a progressão observada na fase dinâmica do estudo e com o local da lesão primária (tronco - projeções de tórax/axila e de bacia; membros inferiores - projeções de bacia; membros superiores - projeções de tórax/axila; cabeça e pescoço - projeções de tórax, axila e crânio). Imagens adicionais da região poplíteia e de cotovelos foram realizadas para tumores nas extremidades dos membros. Os linfonodos identificados na cintilografia foram marcados na pele, preferencialmente estando o paciente na mesma posição que seria adotada na cirurgia.

A cirurgia foi realizada entre 18 e 24 horas após a linfocintilografia. A localização intra-operatória do LNS foi realizada com o uso do corante azul patente e do detector portátil (*gamma-probe*). O detector portátil (GAMMED II - Eurorad) foi utilizado para avaliar o número das contagens radioativas detectadas sobre a pele (na região previamente marcada durante a linfocintilografia), confirmando a posição do LNS antes da incisão inicial. O *probe* foi então coberto com uma proteção estéril e utilizado pelo cirurgião para dirigir a pesquisa intra-operatória do LNS. O número de contagens do LNS *in vivo* e após sua ressecção foi medido e registrado. Caso a atividade no campo cirúrgico se mantivesse acima de 1/10 das contagens detectadas antes da remoção do LNS, era realizada a pesquisa e ressecção de outros linfonodos captantes. Ao término da pesquisa do LNS procedeu-se a ampliação da margem peritumoral. Na fase inicial de implantação do procedimento realizou-se também a ressecção total da cadeia ganglionar, no total de 36 pacientes.

Após a remoção do LNS, procedeu-se a análise macroscópica do tumor, com a mensuração de seus três diâmetros e incisão longitudinal. O linfonodo foi então submetido à inclusão em parafina, com obtenção de cortes de $3\mu\text{m}$ e coloração por hematoxilina-eosina. Técnicas imuno-histoquímicas não foram aplicadas de forma sistemática nesse grupo, devido à não-disponibilidade de rotina no hospital.

ing from 0.4-20 mm), with a level of Clark equal to I for 1.5% of lesions, II for 13%, III for 42%, IV for 25% and V for 18%.

Lymphoscintigraphy was carried out after subdermal injection of 0.8 ml of Phytate marked with the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ technique (Ipen, São Paulo), set at 55-74 MBq (1.5-2 mCi). The injection was applied to four or more points around the resection wound of the primary tumor.

Lymph node scintigraphy was carried out with a model SPX-6 scintigraphy camera (Elscont, Haifa) with a low-energy, high-resolution collimator, at the UDDO/Brazilian Cancer Control Institute Nuclear Medicine Service. The study's dynamic phase consisted of 30-second images obtained over five minutes after injection of the radiopharmaceutical. Static images were obtained in 10-60 minute intervals after the injection. When SNL identification within the first hour of study was not possible, images were obtained up to four hours later. The patient's position varied according to the progression observed during the study's dynamic phase and localization of the primary lesion (trunk, thorax/axilla and basin projections; lower limbs-basin projections; upper limbs-thorax/axilla projections; head and throat-thorax, axilla and cranial projections). Additional images of the popliteal region and elbows were taken for the tumors found at the extremities. Lymph nodes identified by scintigraphy were marked on the skin. Moreover, it is preferable for the patient to be in the position designated for surgery.

Surgery was performed 18-24 hours after lymph node scintigraphy. The intraoperative localization of SNL was made with the use of patent blue dye and the gamma-probe. The GAMMED II (Eurorad) gamma-probe was used to assess the number of radioactive counts detected on the skin (a region previously marked during the lymphoscintigraphy). This procedure thus confirmed the SNL position prior to the initial incision. The probe was then covered by a sterile protector and utilized by the surgeon to guide the intraoperative SNL mapping. The number of SNL counts *in vivo*, and following the resection, was measured and registered. Should radioactivity persist during surgery at over 1/10 of the counts detected prior to the SNL removal, mapping and resection would then have to be performed on the other traced lymph nodes. By the end of SNL mapping, the peritumoral margin had grown. At the initial phase of implementing the procedure, total resection of the ganglionic chain was also performed on all of the 36 patients.

After SNL removal, we moved on to macroscopic analysis of the tumor, and measured its three diameters and longitudinal incision. The lymph node was then embedded in paraffin, thus obtaining $3\mu\text{m}$ cuts and hematoxylin-eosine staining. Immunohistochemical techniques were not applied systematically with this group due to routine unavailability at the hospital.

Figura 2: Cintilografia realizada após a administração de ^{99m}Tc -Fitato no dorso do pé, ao redor da cicatriz da ressecção da lesão primária. Imagens dinâmicas obtidas na projeção anterior de tórax mostram rápida progressão do radiofármaco para a axila esquerda e cadeia supraclavicular direita (A). O LNS e os vasos linfáticos são claramente evidenciados nas imagens obtidas após 20 minutos (B). As projeções laterais esquerda (C) e anterior (D), capturadas após 60 minutos, confirmam a captação em linfonodos de ambas as cadeias (setas).

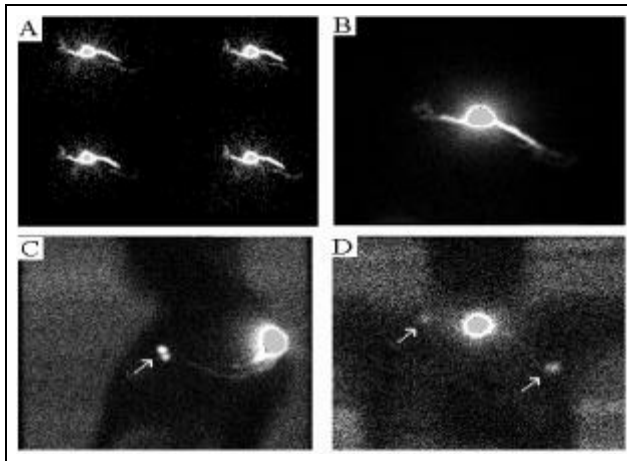


Figure 2: Scintigraphy performed after administering ^{99m}Tc -Phytate on the dorsal aspect of the foot, around the primary lesion's resection wound. Dynamic images obtained from the anterior projection of the thorax show fast-paced progression of the radiopharmaceuticals to the left axilla and right supraclavicular chain (A). SNL and the lymphatic vessels are clearly exposed in the images obtained 20 minutes later (B). The left (C) and anterior (D) lateral projections, shot 60 minutes later, confirm the imaging of the lymph nodes in both basins (arrows).

RESULTADOS

A linfocintilografia com ^{99m}Tc -Fitato demonstrou rápida progressão do radiofármaco, com a identificação do LNS ainda durante a fase dinâmica em grande parte dos pacientes (Figura 2). Não se observaram reações adversas locais ou sistêmicas após a injeção do radiofármaco.

Drenagem simultânea para duas ou mais cadeias linfáticas foi observada em nove pacientes, drenagem para cadeias não esperadas pela topografia da lesão, em seis pacientes, e linfonodos poplíteos detectados em sete casos (Figura 3). Dos sete pacientes com linfonodos sentinelas em região poplíteia (sempre associados a linfonodos inguinais), dois apresentavam envolvimento tumoral, e um, cadeia inguinal livre de doença.

A detecção intra-operatória do LNS com o detector portátil foi realizada em 88 pacientes, não tendo sido realizada em quatro indivíduos devido à não-disponibilidade do equipamento no dia da cirurgia. O LNS foi identificado e ressecado em 87 casos (98,8%) (Figura 4), com a média de 2,1 linfonodos sentinelas por paciente. O único paciente no qual o LNS não foi encontrado, tanto pelo *gamma-probe* quanto pelo corante azul, apresentava um tumor na linha média da região dorsal alta, com a linfocintilografia mostrando drena-

RESULTS

Lymphoscintigraphy with ^{99m}Tc -Phytate revealed rapid progression of the radiopharmaceutical. SNL identification was still in the dynamic phase for most patients (Figure 2). There were no local or systemic adverse reactions observed after injecting the radiopharmaceutical.

Simultaneous draining of two or more lymphatic basins was observed in nine patients. Draining of unexpected basins by lesion topography was found in six, and popliteal lymph nodes detected in seven cases (Figure 3). Of the seven patients with sentinel lymph nodes in popliteal areas (always associated with inguinal lymph nodes), two showed tumor involvement, while in one, the inguinal chain was free from disease.

Intraoperative SNL detection with the gamma probe was performed in 88 patients. It was not performed on four individuals since the equipment was not available on the day set aside for surgery. SNL was identified and achieved in 87 cases (98.8%) (Figure 4), with an average of 2.1 sentinel lymph nodes per patient. The sole patient in whom SNL was not found, either by the gamma-probe or blue staining, showed a tumor on the medial line of the high dorsal region. Lymphoscintigraphy revealed drainage to the posterior cervical chain.

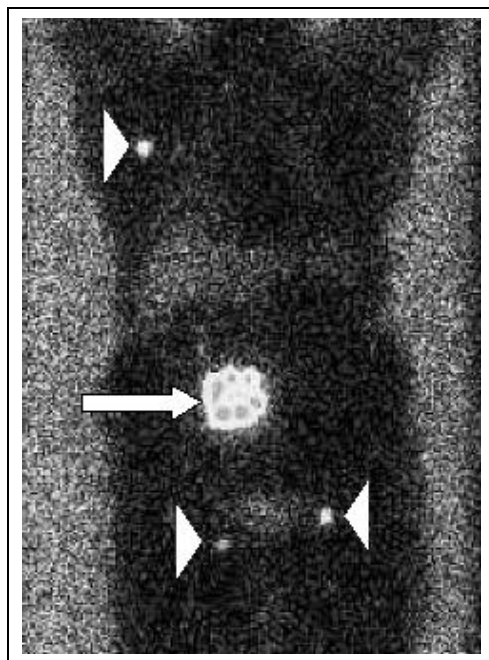


Figura 3: Cintilografia realizada após a administração periincisional de ^{99m}Tc -Fitato (seta) em um paciente com melanoma abdominal. Captação do radiofármaco foi observada na cadeia axilar direita e inguinal bilateral (setas).

Figure 3: Scintigraphy performed after periincisional administration of ^{99m}Tc -Phytate (arrow) in one abdominal melanoma patient. Imaging of the radiopharmaceutical was observed in the right axillary chain and the bilateral inguinal chain (arrows).

Figura 4: Detector portátil (gamma-probe) utilizado para detecção intra-operatória do LNS (A). Nesse caso o detector foi empregado para confirmar a ressecção do LNS, também corado pelo corante azul vital (B).

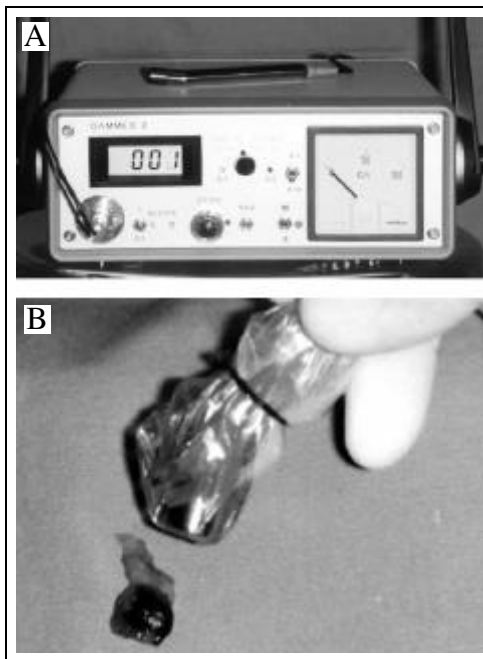


Figure 4: Portable detector (a.k.a. gamma-probe) used for intraoperative SNL detection (A). In this case, the gamma probe was used to confirm the resection of SNL, which was also stained by vital dye (B).

gem para cadeia cervical posterior.

A biópsia do LNS evidenciou disseminação linfática do melanoma em 23 pacientes.

A ressecção do LNS foi seguida da remoção de toda a cadeia ganglionar em 36 pacientes, incluindo alguns com LNS livre de doença na fase inicial de implantação do método em nosso serviço. Entre esses 36 pacientes não houve nenhum caso de LNS falso negativo pela análise histopatológica convencional, e o LNS era o único linfonodo acometido pelo tumor em 16 casos (44%). A análise histopatológica do LNS permitiu, portanto, prever o acometimento ou não da cadeia em todos os 36 pacientes (Tabela 1).

DISCUSSÃO

Linfcintilografia e radiofármacos empregados na detecção do LNS

A pele apresenta uma rica rede de vasos linfáticos, localizados principalmente na camada mais superficial da derme, próximo à epiderme.¹⁴ A injeção subdérmica ou intradérmica de diferentes substâncias permite o estudo da drenagem linfática, com algumas variações de velocidade de drenagem e da retenção linfática dependendo das características físicas do composto injetado. A progressão nas vias linfáticas depende principalmente do tamanho das partículas, com progressão daquelas de maior peso molecular em menor quantidade e de forma mais lenta. Por outro lado, compostos de baixo peso molecular não são retidos nos lin-

The SNL biopsy revealed lymphatic dissemination of the melanoma in 23 patients. SNL resection was followed by removal of the whole ganglionic chain in 36 patients, including those who had disease-free SNL during the initial phase of implementing the method at our service. Among these 36 patients there was no single case of SNL false negative results from conventional histopathological analysis. And the SNL was the sole lymph node affected by a tumor in 16 cases (44%). The histopathological analysis of SNL, nonetheless, proved to have a predictive potential over whether or not the basin would be affected in all of the 36 patients (Table 1).

DISCUSSION

Lymphoscintigraphy and radiopharmaceuticals used in SNL detection

The skin shows a rich network of lymphatic vessels localized primarily in the most superficial layer of the dermis, i.e. near the epidermis.¹⁴ Sub- or intra-dermal injections of different substances allow the study of lymphatic drainage and a few variations in draining velocity and lymphatic retention that depend on the physical characteristics of the injected composite. Progression in the lymphatic pathways depends primarily on particle size. Particles with the highest molecular weight are among the least and slowest to progress. On the other hand, low molecular weight composites are not retained in lymph

Tabela 1: Detecção e resultados da análise do LNS em pacientes com melanoma
Table 1: Detection and results of SNL analysis in melanoma patients

Detecção do Linfonodo Sentinela <i>Detection of Sentinel Lymph Nodes</i>		Análise Histopatológica <i>Histopatologic Analysis</i>		
Cintilografia <i>Scintigraphy</i>	Detector Portátil <i>Gamma Probe</i>	LNS + SNL +	LNS falso negativo a SNL false negative a	Acurácia a <i>Accuracy a</i>
100% (92/92)	98.8% (87/88)	26% (23/87)	0%	100%

a: calculada entre os 32 pacientes submetidos à ressecção da cadeia ganglionar / calculation based on 32 patients subjected to resection of the ganglionic chain

LNS: linfonodo sentinela; +: positivo para tumor / SNL: sentinel lymph node; +: positive for tumor

fonodos, ao contrário dos materiais particulados (como os colóides), que são retidos provavelmente por fagocitose. Os colóides representam a maioria dos radiofármacos empregados na detecção do linfonodo sentinela. A detecção do LNS é possível porque o colóide é ligado a um traçador radioativo, em geral o tecnécio-99m, cuja radioatividade pode ser detectada nas imagens obtidas pela câmara de cintilação ou pelo detector portátil.

A linfocintilografia é uma etapa essencial da pesquisa de LNS, pois as imagens obtidas permitem a avaliação do padrão de drenagem e a correta identificação de uma ou mais cadeias relacionadas ao sítio de injeção. O detector portátil (ou mesmo o corante) pode, dessa forma, ser utilizado de maneira mais direcional durante o tempo cirúrgico. Padrões atípicos ou inesperados de drenagem são observados frequentemente, sobretudo nos pacientes com lesões do tronco. O emprego da linfocintilografia tem mostrado que as áreas com drenagem ambígua têm extensão muito maior do que a classicamente descrita na linha média da cabeça ao tronco e na transição tóraco-abdominal (áreas descritas nos estudos de Sappey).¹⁵ Neste estudo, 15 pacientes (16%) apresentaram drenagem para mais de uma cadeia linfática ou para uma cadeia não esperada pelo sítio primário da lesão. Outros sete apresentaram linfonodo sentinela na região poplíteia, um achado comum em casos de tumor de extremidades, porém pouco frequentemente presente nos relatos da literatura.¹⁶

A literatura apresenta resultados relativamente homogêneos na detecção do LNS com radioisótopos, apesar de várias diferenças metodológicas. As variações mais frequentes correspondem ao emprego de diferentes radiofármacos, atividades, volumes e vias de administração. A administração de pequenos volumes (0,2ml) ao redor da lesão primária ou da cicatriz cirúrgica, por via intra ou subdérmica, é recomendada de forma quase consensual.

Em geral também se considera ideal o uso de partículas com diâmetro entre 20-500nm,¹⁷ pois o emprego de partículas de maior diâmetro é limitado pela lenta progressão linfática, enquanto as partículas de menor diâmetro não sofrem fagocitose e podem progredir para toda a cadeia. Entre os radiofármacos mais empregados encontram-se os nanocolóides de albumina na Europa e os compostos antimoniais na Oceania, assim como o enxofre coloidal modificado/filtrado nos EUA. Entretanto, os dois primeiros radiofármacos citados têm disponibilidade limitada no Brasil, havendo ressalvas quanto à não-uniformidade e dificuldades técnicas no preparo do enxofre coloidal. Provavelmente por esse motivo, vemos que os radiofármacos aqui mais empregados são o Dextran e o Fitato marcado com tecnécio-99m.

Apesar de ser difícil medir diretamente o diâmetro da partícula, considera-se, há cerca de cinco anos, que o ^{99m}Tc-Fitato poderia ser uma alternativa na detecção do LNS. Essa possibilidade foi levantada devido à similaridade na biodistribuição do Fitato e dos nanocolóides no sistema retículo-endotelial. O ^{99m}Tc-Fitato foi inicialmente descrito para o

nodes, as opposed to particulate materials (such as colloids), which are retained most likely by phagocytosis. Colloids consist of the majority of radiopharmaceuticals used to detect sentinel lymph nodes. SNL detection is made possible because a colloid is linked to a radioactive tracer, usually the ^{99m}Tc. The radioactivity of latter may be detected in images obtained by the scintillation camera or gamma probe.

Lymphoscintigraphy is an essential step in studying SNL. The images obtained allow an assessment of the draining pattern and accurate identification of one or more related chains at the injection site. As such, the gamma probe (or even the dye) may provide better guidance in its use during surgery. Atypical or unexpected draining patterns were often observed, above all in patients with trunk lesions. The use of lymphoscintigraphy has shown that areas with ambiguous draining are far more extensive than those classically described along the head to trunk medial line, and in the thoracic-abdominal transition (areas described in Sappey's studies).¹⁵ In this latter study, 15 patients (16%) showed drainage in more than one lymphatic basin, or in an unexpected basin with respect to the primary lesion site. Another seven showed sentinel lymph nodes in the popliteal region, which is a common finding in cases of tumors in the extremities, though seldom found in reports in the literature.¹⁶

The literature does show relatively homogenous results in SNL detection with radioisotopes in spite of many methodological differences. The most frequent variations match up with the use of different radiopharmaceuticals, radioactivity, volumes and administration pathways. There is almost unanimous agreement to recommend administration of small volumes (0.2 ml) around the primary lesions or surgical wound via intra- or subdermal pathways.

What is also considered ideal is the use of particles (20-500 nm in diameter),¹⁷ since the use of large diameter particles is limited by a slow lymphatic progression. On the other hand, small diameter particles do not experience phagocytosis and may engulf the entire basin. Among the most common radiopharmaceuticals, albumin nanocolloids are used in Europe and antimony composites in Oceania, as well as modified/filtered colloidal sulfur in the USA. Still, availability of the first two radiopharmaceuticals cited is very limited in Brazil. This situation highlights the lack of uniformity and the technical difficulties involved in preparing colloidal sulfur. It is most likely for this reason that we see radiopharmaceuticals being used here more than Dextran and ^{99m}Tc-Phytate.

In spite of how hard it is to measure the particle diameter correctly, about five years ago ^{99m}Tc-Phytate was cited as possibly becoming an alternative in SNL detection. This suggestion was raised due especially to how phytate biodistribution resembles nanocolloids in the reticuloendothelial system. ^{99m}Tc-Phytate was initially described in a study of the reticuloendothelial system in 1973, which has

estudo do sistema reticuloendotelial em 1973, havendo a formação de colóides *in vivo*, após reação com o cálcio iônico.¹⁸ As medidas efetuadas após adição de cálcio em relação molar de 1:1 ou 2:1 ao ^{99m}Tc-Fitato, realizadas por microscopia eletrônica e estudos de condutibilidade, indicam a formação de partículas com diâmetro inferior a 500nm.^{19,20} A captação esplênica observada após a administração intravenosa de ^{99m}Tc-Fitato em pacientes é similar à observada com nanocolóides e inferior à observada com enxofre coloidal, confirmando a formação de partículas com menor diâmetro.

O emprego do ^{99m}Tc-Fitato para linfocintilografia já foi descrito,^{21,22} e a utilização específica para detecção de LNS foi relatada pelo grupo destes autores.²³ A rápida progressão do ^{99m}Tc-Fitato na fase inicial, com a identificação do LNS ainda durante a fase dinâmica nos minutos iniciais do estudo, pode estar relacionada à migração de compostos de baixo peso molecular antes da formação *in vivo* do colóide. No entanto, a retenção e concentração do radiofármaco no LNS, com baixa progressão para o restante da cadeia, indicam que há formação de colóide no percurso entre o subcutâneo e o LNS.

Impacto da biópsia do LNS no estadiamento e prognóstico do melanoma

A pesquisa intra-operatória do LNS é amplamente indicada para pacientes com lesões com espessura acima de 1mm e sem evidências clínicas de metástases ganglionares. Aproximadamente 20% dos pacientes com tumor apresentando Breslow de um a 4mm têm metástase no LNS, valor que sobe para 34% entre pacientes com índice > 4mm e cai para 4,7% em pacientes com índice < 1mm associado a lesões ulceradas ou com nível IV de Clark.⁶ O *status* do LNS é tão aceito, que foi incluído no estadiamento proposto pela *American Joint Committee on Cancer for Malignant Cutaneous Melanoma*.^{24,25}

A detecção de LNS pode ser também indicada para pacientes com lesões mais superficiais (<1mm),^{26,27} apesar de ser evidente o fato de que tumores mais profundos apresentam maior probabilidade de disseminação ganglionar.^{28,29} O valor prognóstico da biópsia do linfonodo sentinela é comprovado para tumores com espessura acima de 4mm.³⁰

Descreve-se a correta identificação intra-operatória do LNS em quase 98% dos casos com colóides radiomarcados, 75 a 80% com corantes e 98 a 99% com a combinação de ambos.²⁵ Também se descreve acurácia superior a 98% da biópsia do LNS na predição do acometimento de toda a cadeia linfática.^{6,12,13} Em recente revisão de 1.135 casos de melanoma, o LNS foi detectado com radioisótopos em 97% dos pacientes, com valor preditivo negativo de 100%.³¹ Os resultados apresentados no presente trabalho são similares, com taxas de 98% e 100%, respectivamente.

A pesquisa de acometimento ganglionar pelo LNS pode ser até mesmo superior à abordagem de toda a cadeia, por permitir o estudo mais detalhado e o emprego de técnicas visando à detecção de micrometástases. A redução do número de linfonodos analisados permite que o patologista não só

a colloid formation in vivo after a calcium ion reaction. 18 The measures undertaken after adding calcium in a 1:1 or 2:1 molar relation to ^{99m}Tc-Phytate, and performed with the electron microscope and conductivity studies, indicate the formation of particles <500 nm in diameter.^{19,20} The spleen imaging observed after intravenously administering the ^{99m}Tc-Phytate in patients is similar to what has been observed with nanocolloids and poorer than with colloidal sulfur. These results confirm the lower-diameter particle formation.

The use of ^{99m}Tc-Phytate for lymphoscintigraphy has already been described.^{21,22} The specific use of SNL detection was reported for the group by the authors.²³ The fast-moving progression of ^{99m}Tc-Phytate in the initial phase, with SNL identification still at the dynamic phase in the initial minutes of the study, may be related to migrating low-weight molecular composites prior to the colloid's formation in vivo. On the other hand, retention and concentration of radiopharmaceuticals in SNL, only slowly progressing to the rest of the basin, indicates that colloid formation occurs in the course between the subcutaneous layer and SNL.

Impact of the SNL biopsy on the staging and prognosis of the melanoma

The intraoperative mapping of SNL is widely indicated for patients with thick (>1-mm) lesions and with no clinical evidence of ganglionic metastasis. Roughly 20% of tumor patients showing a 1-4 mm Breslow have SNL metastasis. This value rises to 34% among patients with >4 mm index, and falls to 4.7% in patients with <1 mm index in association with ulcerated lesions or level of Clark IV.⁶ The SNL status has achieved such widespread acceptance that it is now included in the staging proposed by the American Joint Committee on Cancer for Malignant Cutaneous Melanoma.^{24,25}

SNL detection may also be indicated for patients with more superficial lesions (<1mm),^{26,27} in spite of the obvious fact that deeper tumors are more likely to show ganglionic dissemination.^{28,29} The prognostic value of sentinel node biopsy is confirmed for thick (>=4-mm) tumors.³⁰

Proper intraoperative SNL identification is described in 98% of cases with radiomarked colloids, 75-80% with dyes and 98-99% with a combination of both.²⁵ Also described is a greater than 98% accuracy rate from SNL biopsy to predict the affection of the entire lymphatic basin.^{6,12,13} In a recent review of 1,135 melanoma cases, SNL was detected with radioisotopes in 97% of patients, with a negative predictive value of 100%.³¹ The results shown in the present study are similar, with rates of 98 and 100%, respectively.

The mapping of ganglion affection at SNL may be even greater than at the access to the entire basin, thereby allowing a more detailed study and the use of techniques aiming at detecting micrometastases. The lower number of analyzed lymph nodes allows the pathologist not only to boost the number of sections per lymph node, but also to

auente o número de secções no linfonodo como também aplique técnicas de mais sensibilidade, tais como a imunohistoquímica ou PCR (*polymerase chain reaction*).^{32,33} A imunohistoquímica com anticorpos dirigidos a antígenos S-100 e HMB-45 aumenta a sensibilidade na detecção de metástases em cerca de 14%,^{34,35} porém não estava disponível rotineiramente para o estudo dos pacientes na instituição.

A nova recomendação da *American Joint Committee on Cancer for Malignant Cutaneous Melanoma* inclui o status do LNS no estadiamento, além de empregar o termo micrometástase para linfonodos sem envolvimento macroscópico.²⁴ O significado clínico de uma micrometástase (principalmente quando detectada apenas pela PCR) e de seu impacto em termos de sobrevida, contudo, ainda é controverso.^{32,33}

A infiltração do LNS é reconhecida como o fator prognóstico mais importante para pacientes com melanoma primário (na ausência de metástases em outros sítios). O acometimento do LNS é forte preditor de recorrência e de sobrevida, com a mortalidade de 6% em pacientes com LNS negativo comparada a 30% nos pacientes com LNS positivo acompanhados pelo período médio de 37 meses.^{2,36} Gershenwald⁶ relatou que o LNS é o mais importante indicador de sobrevida nos pacientes com melanoma nos estádios I e II, mais significativo do que a espessura de Breslow e a presença de ulceração. A porcentagem de pacientes livres de doença após intervalo de três anos caiu de 96,8% para 69,9% quando havia acometimento do LNS. Mesmo entre os pacientes com melanoma de maior espessura, há significativa redução de recorrência quando o LNS se apresenta negativo (37% x 73% dos pacientes livres de doença após três anos).⁷

Uma biópsia negativa do LNS, entretanto, não é garantia de que o paciente não irá apresentar recorrências no futuro. Vários autores relatam recorrência entre um e 6% dos pacientes com LNS negativo.^{36,37,38,39} É possível que a recorrência regional entre pacientes com LNS negativo possa ser ainda menor quando empregadas técnicas de mais sensibilidade, tendo sido constatado o fato de que a revisão dos cortes do LNS elucida grande parte das recorrências nos casos inicialmente interpretados como LNS negativo.⁴⁰ Também deve ser observado que a frequência de recorrência regional próxima a 5% é similar à observada após linfadenectomia eletiva⁴¹ e que a ressecção completa da cadeia não aumentou a sobrevida em pacientes com melanoma e LNS negativo.^{28,31}

As indicações para linfadenectomia eletiva ainda são controversas, pois não está claro seu impacto na sobrevida, considerando-se uma população com probabilidade próxima a 20% de acometimento ganglionar. A melhor seleção de pacientes para linfadenectomia eletiva talvez possa ser realizada pela avaliação do LNS, poupando os pacientes com LNS negativo do procedimento. Nesse caso, a principal morbidade da linfadenectomia eletiva seria reduzida, pois é descrito linfedema em apenas 1,7% dos pacientes após biópsia do LNS.⁴²

O fato de pacientes com micrometástases apresentarem maior sobrevida do que aqueles com envolvimento macroscópico⁴³ sugere que a remoção precoce dos linfonodos envolvi-

aply more sensitive techniques, such as immunohistochemistry or PCR (polymerase chain reaction).^{32,33} Immunohistochemistry with antibodies directed at S100 and HMB45 antigens enhances the sensitivity of metastasis detection by roughly 14%,^{34,35} though it was not routinely available for the study of patients at the institution.

The latest recommendations by the American Joint Committee on Cancer for Malignant Cutaneous Melanoma include SNL status in the staging, in addition to using the term "micrometastasis" for lymph nodes that show no macroscopic involvement.²⁴ The clinical significance of a micrometastasis (mainly when detected only by PCR) and its impact on survival rates, however, remain controversial.^{32,33}

The infiltration of SNL is recognized to be the most important prognostic factor for primary melanoma patients (in the absence of metastases at other sites). SNL involvement is a strong predictor of recurrence and survival. A mortality rate of 6% is found in SNL-negative patients compared to 30% in SNL-positive patients who received follow-up for an average of 37 months.^{2,36} Gershenwald⁶ has reported that SNL is the most important survival indicator in stage I and II melanoma patients. It is therefore more significant than Breslow thickness and presence of ulceration. The percentage of patients who are free of disease for an interval of three years dropped from 96.8 to 69.9% when receiving SNL follow up. Even among patients with thicker melanoma, there is a significant reduction in recurrence when SNL is negative (37 vs. 73% of patients free of disease for three years).⁷

A negative SNL biopsy, however, does not guarantee the patient against showing recurrence in the future. Various authors report recurrence in 1-6% of SNL-negative patients.^{36,37,38,39} Regional recurrence among SNL-negative patients might be even less when using more sensitive techniques. It has been noted that the review of SNL cuts elucidates a large part of the recurrences in cases initially interpreted to be SNL-negative.⁴⁰ Also, it ought to be observed that 5% frequency rate of close regional recurrence is similar to what can be seen to occur following elective lymphadenectomy,⁴¹ and that complete resection of the basin did not noticeably increase survival rates in melanoma and SNL-negative patients.^{28,31}

The indications for elective lymphadenectomy are still controversial. Their impact upon survival is not clear when considering a population with a roughly 20% likelihood of ganglionic affection. The best selection of patients for elective lymphadenectomy might perhaps be performed by means of assessing the SNL. SNL-negative patients would thus be exempted from the procedure. In this case, the main cause of morbidity in elective lymphadenectomy would be reduced, since lymphedema is described in only 1.7% of patients after SNL biopsy.⁴²

The fact of micrometastasis patients showing better survival than those with macroscopic involvement⁴³ suggests that early removal of the affected lymph nodes may

dos possa melhorar a evolução do paciente. Entretanto, três ensaios clínicos randomizados não foram capazes de mostrar diferenças significativas de sobrevida em pacientes com LNS positivo submetidos à complementação do esvaziamento ganglionar.^{44,45,46} Esses estudos foram discutidos por Balch,⁴⁷ destacando-se o fato de a maioria dos pacientes não ter realizado a cintilografia pré-operatória para confirmar a identificação correta da cadeia de drenagem. Esse dado é crucial quando se considera a alta frequência de drenagem para mais de uma cadeia linfática ou para locais inesperados. Novos estudos clínicos para a avaliação dos resultados terapêuticos da linfadenectomia seletiva baseada na detecção do LNS estão sendo realizados.⁴⁸ As mesmas considerações, sobre a necessidade de melhor estratificação dos pacientes para avaliação de resposta terapêutica, aplicam-se não só à linfadenectomia, mas também a outros protocolos, tais como o uso de interferon ou vacinas.

CONCLUSÕES

A biópsia do LNS apresenta alta acurácia no estadiamento ganglionar de pacientes com melanoma maligno e também é um importante fator prognóstico. Uma definição correta do estadiamento linfático pode ter implicações terapêuticas, incluindo a indicação mais precisa da ressecção de toda a cadeia linfática ou o emprego de terapias sistêmicas.

Os resultados obtidos na detecção do LNS com ^{99m}Tc-Fitato, um radiofármaco com ampla disponibilidade no Brasil, foram comparáveis aos descritos na literatura. □

REFERÊNCIAS / REFERENCES

1. Estimativa da incidência e mortalidade por cancer no Brasil. INCA - Ministério da Saúde 2002;
2. Fife K, Thompson, JF. Lymph-node metastases in patients with melanoma: what is the optimum management? *Lancet Oncol* 2001;2(10):614-621.
3. Agarwala SS, Kirkwood JM. Update on adjuvant interferon therapy for high-risk melanoma. *Oncology (Huntingt)* 2002;16(9):1177-1187.
4. Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sosman JA, Sondak VK, Agarwala SS, Ernstoff MS *et al.* High-dose interferon alfa-2b significantly prolongs relapse-free and overall survival compared with the GM2-KLH/QS-21 vaccine in patients with resected stage IIB-III melanoma: results of intergroup trial E1694/S9512/C509801. *J Clin Oncol* 2001;19(9):2370-2380.
5. Morton DL, Wanek L, Nizze JA, Elashoff RM, Wong JH. Improved long-term survival after lymphadenectomy of melanoma metastatic to regional nodes. Analysis of prognostic factors in 1134 patients from the John Wayne Cancer Clinic. *Ann Surg* 1991;214(4):491-499.
6. Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Colome MI, Tseng CH *et al.* Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 612 stage I or II melanoma patients. *J Clin Oncol* 1999;17(3):976-983.
7. Cherpelis BS, Haddad F, Messina J, Cantor AB, Fitzmorris K, Reintgen DS, Fenske NA *et al.* Sentinel lymph node micrometasta-

improve the patient's course. Nevertheless, three clinical randomized trials failed to show significant differences in overall survival rates for SNL-positive patients subjected to a complementation of ganglionic emptying.^{44,45,46} These trials were discussed by Balch,⁴⁷ who highlighted the fact that most patients had not undergone preoperative scintigraphy to confirm the correct identification of the draining basin. These data are crucial when considering the high frequency of draining to more than one lymphatic basin or unexpected localizations. New clinical studies meant to assess the therapeutic results of selective lymphadenectomy based on SNL detection are being carried out.⁴⁸ These considerations, namely on the need for better patient stratification to assess therapeutic response, are being applied not only to lymphadenectomy, but also to other protocols, such as interferon or vaccine use.

CONCLUSIONS

SNL biopsy showed a high degree of accuracy for the ganglionic staging of patients with malignant melanoma. It has also proved to be an important prognostic factor. Correctly defining lymphatic staging, then, may have therapeutic implications. The latter specifically include whether the most required indication is to resection the entire lymphatic basin, or use systemic therapies.

The results obtained in SNL detection with ^{99m}Tc-Phytate, which is a widely available radiopharmaceutical in Brazil, were comparable to those described in the literature. □

8. Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977;39(2):456-466.
9. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK *et al.* Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992;127(4):392-399.
10. Bostick PJ, Giuliano AE. Vital dyes in sentinel node localization. *Semin Nucl Med* 2000;30(1):18-24.
11. Alex JC, Weaver DL, Fairbank JT, Rankin BS, Krag DN. Gamma-probe-guided lymph node localization in malignant melanoma. *Surg Oncol* 1993;2(5):303-308.
12. Reintgen D, Cruse CW, Wells K, Berman C, Fenske N, Glass F *et al.* The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg* 1994;220(6):759-767.
13. Thompson JF, McCarthy WH, Bosch CM, O'Brien CJ, Quinn MJ, Paramasvaran S *et al.* Sentinel lymph node status as an indicator of the presence of metastatic melanoma in regional lymph nodes. *Melanoma Res* 1995;5(4):255-260.
14. Lubach D, Ludemann W, Berens VR. Recent findings on the angioarchitecture of the lymph vessel system of human skin. *Br J Dermatol* 1996;135(5):733-737.
15. Uren RF, Howman-Giles R, Thompson JF. Patterns of lymphatic drainage from the skin in patients with melanoma. *J Nucl Med* 2003;44(4):570-582.
16. Thompson JF, Hunt JA, Culjak G, Uren RF, Howman-Giles R,

- Harman CR. Popliteal lymph node metastasis from primary cutaneous melanoma. *Eur J Surg Oncol* 2000;26(2):172-176.
17. Eshima D, Fauconnier T, Eshima L, Thornback JR. Radiopharmaceuticals for lymphoscintigraphy: including dosimetry and radiation considerations. *Semin Nucl Med* 2000;30(1):25-32.
18. Strand SE, Persson BR. Quantitative lymphoscintigraphy I: Basic concepts for optimal uptake of radiocolloids in the parasternal lymph nodes of rabbits. *J Nucl Med* 1979;20(10):1038-1046.
19. Campbell J, Bellen JC, Baker RJ, Cook DJ. Technetium-99m calcium phytate—optimization of calcium content for liver and spleen scintigraphy: concise communication. *J Nucl Med* 1981;22(2):157-160.
20. Galvez AJ, Garcia SC, Garcia DR, Moreno, FJ. [99mTc]Ca-phytate: some colloidal characteristics related to the optimal preparation conditions. *Int J Appl Radiat Isot* 1983;34(12):1647-1649.
21. Alavi A, Staum MM, Shesol BF, Bloch PH. Technetium-99m stannous phytate as an imaging agent for lymph nodes. *J Nucl Med* 1978;19(4):422-426.
22. Kaplan WD, Davis MA, Rose CM. A comparison of two technetium-99m-labeled radiopharmaceuticals for lymphoscintigraphy: concise communication. *J Nucl Med* 1979;20(9):933-937.
23. Tavares MG, Sapienza MT, Galeb NA, Belfort FA, Costa RR, Osorio CA *et al.* The use of 99mTc-phytate for sentinel node mapping in melanoma, breast cancer and vulvar cancer: a study of 100 cases. *Eur J Nucl Med* 2001;28(11):1597-1604.
24. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG *et al.* Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2001;19(16):3635-3648.
25. Mariani G, Gipponi M, Moresco L, Villa G, Bartolomei M, Mazzarol G *et al.* Radioguided sentinel lymph node biopsy in malignant cutaneous melanoma. *J Nucl Med* 2002;43(6):811-827.
26. Bedrosian I, Faries MB, Guerry D, Elenitsas R, Schuchter L, Mick R *et al.* Incidence of sentinel node metastasis in patients with thin primary melanoma (< or = 1 mm) with vertical growth phase. *Ann Surg Oncol* 2000;7(4):262-267.
27. Lowe JB, Hurst E, Moley JF, Cornelius LA. Sentinel lymph node biopsy in patients with thin melanoma. *Arch Dermatol* 2003;139(5):617-621.
28. Caggiati A, Potenza C, Gabrielli F, Passarelli F, Tartaglione G. Sentinel node biopsy for malignant melanoma: analysis of a four-year experience. *Tumori* 2000;86(4):332-335.
29. Gennari R, Bartolomei M, Testori A, Zurrada S, Stoldt HS, Audisio RA *et al.* Sentinel node localization in primary melanoma: preoperative dynamic lymphoscintigraphy, intraoperative gamma probe, and vital dye guidance. *Surgery* 2000;127(1):19-25.
30. Carlson GW, Murray DR, Hestley A, Staley CA, Lyles RH, Cohen C. Sentinel Lymph Node Mapping for Thick (>=4-mm) Melanoma: Should We Be Doing It? *Ann Surg Oncol* 2003;10(4):408-415.
31. Chan AD, Morton DL. Sentinel node detection in malignant melanoma. *Recent Results Cancer Res* 2000;157:161-177.
32. Krag DN, Weaver DL. Pathological and molecular assessment of sentinel lymph nodes in solid tumors. *Semin Oncol* 2002;29(3):274-279.
33. da Silva AM, Oliveira Filho RS, Ferreira LM, Saconato H. Relevance of micrometastases detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction for melanoma recurrence: systematic review and meta-analysis. *Sao Paulo Med J* 2003;121(1):24-27.
34. Cochran AJ, Wen DR, Morton DL. Occult tumor cells in the lymph nodes of patients with pathological stage I malignant melanoma. An immunohistological study. *Am J Surg Pathol* 1988;12(8):612-618.
35. Baisden BL, Askin FB, Lange JR, Westra WH. HMB-45 immunohistochemical staining of sentinel lymph nodes: a specific method for enhancing detection of micrometastases in patients with melanoma. *Am J Surg Pathol* 2000;24(8):1140-1146.
36. Cascinelli N, Belli F, Santinami M, Fait V, Testori A, Ruka W *et al.* Sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma: the WHO Melanoma Program experience. *Ann Surg Oncol* 2000;7(6):469-474.
37. Gershenwald JE, Colome MI, Lee JE, Mansfield PF, Tseng C, Lee JJ *et al.* Patterns of recurrence following a negative sentinel lymph node biopsy in 243 patients with stage I or II melanoma. *J Clin Oncol* 1998;16(6):2253-2260.
38. Landi G, Polverelli M, Moscatelli G, Morelli R, Landi C, Fiscelli O *et al.* Sentinel lymph node biopsy in patients with primary cutaneous melanoma: study of 455 cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2000;14(1):35-45.
39. Stenius Muller MG, Borgstein PJ, Pijpers R, Van Leeuwen PA, Van Diest PJ, Gupta A *et al.* Reliability of the sentinel node procedure in melanoma patients: analysis of failures after long-term follow-up. *Ann Surg Oncol* 2000;7(6):461-468.
40. Clary BM, Brady MS, Lewis JJ, Coit DG. Sentinel lymph node biopsy in the management of patients with primary cutaneous melanoma: review of a large single-institutional experience with an emphasis on recurrence. *Ann Surg* 2001;233(2):250-258.
41. Shen P, Guenther JM, Wanek LA, Morton DL. Can elective lymph node dissection decrease the frequency and mortality rate of late melanoma recurrences? *Ann Surg Oncol* 2000;7(2):114-119.
42. Wrona DA, Tanabe KK, Cosimi AB, Gadd MA, Souba WW, Sober AJ. Lymphedema after sentinel lymph node biopsy for cutaneous melanoma: a report of 5 cases. *Arch Dermatol* 2000;136(4):511-514.
43. McMasters KM, Reintgen DS, Ross MI, Gershenwald JE, Edwards MJ, Sober A *et al.* Sentinel lymph node biopsy for melanoma: controversy despite widespread agreement. *J Clin Oncol* 2001;19(11):2851-2855.
44. Balch CM, Soong S, Ross MI, Urist MM, Karakousis CP, Temple WJ *et al.* Long-term results of a multi-institutional randomized trial comparing prognostic factors and surgical results for intermediate thickness melanomas (1.0 to 4.0 mm). Intergroup Melanoma Surgical Trial. *Ann Surg Oncol* 2000;7(2):87-97.
45. Sim FH, Taylor WF, Pritchard DJ, Soule EH. Lymphadenectomy in the management of stage I malignant melanoma: a prospective randomized study. *Mayo Clin Proc* 1986;61(9):697-705.
46. Veronesi U, Adamus J, Bandiera DC, Brennhovd O, Caceres E, Cascinelli N *et al.* Delayed regional lymph node dissection in stage I melanoma of the skin of the lower extremities. *Cancer* 1982;49(11):2420-2430.
47. Balch CM. The John Wayne Clinical Research Lecture. Surgical management of melanoma: results of prospective randomized trials. *Ann Surg Oncol* 1998;5(4):301-309.
48. McMasters KM. Sentinel Lymph Node biopsy for melanoma. *Melanoma Res* 2001;11(suppl 1):s5-s7.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA: / MAILING ADDRESS:

Marcelo Tatit Sapienza

Serviço de Medicina Nuclear - Hospital Samaritano
Rua Conselheiro Brotero, 1486

01232-010 São Paulo SP

Tel.: (11) 3825-4433

E-mail: mtsapienza@botmail.com