

# Il linfonodo sentinella: come e perché. La nuova sfida in oncologia chirurgica veterinaria



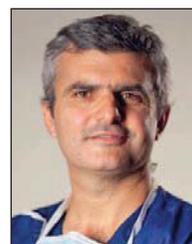
Nell'ultimo decennio si è evidenziato un crescente interesse in merito alla valutazione e al ruolo delle metastasi linfonodali in corso di malattia oncologica del cane. Questo ha portato dapprima a spingersi verso la diagnosi precoce con la rimozione di linfonodi regionali non clinicamente alterati e, secondariamente, a chiedersi se la sola identificazione anatomica fosse sufficiente a decretare che quel linfonodo fosse il linfonodo drenante l'area del tumore primitivo. Su questa spinta, mutuando quello che negli ultimi 30 anni si è acquisito in medicina umana, anche in oncologia veterinaria si è iniziato a discutere di linfonodo sentinella e di come poterlo identificare. Sebbene gli studi siano ancora ridotti, molte sono le tecniche di mappatura pre- e/o intra-operatorie riportate in medicina veterinaria. Questa revisione della letteratura vuole riassumere tali tecniche, esponendone vantaggi e limiti, come anche analizzare il motivo che deve spingere il chirurgo oncologo verso l'identificazione e la rimozione del linfonodo sentinella.



Roberta Ferrari<sup>1,2,3</sup>  
Med Vet, PhD



Davide Danilo Zani<sup>1,4</sup>  
Med Vet, Prof, PhD



Damiano Stefanello<sup>1,2,3</sup>  
Med Vet, Prof, PhD

## INTRODUZIONE

Il ruolo prognostico e terapeutico del linfonodo regionale in cani e gatti affetti da neoplasia spontanea è stato protagonista, negli ultimi 15 anni, di un rinnovato interesse, a cui ha fatto seguito un ampio e talvolta acceso dibattito scientifico, soprattutto nel mastocitoma del cane.<sup>1-5</sup> Dal punto di vista chirurgico tale interesse si è concentrato sulla rimozione di linfonodi clinicamente non

megalici, non palpabili e/ o citologicamente negativi.<sup>1-4,6</sup> Questo ha portato il chirurgo veterinario a chiedersi se il linfonodo non clinicamente alterato potesse essere il reale linfonodo drenante, cioè quello che in medicina umana si identifica con il nome di linfonodo sentinella (Sentinel Lymph Node - SLN). Il SLN, infatti, rappresenta il primo linfonodo che riceve il drenaggio linfatico da un tumore primitivo. Questo linfonodo, o come è sempre più dimostrato, questi linfonodi, sono le prime strutture coinvolte in un eventuale processo metastatico e, proprio come una "sentinella", avvisano della capacità metastatica del tumore permettendo di calibrare i trattamenti oncologici successivi. In medicina umana il concetto di linfonodo sentinella

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Via dell'Università 6 - 26900 Lodi.

<sup>2</sup> Ospedale Veterinario Universitario, Reparto di Chirurgia Generale e Specialistica, Centro Clinico-Veterinario e Zootecnico-Sperimentale d'Ateneo, Università degli Studi di Milano, Via dell'Università 6 - 26900 Lodi.

<sup>3</sup> Ospedale Veterinario Universitario, Servizio di Oncologia, Centro Clinico-Veterinario e Zootecnico-Sperimentale d'Ateneo, Università degli Studi di Milano, Via dell'Università 6 - 26900 Lodi.

<sup>4</sup> Ospedale Veterinario Universitario, Servizio di Diagnostica per Immagini, Centro Clinico-Veterinario e Zootecnico-Sperimentale d'Ateneo, Università degli Studi di Milano, Via dell'Università 6 - 26900 Lodi.

è stato introdotto sin dall'inizio degli anni '50 quando, per la prima volta, si identificò la presenza di coinvolgimento metastatico in un linfonodo non clinicamente alterato in corso di tumore parotideo, portando ad includere la linfadenectomia nell'iter routinario di pazienti affetti da questo tumore.<sup>7</sup> Tuttavia, bisogna aspettare la metà degli anni '70 per veder pubblicato uno studio in cui, non solo si procede con la linfadenectomia di linfonodi non clinicamente alterati, ma si procede con una scelta "guidata" a decidere quale linfonodo rimuovere grazie all'ausilio di esami collaterali prima mai utilizzati, come la linfangiografia per la localizzazione prechirurgica dei linfonodi sentinella in corso di tumore penieno nell'uomo.<sup>8</sup> Risale, invece, a circa 15 anni dopo, nel 1992, il primo studio di Morton e colleghi che ha descritto, sempre in medicina umana, la mappatura e la localizzazione intraoperatoria di linfonodi sentinella attraverso l'utilizzo di coloranti vitali blu (blu di isosulfano e blu patentato V) iniettati in sede intradermica peritumorale in pazienti con melanoma cutaneo.<sup>9</sup>

**La linfoscintigrafia è considerata la metodica gold-standard per la ricerca del linfonodo sentinella in medicina umana.**

Ed è a partire proprio da questi anni che in medicina umana si assiste ad un incremento esponenziale degli studi dedicati alla ricerca del linfonodo sentinella, grazie anche al maggiore coinvolgimento e applicazione della medicina nucleare e all'introduzione di tecniche linfoscintigrafiche. Infatti, l'anno successivo al lavoro di Morton,<sup>9</sup> si inizia a riportare l'uso di un radiotracciante e della linfadenectomia guidata da una gamma-camera portatile, prima utilizzando il gatto come modello per la regione inguinale, quindi testandolo in donne affette da tumore mammario.<sup>10,11</sup> Ed è nel 1996 che Albertini e collaboratori propongono l'utilizzo combinato di linfoscintigrafia e colorante blu, tecnica ancora oggi comunemente utilizzata in medicina umana.<sup>12</sup> Da allora la procedura di ricerca del linfonodo sentinella, eseguita con solo radiofarmaco, o in combinazione con il colorante blu, è entrata nella pratica clinica routinaria nella gestione di tumori dell'uomo quali melanoma, carcinoma mammario ma, più recentemente, anche di tumori prostatici, endometriali e della testa e del collo.<sup>13</sup>

### COME CERCARE IL LINFONODO SENTINELLA? TECNICHE PER LA MAPPATURA DEL LINFONODO SENTINELLA IN MEDICINA VETERINARIA (TABELLA 1)

La ricerca del linfonodo sentinella prevede una serie di

procedure di diagnostica per immagini pre-chirurgiche e/o intra-chirurgiche che devono fornire al chirurgo le coordinate della sede anatomica in cui eseguire la ricerca e, quindi, la rimozione del linfonodo, o meglio dei linfonodi, drenanti la neoplasia.

Diverse sono le tecniche di mappatura del linfonodo sentinella testate in medicina umana e come tali applicate, sebbene ancora in una fase iniziale di sviluppo, in oncologia veterinaria. Ognuna di queste presenta vantaggi e svantaggi in termini di sensibilità della metodica, impiego di sostanze traccianti, nonché in termini di gestione e costi per il proprietario.

### LINFOGRAFIA CON COLORANTE VITALE

I coloranti vitali comunemente usati sono il blu di metilene, il blu di isosulfano e il blu patentato V. Per eseguire l'esame si inocula il colorante in sede peritumorale e si attende 5-10 minuti affinché avvenga il drenaggio (Video 1). Tale procedura risulta economica, facile da eseguire e non comporta l'utilizzo di strumentazione particolare. Tuttavia, il limite di questo metodo, se non eseguito in combinazione con altri, è che il percorso di drenaggio (network linfatico) non è evidente all'occhio nudo del chirurgo, pertanto la scelta di quale stazione linfonodale sia da rimuovere avviene a priori e si basa su un accesso chirurgico in corrispondenza del linfocentro che si ritiene essere per localizzazione anatomica il più probabile. La colorazione blu del linfonodo osservata solo dopo dissezione chirurgica, andrà a confermare la corretta individuazione del linfonodo drenante ma non sarà in grado di escludere il possibile concomitante drenaggio di altri linfonodi sia nel medesimo linfocentro esplorato su base anatomica, sia in linfocentri anatomicamente e clinicamente ritenuti non prevedibili. La sensibilità di tale tecnica è infatti ridotta e varia dal 77 al 89% a seconda dello studio.<sup>14-16</sup> Se usata in associazione ad altri metodi di mappatura intraoperatoria, la colorazione blu del linfonodo ne facilita la visualizzazione e la corretta delimitazione rispetto a strutture vascolo-nervose adiacenti che devono essere preservate in corso di linfadenectomia (Figura 1).<sup>4</sup> In medicina umana questa metodica è stata via via abbandonata, anche in combinazione con tecniche linfoscintigrafiche, in quanto il colorante vitale nell'uomo può dare effetti collaterali quali orticaria, eritema, necrosi cutanea e anafilassi. Ad oggi in letteratura veterinaria non è stato segnalato alcuno di



**Video 1:**

L'iniezione di blu di metilene deve essere eseguita nei tessuti peritumorali dove sono presenti i vasi linfatici. Va assolutamente evitata l'iniezione intratumorale  
<https://www.scivac.it/it/v/21317/1>

**Tabella 1 - Tecniche di mappatura del linfonodo sentinella disponibili in oncologia veterinaria**

TECNICA	STRUMENTAZIONE	IDENTIFICAZIONE DEL LINFOCENTRO	LIMITI DELLA METODICA
<b>Linfografia con colorante vitale</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Blu di metilene,</li> <li>• Blu di isosulfano,</li> <li>• Blu patentato V</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Intra-operatoria previa dissezione della cute</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Non consente di evidenziare il linfocentro da valutare;</li> <li>• Linfocentro è evidente solo dopo dissezione della cute e dei tessuti peri-linfonodali</li> </ul>
<b>Linfografia radiologica indiretta</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Radiologico</li> <li>• Mezzo di contrasto (olio etiodato; ioexolo)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pre-operatoria</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Esposizione radiologica;</li> <li>• Assenza di reperi intra-operatori;</li> <li>• Possibili da lievi a modesti effetti collaterali nel sito di inoculo</li> </ul>
<b>Linfografia tomografica computerizzata</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TC</li> <li>• Mezzo di contrasto (olio etiodato; ioexolo)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pre-operatoria</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Esposizione radiologica;</li> <li>• Assenza di reperi intra-operatori;</li> <li>• Possibili effetti da lievi a modesti collaterali nel sito di inoculo;</li> <li>• Costi più elevati rispetto alla radiologia classica</li> </ul>
<b>Ultrasonografia contrastografica (CEUS)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ecografo</li> <li>• Mezzo di contrasto per ecografia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pre-operatoria</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Scelta dei linfocentri in cui verificare il raggiungimento del mezzo di contrasto su base anatomica;</li> <li>• Assenza di reperi intraoperatori</li> </ul>
<b>Fluorescenza (NIR)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colorante fluorescente (verde indocianina)</li> <li>• Sonde con telecamera per la rilevazione della fluorescenza</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Intra-operatoria a cute integra</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bassa profondità di penetrazione (&lt; 2,5 cm) con necessità di avvalersi di una tecnica pre-operatoria per la identificazione del/dei linfocentri da valutare;</li> <li>• Costi delle attrezzature elevati</li> </ul>
<b>Linfoscintigrafia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Radiofarmaco (<sup>99m</sup>Tc)</li> <li>• Gamma camera</li> <li>• Sonda gamma portatile per uso intra-operatorio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pre-operatoria</li> <li>• Intra-operatoria a cute integra</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Autorizzazione alla detenzione del radiofarmaco;</li> <li>• Radioesposizione;</li> <li>• Costi elevati della strumentazione</li> </ul>

questi effetti collaterali.<sup>4,6</sup>

## LINFOGRAFIA RADIOGRAFICA INDIRETTA E LINFOGRAFIA TOMOGRAFICA COMPUTERIZZATA

In queste tecniche, la sostanza inoculata in sede peritumorale è rappresentata da un mezzo di contrasto iodato (“olio etiodato” o “ioexolo”). In seguito all’inoculazione, il mezzo di contrasto viene drenato dal sistema

linfatico e l’acquisizione di immagini radiografiche seriali a diversi minuti di distanza permette la visualizzazione del percorso di drenaggio e quindi l’individuazione della prima stazione linfonodale drenante (Figura 2).

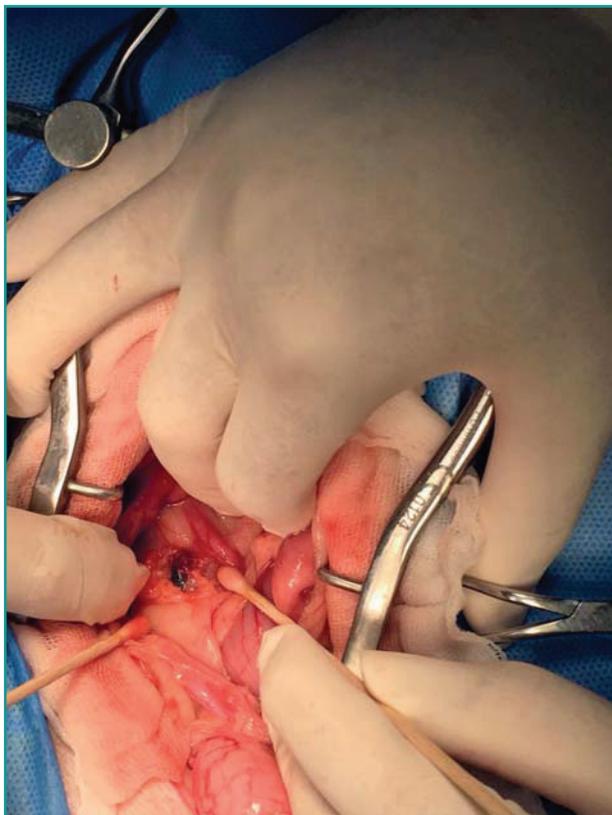
In un lavoro del 2016 la linfografia radiologica indiretta veniva eseguita su 30 cani affetti da diversi tumori, per lo più di origine cutanea, e si evidenziava un tasso di identificazione del 96,6%.<sup>17</sup> In 26 di questi, inoltre, il cane veniva sottoposto a linfadenectomia previa inoculazio-

ne del colorante vitale, ottenendo una concordanza del 84.6% tra le metodiche. In un lavoro del 2018 la linfografia TC ha permesso di identificare i SLN nel 60% dei casi con tumori di diversa localizzazione, in cui nel 22% dei casi non corrispondevano al linfonodo anatomicamente più vicino.<sup>18</sup> In un lavoro più recente la linfografia TC è stata invece eseguita per identificare SLN in cani con tumori della testa e del collo e confrontata con la linfoscintigrafia e il colorante blu.<sup>19</sup> La linfografia TC ha permesso di identificare SLN in soli 5 di 18 casi quando il mezzo di contrasto veniva inoculato in sede tumorale, ed in 11 di 20 quando il mezzo di contrasto veniva inoculato in 4 punti peritumorali. Questi tassi di identificazione rimanevano tuttavia ridotti rispetto ai 17 di 18 ottenuti con il colorante vitale, e ai 20 di 20 otte-

**Le tecniche pre-operatorie di ricerca del linfonodo sentinella consentono di identificare il linfocentro da indagare chirurgicamente, tuttavia nessuna di queste prevede una guida intraoperatoria per il chirurgo.**

nuti con linfoscintigrafia.

Un limite comune ad entrambe le metodiche è la mancanza di reperi intra-chirurgici. Se, infatti, entrambe le tecniche ci permettono di identificare il linfocentro da esplorare chirurgicamente, l'isolamento del linfonodo, o dei linfonodi, da rimuovere all'interno di quel linfocentro è dettato dalla sensibilità del chirurgo, ed in presenza di linfonodi non palpabili può esitare in un mancato ritrovamento.<sup>17</sup> Un altro limite è legato all'esposizione radiologica a cui sia il paziente sia l'operatore sono esposti durante l'acquisizione delle immagini radiografiche. A questo, tuttavia, si contrappone il vantaggio della disponibilità dell'attrezzatura a livello ambulatoriale/clinico e la semplicità di esecuzione. Va comunque segnalato che sono descritte reazioni locali quali eritema e gonfiore nel punto di incolo del mezzo di contrasto che si sono protratte anche per 10 giorni successivi alla procedura, e a cui è stato associato anche il riscontro di lieve dolore.<sup>17,18,20,21</sup>



**Figura 1** - Cane, Bassotto, femmina sterilizzata, di 9 anni. Mastocitoma cutaneo, Il grado di Patnaik - Low grade di Kiupel, regione base della coda; dimensioni 6x8 mm. Linfonodo sentinella iliaco destro (HN0 secondo la classificazione di Weishaar et al 2014<sup>32</sup>), dimensioni 10x3 mm. Tecnica di identificazione: linfoscintigrafia in associazione a blu di metilene. L'impiego di blu di metilene o di altri coloranti vitali in associazione alle tecniche di individuazione pre-operatoria e, ove possibile, intra-operatoria consente una migliore identificazione del linfonodo soprattutto quando localizzato in stretta contiguità con strutture anatomiche delicate (vasi, nervi) e la presenza di abbondante tessuto adiposo agevolando la dissezione dai tessuti circostanti e facilitandone la rimozione. I coloranti vitali utilizzati per l'identificazione dei linfonodi non interferiscono con i successivi processi di valutazione istopatologica.

## ULTRASONOGRAFIA CONTRASTOGRAFICA (CEUS)

Il solo studio ecografico classico non è in grado di identificare i vasi linfatici afferenti e quindi non permette l'identificazione dei SLNs. Per ovviare a questo limite, si ricorre all'utilizzo di un mezzo di contrasto costituito da microbolle gassose rivestite da una membrana fosfolipidica (tecnica CEUS). Come per le altre metodiche, il mezzo di contrasto viene inoculato in sede peritumorale e, quindi, drenato dal sistema linfatico, permette di identificare le stazioni linfonodali drenanti.

Il CEUS ha evidenziato un tasso di identificazione del SLN variabile dal 91,3% al 95,5% in pazienti sani,<sup>22,23</sup> mentre in un altro lavoro ha permesso di identificare il SLN in 8 di 10 cani con tumori della testa e del collo.<sup>24</sup> Recentemente il CEUS è stato testato per la ricerca dei SLN in cani affetti da MCT ottenendo un tasso di identificazione nel 95% dei casi, di cui solo la metà corrispondevano al linfonodo riconosciuto come drenante dalla sola valutazione clinica basata sui territori linfatici (linfosomi) citati nel lavoro di Suami e colleghi del 2013.<sup>25,26</sup> Inoltre, circa la metà dei soggetti inclusi veniva sottoposta a valutazione istopatologica e si osservava la presenza di metastasi linfonodale nel 60% di questi.

Il CEUS sembra avere inoltre la capacità di fermarsi al primo linfonodo e di avere solo un minimo *spill-over* ver-



**Figura 2** - Cane, Meticcio, maschio intero di 9 anni. Melanoma amelanotico cavità orale - vestibolo labiale sinistro 20x30 mm. Linfonodo sentinella: linfonodo mandibolare, dimensioni 10x4 mm. Metastasi linfonodali accertate con esame istologico. Tecnica di identificazione: linfografia indiretta con Tomografia Computerizzata Melanoma del cavo orale (freccia rossa). Vasi linfatici (teste di freccia gialle). Linfonodo sentinella mandibolare sinistro (\*).

so il secondo livello linfonodale. Tuttavia, la tecnica presenta il limite che, anche in questo caso la sede, o le sedi, da esplorare con la sonda per accertare l'avvenuto o meno drenaggio del contrasto sono scelte a priori, in quanto seguire il vaso linfatico dal tumore al linfonodo comporterebbe una tricotomia estensiva.<sup>26</sup> Inoltre, anche questa tecnica rimane una procedura pre-operatoria che presenta il limite di non aggiungere un repere che possa aiutare il chirurgo durante la dissezione e l'isolamento dei linfonodi risultati drenanti, pertanto potrebbe non consentire la rimozione di quei linfonodi non visibili ad occhio nudo ed eventualmente presenti nel medesimo linfocentro.



**Figura 3** - Cane, Setter Inglese, femmina sterilizzata, 11 anni. Mastocitoma cutaneo, Il grado di Patnaik - Low grade Kiupel, regione ventrale/ sinistra del collo; dimensioni 7,2x7,9 mm. Linfonodo sentinella: linfonodo prescapolare di sinistra (HN2 secondo la classificazione di Weishaar et al. 2014<sup>32</sup>); dimensioni 8x12 mm. L'immagine ottenuta con camera dedicata è in grado di rilevare la fluorescenza, e permette di identificare la migrazione della sostanza fluorescente (verde indocianina, altrimenti non visibile ad occhio nudo), iniettata nelle porzioni peritumorali, nel rispettivo linfonodo sentinella. Le sostanze fluorescenti impiegate per la ricerca del linfonodo sentinella non interferiscono con i successivi processi di valutazione istopatologica.

### TOMOGRAFIA AD EMISSIONE DI FOTONE SINGOLO - SPECT (SINGLE PHOTON EMISSION COMPUTED TOMOGRAPHY)

Sebbene in ambito veterinario sia ancora solo descritta, un'altra tecnica diagnostica di medicina nucleare è rappresentata dalla SPECT.

La rilevazione delle radiazioni  $\gamma$  emesse dal radiofarmaco avviene mediante un tomografo che è composto, generalmente, da 2/3 gamma-camere disposte ad angolazioni variabili che ruotano attorno ad un gantry. Per realizzare l'esame vengono acquisite diverse immagini da angolazioni differenti dalle gamma-camere che ruotano attorno al paziente. Ad ognuno di questi punti corrispondono delle proiezioni planari dell'attività dei raggi  $\gamma$  emessi dal paziente. I dati sono successivamente elaborati attraverso appositi software di ricostruzione 3D in modo tale da ottenere delle immagini tomografiche che mostrano l'attività del radiofarmaco nel sito d'interesse.

### FLUORESCENZA (NEAR-INFRARED IMAGING - NIR)

In medicina umana l'utilizzo di questa tecnica è stato via via incrementato in quanto permette la visualizzazione diretta intraoperatoria dei vasi linfatici ed il riconoscimento dei SLNs in strutture in cui la medicina nucleare, quindi la linfoscintigrafia, è assente. Questo grazie anche al fatto che sono riportati tassi di identificazione dei SLNs sovrapponibili alla tecnica linfoscintigrafica.

Sono disponibili diverse sonde e diversi coloranti fluorescenti. Quello più utilizzato in umana e testato, anche se limitato a pochi studi, in medicina veterinaria è il verde indocianina (ICG). La soluzione di ICG viene come sempre inoculata in sede peritumorale; successi-

vamente, tramite la sonda che emette luce con frequenza vicina agli infrarossi (pari a 780 nm), viene permessa la visualizzazione transcutanea del tracciante all'interno dei vasi e infine nel linfonodo sentinella. (Figura 3) In medicina umana è riportato in molti studi un maggiore numero di linfonodi identificati dal NIR rispetto alla linfoscintigrafia, probabilmente questo è dovuto alle dimensioni più ridotte delle particelle del NIR che possono andare ad evidenziare anche il secondo livello di linfonodi drenanti.

**Le tecniche intra-operatorie di ricerca del linfonodo sentinella consentono di identificare e rimuovere linfonodi sentinella multipli inclusi nel linfocentro identificato con la tecnica pre-operatoria.**

L'utilizzo del NIR è stato testato in 6 cani sani con inoculazione gengivale mascellare. L'ICG è stato correttamente evidenziato per via transcutanea a livello di linfonodi mandibolari ipsilaterali nell'arco di pochi minuti dall'inoculazione.<sup>27</sup> In un lavoro successivo il NIR veniva testato in cani sani prendendo in considerazione la somministrazione a livello mammario e a livello digitale.<sup>23</sup> In questo lavoro si otteneva la visualizzazione del SLN in 17 di 18 casi con un intervallo di identificazione da 2 a 25 minuti post-inoculazione e una permanenza del segnale fluorescente nel linfonodo per oltre 2 ore. L'utilizzo del NIR, sia in questi pochi studi focalizzati sulla ricerca del linfonodo sentinella, sia nei lavori di medicina veterinaria dove viene sfruttata la fluorescenza per la delimitazione tumorale ai fini dell'escissione completa, non ha riportato effetti collaterali.<sup>23,27</sup> Lo svantaggio dell'uso del NIR include la bassa profondità di penetrazione che rende impossibile evidenziare la fluorescenza oltre pochi centimetri (generalmente non oltre i 2,5 cm con segnale che si riduce man mano che ci si approfondisce).<sup>27</sup> Considerando questo limite, è opinione degli autori ritenere il NIR come una tecnica intraoperatoria che agevoli il riconoscimento e la rimozione dei SLN, che debba però essere preceduta da una valutazione preoperatoria che permetta la corretta individuazione del linfocentro da analizzare, in modo da consentire l'analisi anche per linfocentri non superficiali (es. linfocentro iliaco o linfonodi superficiali in cani di grossa taglia ed obesi).  
Va inoltre ricordato che, seppur questa tecnica non esponga a radiazioni né il paziente né il personale medico, il costo della strumentazione necessaria a rilevare la fluorescenza è da considerarsi rilevante.

## LINFOSCINTIGRAFIA PLANARE

L'indagine linfoscintigrafica prevede una fase pre-operatoria per la definizione topografica del linfonodo sen-

tinella grazie alla linfoscintigrafia planare, e una fase intra-operatoria che prevede la ricerca del SLN tramite sonda gamma camera che rileva la radioattività emessa dal radiofarmaco drenato e concentrato all'interno della stazione linfonodale. Il radioisotopo più comunemente utilizzato come tracciante è il Tecnezio-99m (<sup>99m</sup>Tc). Questo radioisotopo può essere inoculato come radiofarmaco quando viene coniugato in una soluzione con solfuro colloide, nanoalbumine sieriche umane o destrano. Queste molecole si caratterizzano per una diversa grandezza: più le molecole sono di dimensioni ridotte più il radiofarmaco è libero di fluire all'interno del circolo linfatico, più sono grandi più il circolo è rallentato. In medicina umana vengono normalmente preferite particelle di medie dimensioni che misurano dai 10 ai 50-80 nm. Tali dimensioni sono considerate "ideali", perché consentono di raggiungere in tempi ridotti la prima stazione linfonodale limitando uno *spill over* che possa erroneamente mappare il secondo o terzo livello di linfonodi drenanti.

Il radiofarmaco viene inoculato in sede peritumorale quindi vengono acquisite immagini attraverso l'uso di una gamma-camera che registra l'up-take del radiofarmaco dapprima nel letto linfatico e, quindi, alla prima stazione linfonodale. Il SLN appare come un "hot spot", cioè una zona che presenta un consistente aumento della concentrazione del radiofarmaco.

La linfoscintigrafia planare (Figura 4) consente quindi di ottenere indicazioni topografiche indicando il SLN, ma non è in grado di identificare all'interno di questo quanti e quali linfonodi siano effettivamente il/i linfonodo/i sentinella. In questo gioca un ruolo fondamentale la fase intra-operatoria con la sonda gamma (Video 2) non prevista per le altre tecniche di ricerca del linfonodo sentinella qui descritte. Infatti, questa non solo conferma il linfocentro andando a identificare una conta elevata (eventualmente associata a segnale sonoro) nel punto di repere cutaneo del linfocentro, ma permette di gui-



### Video 2:

**Cane, Golden Retriever, maschio di 5 anni con mastocitoma cutaneo (Il grado di Patnaik - Low grade di Kiupel) in regione toraco-addominale sinistra; dimensione 10 mm. Linfonodo atteso<sup>25</sup>: ascellare accessorio. Identificati nel linfocentro ascellare accessorio due linfonodi (entrambi HNO secondo**

**la classificazione di Weishaar et al. 2014<sup>32</sup>): dimensioni 12x4 mm e 8x3 mm. Tecnica di identificazione: linfoscintigrafia in associazione a blu di metilene. L'applicazione della sonda gamma portatile consente, in sede intraoperatoria, di rilevare la captazione del tracciante radioattivo (tramite segnale sonoro) ed identificare il punto esatto in cui il chirurgo deve incidere la cute per esplorare e aggredire il linfonodo del linfocentro.**

<https://www.scivac.it/it/v/21317/2>



**Figura 4** - La gamma camera consente nella linfo-scintigrafia di individuare il percorso di migrazione del tracciante radioattivo iniettato nei tessuti peritumorali verso il corrispettivo linfocentro. La gamma camera pertanto individua come prima stazione il o i linfocentri, ma non è mai in grado di predire il numero dei linfonodi in esso contenuti che il chirurgo dovrà individuare e rimuovere grazie all'ausilio della sonda gamma (Figura 5) nella fase intraoperatoria.

dare la dissezione e di individuare quanti linfonodi all'interno di quel linfocentro abbiano concentrato il radiofarmaco. Infatti, dopo la rimozione del primo linfonodo, il controllo con sonda del campo chirurgico permette di rilevare eventuali stazioni sentinella aggiuntive con conta superiore al 10% rispetto a quella del primo linfonodo, procedendo così fino a quando la conta di radioattività non sia nulla o comunque al di sotto del 10% (background) della conta maggiore (Figura 5).<sup>4</sup> Nel 2002, un primo studio condotto su cani affetti da diverse neoplasie ha confrontato i tassi di rilevazione del SLN utilizzando solo la linfo-scintigrafia planare o solo la metodica con colorante vitale: la tecnica scintigrafica ha rilevato nell'89% (31/35) dei casi il SLN, mentre il colorante blu presentava un tasso di identificazione del 77% (27/35).<sup>14</sup> Un ultimo studio pubblicato nel 2020 sui tumori della testa del cane ha invece riportato un tasso di rilevazione del SLN pari al 100%.<sup>19</sup> La combinazione di linfo-scintigrafia planare preoperatoria e somministrazione intraoperatoria di colorante vitale ha mostrato una buona sensibilità nell'identificare il SLN in 19 cani con mastocitoma: l'esame scintigrafico ha identificato il



**Figura 5** - Cane, Meticcio, femmina sterilizzata di 10 anni. Mastocitoma sottocutaneo, Il grado di Patnaik - Low grade di Kiupel; III - IV mammella sinistra; dimensione 30 mm. Linfonodo sentinella inguinale sinistro (HN3 secondo la classificazione di Weishaar et al. 2014<sup>32</sup>); dimensioni 3 x 5 mm. Tecnica di identificazione: linfo-scintigrafia in associazione a blu di metilene. Il linfonodo sentinella talvolta ha dimensioni tali da risultare molto difficile la sua localizzazione e la sua individuazione soprattutto in zone particolarmente ricche di tessuto adiposo (inguine, ascella, spazio retroperitoneale). L'utilizzo di tecniche di identificazione intraoperatoria unitamente all'utilizzo di coloranti vitali come il blu di metilene possono agevolare la individuazione e la rimozione. Le dimensioni del linfonodo sentinella non si correlano al grado di coinvolgimento neoplastico metastatico. Nella fotografia è possibile riconoscere la sonda gamma utilizzata nella fase intraoperatoria dal chirurgo.

95% (18/19) di SLN.<sup>6</sup> Sempre con combinazione di linfo-scintigrafia e colorante vitale, un altro studio ha permesso di ottenere un tasso di identificazione del 91% in cani affetti da mastocitoma cutaneo.<sup>4</sup> In questo lavoro, soltanto in 3 cani non si identificava il SLN, tutti accumulati da una precedente chirurgia nella sede del tumore primitivo o lungo il drenaggio linfatico. Questo trova in parte conferma in medicina umana dove è effettivamente descritta una riduzione dell'efficacia di rilevamento del SLN in presenza di alterazioni del circolo linfatico successive a precedenti chirurgie con presenza di rimaneggiamento tissutale. Nessuno di questi studi riporta effetti collaterali locali o sistemici legati alla procedura linfo-scintigrafica.

Tale tecnica presenta una forte limitazione in campo veterinario, dettata dalla necessità di autorizzazione alla detenzione del radiofarmaco e dai costi della strumentazione necessaria per procedere sia nella fase pre-operatoria sia intra-operatoria. Inoltre, si aggiunge la neces-

**Il solo riferimento anatomico non permette di riconoscere con certezza il drenaggio linfatico del tumore in esame e a prevedere il numero di linfonodi presenti in un dato linfocentro.**

sità di formare il personale sull'uso corretto e sicuro del radiofarmaco come anche sulla corretta gestione del paziente e dei campioni sottoposti a tale procedura, sebbene il dosaggio delle radiazioni sia comunque ridotto tanto che non si necessita dell'utilizzo di camici protettivi durante la procedura chirurgica.<sup>28</sup>

**La mappatura del linfonodo sentinella consente di eseguire una stadiazione personalizzata del paziente sia in termini di linfocentro da indagare, che di numero di linfonodi da rimuovere.**

### PERCHÉ RICERCARE IL LINFONODO SENTINELLA IN MEDICINA VETERINARIA?

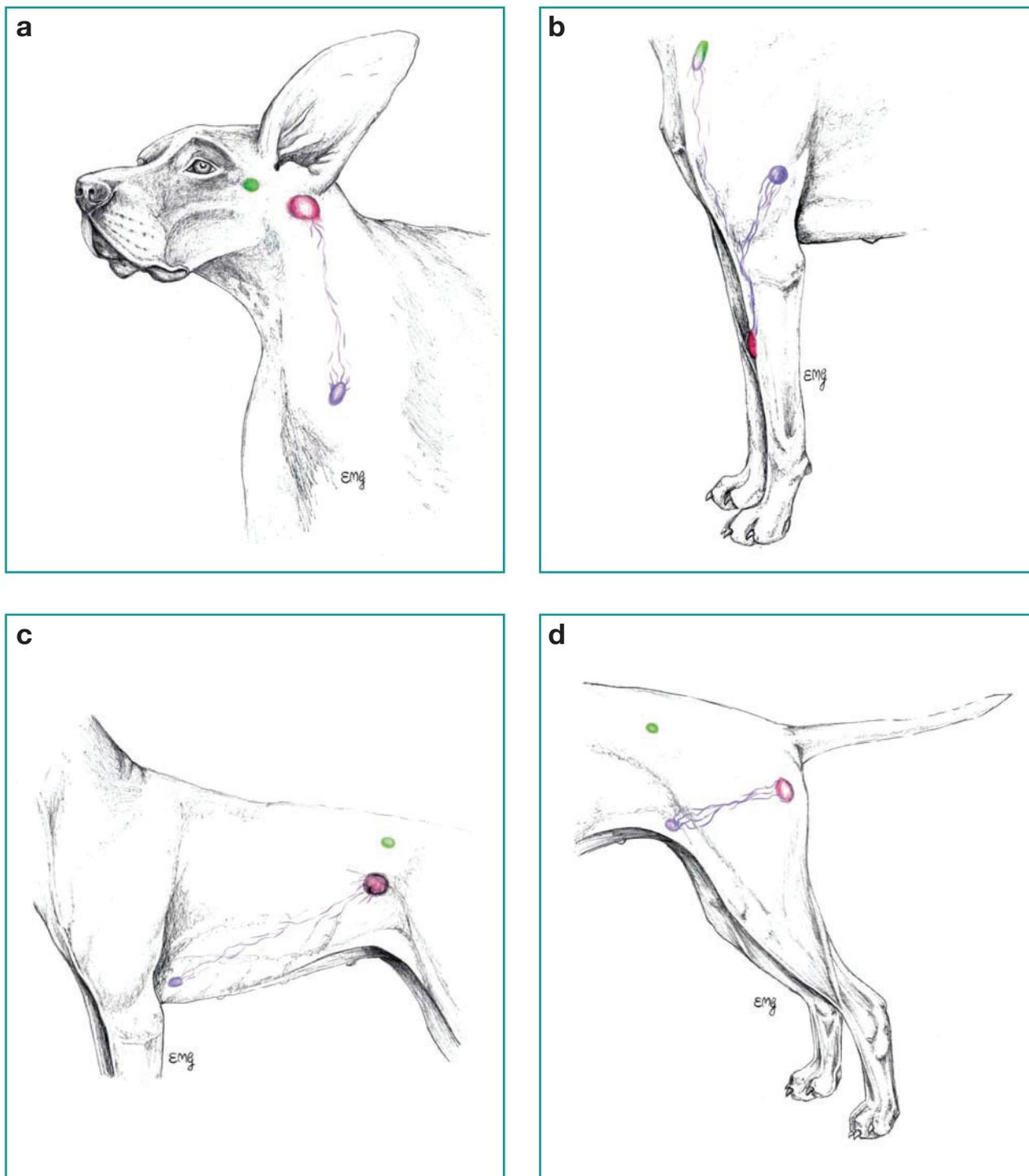
Il ricorso a tecniche di diagnostica per immagini per la ricerca del linfonodo sentinella non è di pronta disponibilità nella pratica clinica delle strutture veterinarie (nazionali e internazionali), sia per i costi della tecnologia, sia per la disponibilità delle competenze radiologiche e chirurgiche necessarie alla loro gestione. L'assenza di tecnologia e /o di competenze non può tuttavia essere mutuata con una ricerca del SLN avvalendosi dei soli riferimenti di anatomia topografica proposti da Suami e colleghi.<sup>25</sup> Infatti, sebbene il suo lavoro possa essere una guida anatomica per suggerire al chirurgo il drenaggio linfatico delle differenti regioni del corpo del cane, il modello anatomico proposto dallo studio presenta forti limiti quando applicato al singolo individuo che ci troviamo a gestire in sala operatoria. In primis, lo studio cadaverico include solo 4 cani femmina di razza meticcica (presumibilmente sani o comunque non affetti da malattia oncologica) e peso tra i 23 e i 30 kg, limitando quindi sia per numerosità, sia per diversa conformazione anatomica del cane, una possibile riproducibilità in tutte le razze e taglie con cui il medico veterinario si confronta nella pratica clinica. Inoltre, le aree di drenaggio (infosomi) vengono riportate su un modello animale senza indicare gli esatti reperi dei confini dei singoli distretti, lasciando quindi all'interpretazione del chirurgo a quale drenaggio linfatico rifarsi per la rimozione del linfonodo drenante (Figura 6 a, b, c, d). A questo si aggiunge anche la necessità di ricercare il SLN con metodiche di mappatura sul singolo soggetto in seguito al riscontro, sempre più evidente, di drenaggi linfatici imprevedibili in corso di malattia oncologica del cane. Ad oggi studi clinici nella specie felina risultano assenti, anche se si ipotizza che possa valere anche per il gatto quanto descritto nel cane.

Nel 2003, un lavoro che confrontava il drenaggio linfatico della ghiandola mammaria in cani sani ed in cani affetti da neoplasia evidenziava come nel secondo caso fos-

sero presenti un numero maggiore di anastomosi dei vasi linfatici e un incremento di anastomosi con i vasi della linea controlaterale.<sup>29</sup> Lo stesso gruppo di lavoro nel 2008 ha effettuato uno studio su 25 cani sani in cui è stata eseguita linfo-scintigrafia con inoculazione intramammaria del radiofarmaco.<sup>30</sup> Sebbene lo scopo dello studio fosse quello di validare la tecnica linfo-scintigrafica nel cane, i risultati associati hanno dimostrato come ci possa essere una variabilità individuale di drenaggio linfatico anche tra pazienti sani, sottolineando la necessità di una caratterizzazione individuale del drenaggio linfatico al fine di individuare correttamente i linfonodi drenanti. Un'altra regione anatomica molto complessa e per questo discussa in termini di drenaggio linfatico è rappresentata dalla regione della testa e del collo.<sup>5,19</sup> Uno studio del 2017 che includeva 31 cani con tumori della testa in cui veniva eseguita una linfoadenectomia bilaterale delle stazioni mandibolari e retrofaringea, evidenziava come fosse possibile l'interessamento di linfonodi controlaterali rispetto alla localizzazione tumorale, suggerendo quindi un approccio chirurgico con linfoadenectomie multiple in presenza di tumori della testa al fine di permetterne uno staging accurato. Nonostante le complicità riportate siano minori e infrequenti, il rapporto costo/beneficio in termini di risultato oncologico non è completamente chiarito.<sup>5,31</sup> Riferendoci invece all'intero organismo, due sono gli studi che analizzando l'utilizzo della linfo-scintigrafia in corso di mastocitoma cutaneo e sottocutaneo canino hanno evidenziato la discordanza tra linfonodo sentinella e linfonodo regionale. Il primo studio, del 2014, riportava come nella metà dei cani inclusi il linfonodo sentinella differiva dal linfonodo anatomicamente più vicino al tumore.<sup>6</sup>

Nel 2020 lo studio proposto dagli autori che considerava 30 cani con mastocitomi cutanei e sottocutanei sottoposti a mappatura del linfonodo sentinella con linfo-scintigrafia e colorante vitale, ha evidenziato come la corrispondenza della stazione linfonodale del sentinella con il linfonodo regionale risultava soltanto nel 37% del campione.<sup>4</sup>

Questo ad indicare che nel rimanente 63% dei tumori, la rimozione del linfonodo regionale avrebbe portato ad un possibile down-staging in quanto non sarebbe stata rimossa la stazione linfonodale drenante oppure, in presenza di una corrispondenza solo parziale in cui il tumore drenava a più stazioni linfonodali contemporaneamente, non sarebbe stata analizzata un'altra possibile sede di metastasi. Inoltre, il lavoro riporta come sia stata riscontrata una variabilità del numero di linfonodi per stazione linfonodale e come la ricerca linfo-scintigrafica intraoperatoria permetta di identificare il corretto numero di linfonodi da rimuovere creando una mappatura individuale, anche qualora la stazione del SLN corrisponda a quella del regionale (Video 3).



**Figura 6** - (a,b,c,d): esempi di clinici osservati nell'attività clinica, rappresentati graficamente, per descrivere che durante la fase pre-operatoria di ricerca del linfonodo sentinella con linfo-scintigrafia, in taluni casi il linfonodo sentinella atteso secondo lo studio di Suami et al. 2013<sup>25</sup> (colore verde) non coincide con il linfonodo sentinella rilevato (colore viola) o coincide parzialmente (colore verde e viola).

**Figura 6a:** Mastocitoma cutaneo regione parotidea sinistra, Il grado Patnaik - Low grade di Kiupel. Linfonodo atteso<sup>25</sup> parotideo sinistro. Linfonodo sentinella prescapolare (HN2- secondo la classificazione di Weishaar et al. 2014<sup>32</sup>).

**Figura 6b:** Mastocitoma cutaneo regione volare dell'avambraccio sinistro, Il grado di Patnaik - Low grade di Kiupel. Linfonodo atteso<sup>25</sup>: prescapolare sinistro. Linfonodo sentinella prescapolare sinistro (colore verde e viola) e linfonodo ascellare sinistro (tutti HN2- secondo la classificazione di Weishaar et al. 2014<sup>32</sup>).

**Figura 6c:** Mastocitoma cutaneo regione del fianco sinistro, Il grado di Patnaik - Low grade di Kiupel. Linfonodo atteso<sup>25</sup>: iliaco medio sinistro. Linfonodo sentinella ascellare accessorio sinistro (colore viola), (HN0- secondo la classificazione di Weishaar et al. 2014<sup>32</sup>).

**Figura 6d:** Mastocitoma cutaneo regione della coscia prossimale e posteriore sinistra, Il grado di Patnaik - Low grade di Kiupel. Linfonodo atteso<sup>25</sup>: iliaco medio sinistro. Linfonodo sentinella inguinale sinistro (colore viola) (HN2- secondo la classificazione di Weishaar et al. 2014<sup>32</sup>).



**Video 3:**  
Cane, Golden Retriever, maschio di 5 anni con mastocitoma cutaneo (Il grado di Patnaik - Low grade di Kiupel) in regione toraco-addominale sinistra; dimensione 10 mm. Linfonodo atteso<sup>28</sup>; ascellare accessorio. Tecnica di identificazione: linfo-scintigrafia in associazione a blu di metilene.

Il linfocentro identificato con gamma camera in fase preoperatoria e confermato con sonda gamma portatile (Figura 5) è quello ascellare accessorio che ha permesso di rimuovere due linfonodi: (entrambi HN0 secondo la classificazione di Weishaar et al. 2014<sup>32</sup>): dimensioni 12x4 mm e 8x3 mm. Il video mostra come solo uno dei 2 linfonodi rimossi sia il vero sentinella (segnale sonoro presente). Nel caso specifico il primo linfonodo rimosso è stato quello con segnale sonoro negativo. Il successivo riposizionamento della gamma portatile ha permesso di rimuovere il secondo linfonodo (segnale sonoro presente) altrimenti non visibile ad occhio nudo dal chirurgo.  
<https://www.scivac.it/it/v/21317/3>

**Studi futuri si dovranno concentrare sul confronto tra metodiche diverse e sul ruolo prognostico e terapeutico della ricerca e rimozione del/dei linfonodi sentinella.**

## ESPERIENZA IN CAMPO DELL'OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO - STATALE DI MILANO

Il SLN è sicuramente una delle nuove sfide della chirurgia oncologica veterinaria e la letteratura sull'argomento propone diverse reviews che descrivono le molteplici tecniche di mappatura. Sono invece ancora numericamente pochi i lavori scientifici dedicati alla descrizione dei risultati dell'applicazione di tali tecniche nella routine chirurgica del cane, e ancora meno studi che comparino le diverse tecniche sulla medesima popolazione.<sup>4,6,17,18,19,16</sup>

Tali studi scendono oltretutto numericamente a zero quando ci si sposta nella specie felina. È opinione degli autori che la ricerca con tecniche preoperatorie del SLN rappresenti oggi un valore aggiunto importante e innovativo per l'oncologia chirurgica, ma ritengono anche che sia strategico e, nel prossimo futuro, indispensabile associare strumenti di mappatura intraoperatorie che possano guidare il chirurgo nella dissezione accurata del o dei SLNs. Data la paucità di casistica, riteniamo possa essere utile condividere i risultati maturati dal 2017 ad oggi presso l'Ospedale Veterinario Universitario - Statale di Milano, frutto della sinergia tra il servi-

zio di medicina nucleare e il servizio di oncologia che, a partire dal 2017, hanno implementato la strumentazione chirurgica avvalendosi di una sonda gamma portatile iniziando quindi la ricerca del SLN tramite tecnica linfo-scintigrafica pre- ed intra-operatoria in pazienti canini affetti da mastocitoma cutaneo e sottocutaneo. La scelta di applicare tale metodica in questo istotipo nasceva principalmente tra 3 aspetti: 1. Numerosità del campione di afferenza; 2. Presenza di un lavoro precedente in letteratura che ne sosteneva l'utilizzo clinico; 3. Studi precedenti del gruppo di ricerca che sottolineavano la presenza di malattia metastatica in linfonodi non clinicamente alterati.

Ad oggi i cani sottoposti a linfo-scintigrafia per la ricerca del linfonodo sentinella sono 54, per un totale di 75 mastocitomi sottocutanei o cutanei low-grade trattati, e 109 SLNs rimossi. Di questi, 10 sono risultati linfonodi con metastasi conclamate (HN3 secondo Weishaar et al., 2014<sup>32</sup>), mentre 42 sono risultati linfonodi con metastasi precoci (HN2 secondo Weishaar et al., 2014<sup>32</sup>). In 45 casi (83%) il linfocentro del SLN differiva da quello considerato regionale alla valutazione clinica.

In questi 3 anni tale metodica è stata inoltre applicata in 23 cani con tumori della testa e del collo. In questo caso il tasso di identificazione è stato dell'83%, e i casi di insuccesso sono tutti accumulati dalla localizzazione tiroidea del tumore. Rimane comunque confermata l'utilità della mappatura del SLN, in quanto nel 63% dei casi questo differiva dal linfonodo regionale.

I risultati qui riportati dimostrano come nel 60-80% dei casi il SLN differiva per sede dalla presunta stazione linfonodale del linfonodo regionale identificata su base anatomica e clinica, confermando ulteriormente la necessità di una mappatura pre-chirurgica con tecniche di diagnostica per immagini in aggiunta o meno all'utilizzo di coloranti vitali, ancor meglio se accompagnata da tecniche intraoperatorie in supporto all'atto chirurgico che possano confermare la rimozione di tutti i SLNs inclusi nel linfocentro selezionato.

Dal punto di vista chirurgico la linfoadenectomia dei SLN ha riportato un tasso di complicanze ridotto (<5%) con complicanze minori autolimitanti (es. sieroma) comuni alla linfoadenectomia regionale.<sup>5</sup>

## RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia la Dr.ssa Lavinia Elena Chiti e la Dr.ssa Martina Manfredi, che con la loro Tesi di Dottorato di Ricerca hanno cooperato allo studio e allo sviluppo delle tecniche di ricerca del linfonodo sentinella pre-operatoria e intra-operatoria. Si ringrazia la Dr.ssa Elisa Maria Gariboldi per aver realizzato le tavole grafiche.

## PUNTI CHIAVE

- La rimozione del/dei SLNs, utilizzando le tecniche disponibili in ciascun contesto lavorativo, consci dei limiti che ogni tecnica riserva, deve essere inclusa nella chirurgia oncologica di quei tumori in cui le metastasi linfonodali modificano la prognosi e l'approccio terapeutico adiuvante.
- I tumori scelgono in modo selettivo la o le stazioni linfonodali a cui dare metastasi e in letteratura è ormai riportato che in più del 50% dei casi queste non sono prevedibili con i soli riferimenti anatomici.
- I reperi anatomici che identificano specifiche aree di drenaggio linfatico (infosomi) non assicurano di indentificare il SLN e all'interno del medesimo linfocentro non garantiscono la rimozione di tutti i linfonodi potenzialmente interessati.
- Le tecniche di ricerca del SLN che prevedono sia una identificazione preoperatoria sia intraoperatoria consentono di eseguire una stadiazione calibrata sul singolo paziente.
- L'identificazione prechirurgica e intraoperatoria hanno il compito di guidare la rimozione dei linfonodi potenzialmente esposti al processo metastatico. Sarà l'esame istopatologico sul linfonodo escisso a diagnosticare la presenza o assenza di metastasi.
- Il ruolo prognostico, ed eventualmente terapeutico, della rimozione del SLN dovrà essere valutato in studi futuri concentrati sul singolo istotipo.

## The sentinel lymph node: how and why. The new challenge in veterinary surgical oncology

### Summary

*In the last decade, an increasing interest arose in the evaluation and role of nodal metastasis in canine neoplastic disease. Firstly, many papers focused on the early detection of metastasis in clinically normal regional lymph nodes; then a question arose about the possibility that the regional lymph node could not correspond to the first draining lymph node. To answer this question, some authors began to focus on mapping sentinel lymph nodes based on the human medicine experience. The present review collects the methods tested in veterinary medicine for the identification of sentinel lymph nodes, reporting pro and cons for each technique, and also discusses why oncologic surgeons should be committed to the identification and biopsy of sentinel lymph nodes.*

## BIBLIOGRAFIA

1. Stefanello D, Buracco P, Sabattini S, *et al.* Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors: 386 cases (2009-2014). *Journal of American Veterinary Medical Association* 246:765-769, 2015.
2. Ferrari R, Marconato L, Buracco P, *et al.* The impact of extirpation of non-palpable/normal-sized regional lymph nodes on staging of canine cutaneous mast cell tumours: A multicentric retrospective study. *Veterinary and Comparative Oncology* 16:505-510, 2018.
3. Marconato L, Polton G, Stefanello D, *et al.* Therapeutic impact of regional lymphadenectomy in canine stage II cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology* 16:580-589, 2018.
4. Ferrari R, Chiti LE, Manfredi M, *et al.* Biopsy of sentinel lymph nodes after injection of methylene blue and lymphoscintigraphy guidance in 30 dogs with mast cell tumors. *Veterinary Surgery* 49:1099-1108, 2020.
5. Congiusta M, Lawrence J, Rendahl A, *et al.* Variability in Recommendations for Cervical Lymph Node Pathology for Staging of Canine Oral Neoplasia: A Survey Study. *Frontiers in Veterinary Science* 7:506 doi: 10.3389/fvets.2020.00506, 2020.
6. Worley DR. Incorporation of sentinel lymph node mapping in dogs with mast cell tumours: 20 consecutive procedures. *Veterinary Comparative Oncology* 12:215-26, 2014.
7. Gould EA, Winship T, Philbin PH, *et al.* Observations on a «sentinel node» in cancer of the parotid. *Cancer* 13:77-78, 1960.
8. Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 39:456-466, 1977.
9. Morton DL, Wen DR, Wong JH, *et al.* Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Archives of Surgery* 127:392-399, 1992.
10. Alex JC, Krag DN. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. *Surgical Oncology* 2:137-43, 1993.
11. Krag DN, Weaver DL, Alex JC, *et al.* Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surgical Oncology* 2:335-339, 1993.
12. Albertini JJ, Lyman GH, Cox C, *et al.* Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. *Journal of the American Medical Association* 276:1818-1822, 1996.
13. Moncayo VM, Alazraki AL, Alazraki NP, *et al.* Sentinel Lymph Node

- Biopsy Procedures. *Seminars in Nuclear Medicine* 47:595-617, 2017.
14. Balogh L, Thuróczy J, Andócs G, *et al.* Sentinel lymph node detection in canine oncological patients. *Nuclear Medicine Review* 5:139-144, 2002.
  15. Aquino JU, Porto Pinheiro LG, Vasques PH, *et al.* Experimental canine model for sentinel lymph node biopsy in the vulva using technetium and patent blue dye. *Acta Cirúrgica Brasileira* 27:102-108, 2012.
  16. Beserra HEO, Grandi F, Dufloth RM, *et al.* Metastasis of mammary carcinoma in bitches: evaluation of the sentinel lymph node technique. *Advances in Breast Cancer Research* 5:58-65, 2016.
  17. Brissot HN, Ederly EG. Use of indirect lymphography to identify sentinel lymph node in dogs: a pilot study in 30 tumors. *Veterinary and Comparative Oncology* 15:740-753, 2016.
  18. Rossi F, Korner M, Suárez J, *et al.* Computed tomographic-lymphography as a complementary technique for lymph node staging in dogs with malignant tumors in various sites. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 59:155-162, 2018.
  19. Randall EK, Jones MD, Kraft SL, *et al.* The development of an indirect CT lymphography protocol for sentinel lymph node detection in head and neck cancer and comparison to other sentinel lymph node mapping techniques. *Veterinary and Comparative Oncology* doi: 10.1111/vco.12585, 2020.
  20. Mayer MN, Silver TI, Lowe CK, *et al.* Radiographic lymphangiography in the dog using iodized oil. *Veterinary and Comparative Oncology* 11:151-161, 2012.
  21. Patsikas MN, Karayannopoulou M, Kaldrymidoy E, *et al.* The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: a lymphographic study. *Anatomy, Histology and Embryology* 35:228-234, 2006.
  22. Wang Y, Cheng Z, Li J *et al.* Grey-scale contrast-enhanced ultrasonography in detecting sentinel lymph nodes: An animal study. *European Journal of Radiology* 74:55-59, 2010.
  23. Favril S, Stock E, Hernot S, *et al.* Sentinel lymph node mapping by near-infrared fluorescence imaging and contrast-enhanced ultrasound in healthy dogs. *Veterinary and Comparative Oncology* 17:89-98, 2019.
  24. Lurie DM, Seguin B, Schneider PD, *et al.* Contrast-assisted ultrasound for sentinel lymph node detection in spontaneously arising canine head and neck tumors. *Investigative Radiology* 41:415-21, 2006.
  25. Suami H, Yamashita S, Soto-Miranda MA, *et al.* Lymphatic territories (Lymphosomes) in a canine: An animal model for investigation of post-operative lymphatic alterations. *PLoS ONE* 8:e69222, 2013.
  26. Fournier Q, Thierry F, Longo M, *et al.* Contrast-enhanced ultrasound for sentinel lymph node mapping in the routine staging of canine mast cell tumours: a feasibility study. *Veterinary and Comparative Oncology* doi: 10.1111/vco.12647, 2020.
  27. Townsend KL, Milovancev M, Bracha S. Feasibility of near-infrared fluorescence imaging for sentinel lymph node evaluation of the oral cavity in health dogs. *American Journal of Veterinary Research* 79:995-1000, 2018.
  28. Beer P, Pozzi A, Bley RC, *et al.* The role of sentinel lymph node mapping in small animal veterinary medicine: a comparison with current approach in human medicine. *Veterinary and Comparative Oncology* 16:178-187, 2018.
  29. Pereira CT, Rahal SC, de Carvalho Balieiro JC, *et al.* Lymphatic drainage on healthy and neoplastic mammary glands in female dogs: can it really be altered? *Anatomia, histologia, embryologia* 32:282-90, 2003.
  30. Pereira CT, Luiz Navarro Marques F, Williams J, *et al.* 99mTc-labeled dextran for mammary lymphoscintigraphy in dogs. *Veterinary and Radiology Ultrasound* 49:487-91, 2008.
  31. Skinner OT, Boston SE, Souza CHM. Patterns of lymph node metastasis identified following bilateral mandibular and medial retropharyngeal lymphadenectomy in 31 dogs with malignancies of the head. *Veterinary and Comparative Oncology* 15:881-889, 2017.
  32. Weishaar KM, Thamm DH, Worley DR, *et al.* Correlation of nodal mast cells with clinical outcome in dogs with mast cell tumour and a proposed classification system for the evaluation of node metastasis. *Journal of Comparative Pathology*. 151:329-338, 2014.

## COMPRAVENDITA DI ATTREZZATURE PROFESSIONALI VETERINARIE

**VET-EXCHANGE** è il servizio telematico, libero e gratuito riservato ai soli medici veterinari. Questo servizio ha l'unico scopo di consentire un più facile contatto tra soggetti interessati alla compravendita di attrezzature professionali veterinarie. **Non è consentito l'accesso alle aziende del settore.**

Il portale registra più di 20.000 visite mensili, con una media di 200 annunci al mese.

Per inserire la propria offerta o richiesta è necessaria la registrazione al servizio tramite un modulo on-line. Al ter-

mine della registrazione il sistema fornirà all'utente un codice che, insieme alla password, consentirà di accedere all'area riservata per modificare/integrare/cancellare la propria scheda prodotti e la scheda dati personale. Le inserzioni permangono in rete per 90 giorni; alla scadenza di questo periodo vengono rimosse automaticamente.

Registrazione e condizioni d'uso dettagliate al sito:

<http://www.vetexchange.it/>

**VET-EXCHANGE**  
IL MERCATO ITALIANO DELLE ATTREZZATURE PROFESSIONALI VETERINARIE  
Servizio on-line dell'A.N.M.V.I.