



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS MÉDICO-
CIRÚRGICAS**

PAULO HENRIQUE DIÓGENES VASQUES

***COMPARAÇÃO DA HEMOSSIDERINA COM O TECNÉCIO-99 NA IDENTIFICAÇÃO
DO LINFONODO SENTINELA DO CÂNCER DE MAMA***

FORTALEZA
2016

PAULO HENRIQUE DIÓGENES VASQUES

*COMPARAÇÃO DA HEMOSSIDERINA COM O TECNÉCIO-99 NA
IDENTIFICAÇÃO DO LINFONODO SENTINELA DO CÂNCER DE MAMA*

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro

FORTALEZA
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

V462c Vasques, Paulo Henrique Diógenes.

Comparação da hemossiderina com o tecnécio-99 na identificação do linfonodo sentinela do câncer de mama. / Paulo Henrique Diógenes Vasques. – 2016.

157 f.: il. color.

Tese (doutorado). – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico- Cirúrgica, Doutorado em Cirurgia, Fortaleza, 2016.

Área de Concentração: Comportamento Biocelular em Tumores Sólidos.

Orientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro.

1. Neoplasias da Mama. 2. Biópsia de Linfonodo Sentinela. 3. Hemossiderina. 4. Tecnécio. I. Título.

CDD 616.99249

PAULO HENRIQUE DIÓGENES VASQUES

***COMPARAÇÃO DA HEMOSSIDERINA COM O TECNÉCIO-99 NA
IDENTIFICAÇÃO DO LINFONODO SENTINELA DO CÂNCER DE
MAMA***

*Tese submetida à Coordenação do Programa
de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências
Médico Cirúrgicas do Departamento de
Cirurgia da Faculdade de Medicina da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.*

Aprovada em 15/01/2016

BANCA EXAMINADORA

*Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro (Orientador)
Universidade Federal do Ceará-UFC*

*Prof. Dr. Leonardo Robson Pinheiro Sobreira Bezerra
Universidade Federal do Ceará-UFC*

*Prof.^a Dr.^a Lúcia Libanez Bessa Campelo Braga
Universidade Federal do Ceará-UFC*

*Prof. Dr. Francisco Das Chagas Medeiros (avaliador externo)
Centro Universitário Crhistus- UNICHRISTUS*

*Prof. Dr. Renato Santos de Oliveira Filho (avaliador externo)
Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP*

A Deus, que, em todo os dias e em todos os lugares se
faz presente com o seu amor, me orienta, me guarda,
me consola, me responde e mostra que só o amor faz
sentido.

DEDICATÓRIA

À minha mulher, KARINE; meu amor, fonte de energia e estímulo. Sua generosidade e perfeccionismo me fizeram melhor e mais forte. Você é responsável, em larga escala, por ter vencido muitas etapas e chegado até aqui. Feliz por tê-la como companheira. Que venham outras décadas. Te amo!

Às minhas filhas e filho: ISADORA, EDUARDA E LUIS. A Isa adorada e querida que, prematuramente, veio ao mundo e conquistou meu coração e minha mente. A Duda que me conquista todo o dia com sua alegria, carisma e companheirismo. Ao Luisinho que, desde a primeira vez que o vi, já sabia que tínhamos muito mais em comum do que ele imaginava. Amo todos vocês!

À minha mãe, MARIA, que me forjou com amor inquebrantável, vendo o mundo sempre com os olhos da generosidade. Seus princípios me foram legados para sempre. Te amo!

Ao meu grande Pai, VASQUES, tudo que sou devo a ele. Seu exemplo, suas palavras e espírito me fortaleceram e me fizeram caminhar para frente, sempre para frente. Te amo!

Ao meu irmão, ROBINSON, a quem muito admiro pela sua evolução e ser humano maravilhoso, mesmo distante o tenho sempre próximo. Te amo!

À minha irmã, CLÁUDIA, querida, serena, vigilante e amiga com quem conto em todos os momentos. Te amo!

À dona SHERIDAN, minha segunda mãe, que sempre tem uma palavra de estímulo a oferecer. Fortaleza da minha nova família. Obrigado!

Aos cunhados e cunhadas; VIVIANE, ANDRÉ, PAULA, PINHEIRO NETO E DANIELE e aos sobrinhos; AMANDA, TUTY, LUCAS, MATEUS, AGO, NANA, LELÉ, DIMI, DÉBORA e HELÔ. Obrigado pela convivência familiar feliz e harmoniosa.

Aos meus avós, LUCAS E MARIA; JOAQUIM E VIDELINA, pois os trago, sempre, na memória e no coração. Saudade e muito que agradecer.

A toda minha grande família, do Jaguaribe ao Cariri, de onde retiro o estímulo para seguir trilhando o caminho que escolhi e abracei.

Aos amigos que, sempre presentes, me estimularam a continuar olhando adiante com otimismo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. LUSMAR VERAS RODRIGUES, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da UFC, meus sinceros agradecimentos, pela contribuição ao programa de pós-graduação, pela sua atenção e consideração aos Docentes e Dicentes desta Faculdade.

Ao meu orientador, o visionário, Prof. Dr. LUIZ G. PORTO PINHEIRO, todo o reconhecimento e agradecimento por ter me estimulado a adentrar o mundo acadêmico. Seu exemplo, obstinação, força, caráter e inteligência são estímulo cotidiano a todos os que têm o privilégio da sua convivência. Por tudo que o me proporcionou científica e profissionalmente, bem como na área familiar, minha eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. SÉRGIO BOTELHO GUIMARAES, reconhecido pela presteza e disponibilidade em participar da banca de qualificação e sua importante contribuição com esta tese.

À Prof.^a Dr.^a LÚCIA LIBANEZ BESSA CAMPELO BRAGA, meus agradecimentos pela disponibilidade em participar da banca de qualificação/defesa e importante contribuição com esta tese.

Ao Prof. DR. FRANCISCO DAS CHAGAS MEDEIROS, ser agradecido pela disponibilidade em participar da banca de qualificação/defesa e sua importante contribuição com esta tese.

Ao Prof. Dr. RENATO SANTOS DE OLIVEIRA FILHO meus agradecimentos pela disponibilidade em participar da banca de defesa e sua importante contribuição com esta tese.

Ao Prof. Dr. LEONARDO ROBSON PINHEIRO SOBREIRA BEZERRA meus agradecimentos pela disponibilidade em participar da banca de defesa e sua importante contribuição com esta tese.

À Prof.^a Dr.^a MARIA ALIX LEITE ARAÚJO, do programa de pós-graduação em Saúde Coletiva da UNIFOR, pela amizade, presteza, estímulo e orientação. Obrigado!

À Bioquímica MAYARA MAIA ALVES, pela contribuição científica e operacional na sistematização do método e processamento da hemossiderina.

Ao Dr. ROBERTO VITOR ALMEIDA TORRES, pelo apoio na coleta e organização das informações dos pacientes desse estudo.

Às Secretárias do Programa Pós-graduação em Cirurgia, da Universidade Federal do Ceará, Sra. MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA e Sra. MAGDA MARIA GOMES FONTENELE, pela presteza, disponibilidade e empenho, sempre presentes. Obrigado!

Ao Dr. MÁRCIO WILKER SOARES CAMPELO pela disponibilidade, contribuição e orientação crítica na tese.

Aos colegas, funcionários e professores que fazem o Departamento de Cirurgia da UFC. Muito obrigado!

Aos colegas de trabalho da Área Técnica da Saúde da Mulher – Secretaria Municipal de Saúde, LÉA, ADRIANA, JACINTA, RISONNEIDE, EUZA, SOCORRO, MÔNICA, RITA E NÍVEA pelo companheirismo e estímulo.

Ao Banco do Nordeste do Brasil- BNB pelo financiamento desse projeto de pesquisa.

Aos funcionários, acadêmicos e colaboradores do GEEON pelo apoio nessa jornada.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

“ Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes. ” Isaac Newton

RESUMO

COMPARAÇÃO DA HEMOSSIDERINA COM O TECNÉCIO-99 NA IDENTIFICAÇÃO DO LINFONODO SENTINELA DO CÂNCER DE MAMA. PAULO HENRIQUE DIÓGENES VASQUES. Pós-Graduação *Stricto Sensu* do Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará (Grau de Doutor em Ciências Medico-Cirúrgicas). Janeiro, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro

Introdução e objetivo: Atualmente, a Biopsia do Linfonodo Sentinela (BLS) substitui o esvaziamento axilar no estadiamento do câncer de mama inicial com axila clinicamente negativa. O tecnécio 99 (Tc99) é o padrão ouro para identificação do Linfonodo Sentinela (LS) da mama. Os corantes azuis são uma opção menos onerosa e mais difundida no Brasil. Estes corantes são responsáveis pelas reações adversas e de hipersensibilidade que, embora raras, podem pôr em risco à vida dos pacientes. Há interesse na descoberta de novas substâncias equivalentes e com menores efeitos colaterais às usadas na BLS. Aqui se avaliam a segurança e a equivalência do uso da hemossiderina, em comparação ao tecnécio 99 (Tc99) na BLS no câncer de mama. A hemossiderina é um derivado da hemoglobina, identificada em estudo pré-clínico, que se mostrou eficaz na BLS da mama da cadela. O objetivo desta pesquisa é avaliar a segurança e a potencial equivalência do uso da hemossiderina em comparação com o Tc99 na BLS da mama humana. **Método:** Os experimentos ocorreram no período de setembro de 2011 a setembro de 2013. As pacientes selecionadas no Serviço de Mastologia da MEAC/HC/UFC, foram 14 mulheres, voluntárias, portadoras de câncer de mama, com tumores iniciais (T1/T2) e axila clinicamente negativa, que se submeteram a BLS, utilizando hemossiderina, produzida com base em um hemolisado, asséptico, obtido de sangue autólogo, injetada na região subareolar, ambulatorialmente, 24h antes da cirurgia. No pré-operatório imediato, injetou-se, também, na região subareolar, 0,5mCi de Tc99. As pacientes foram submetidas a ressonância magnética das mamas, e a cintilografia mamária. No Centro Cirúrgico, as pacientes sob anestesia geral realizaram a BLS com incisão na prega axilar, guiada pelo gamma-probe, dissecação por planos até a identificação de ponto de captação máxima do Tc99, identificando-se o Linfonodo Sentinela (LS) marcado e a sua coloração. O procedimento da mama foi definido em correlação com o tamanho e localização do tumor primário e a conduta em relação à axila em função da presença ou ausência de metástase no LS. Toda peça cirúrgica foi encaminhada à avaliação anatomopatológica e imunohistoquímica. **Resultados:** Não foram observados efeitos colaterais, reações alérgicas, infecção cirúrgica ou toxicidade relacionados ao método empregado. A taxa de concordância entre a hemossiderina e o Tc99 foi de 100%. A sensibilidade e acurácia da hemossiderina foi 100%. Um achado incidental foi o magnetismo dos linfonodos axilares (LA) identificados como hipersinal à RNM com hemossiderina em 100% dos exames. Em dois de quatro casos de LS positivos na histopatologia, a imagem da RNM com hemossiderina sugeria comprometimento neoplásico do linfonodo marcado. **Conclusão:** A hemossiderina se mostrou um corante eficiente, seguro e equivalente ao Tecnécio 99 na BLS da mama.

Descritores: Neoplasias da Mama. Biopsia de Linfonodo Sentinela. Hemossiderina. Tecnécio.

COMPARISON BETWEEN HEMOSIDERIN AND TECHNETIUM-99 IN THE IDENTIFICATION OF SENTINEL LYMPH NODE IN BREAST CANCER

PAULO HENRIQUE DIÓGENES VASQUES. *Stricto Sensu* Post-graduate Program of the Department of Surgery, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará (Doctor of Medical and Surgical Sciences). January, 2016.

Orienting Professor: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro

ABSTRACT

Introduction and objective: Sentinel Lymph Node Biopsy (SLNB) has currently replaced axillary dissection in early-stage breast cancer in clinically tumor-free patients. Technetium-99 (^{99}Tc) is the gold standard for the identification of Breast Sentinel Lymph Node (SLN). Blue dyes are a less expensive and widely used option in Brazil. These dyes are responsible for several adverse and hypersensitivity reactions that – although rare – can put patients' lives at risk. There is an interest in the discovery of new equivalent substances with less side effects than those used in SLNB. This research assesses the safety and equivalence of the use of hemosiderin in SLNB in breast cancer compared to technetium-99 (^{99}Tc). Hemosiderin is a hemoglobin derivate identified in a preclinical trial that has proven to be effective in the SLNB of female dogs' breasts. The aim of this research is to assess the safety and potential equivalence of the use of hemosiderin in SLNB in human breast compared to the ^{99}Tc .

Method: The experiments took place in the period from September 2011 to September 2013. Patients were selected from the Mastology Service of the MEAC/HC/UFC and included 14 volunteer women with breast cancer with primary tumors (T1/T2) and clinically tumor-free axilla who were submitted to SLNB using hemosiderin, produced based on an aseptic hemolysate obtained from autologous blood, injected in the periareolar region 24h before surgery on an outpatient basis. 0.5 mCi of ^{99}Tc was also injected in the subareolar region in the immediate preoperative period. Patients underwent breast MRI and mammary scintigraphy. In the operating room, patients – under general anesthesia – were submitted to SLNB, with incision in the axillary fold guided by Gamma-Probe and dissection by planes until the identification of the point of maximum uptake of ^{99}Tc , identifying the marked sentinel lymph nodes (SLN) and their colors. Breast procedure was defined based on the correlation of the size and location of primary tumor and the axilla procedure was performed based on the presence or not of SLN metastasis. All surgical specimens were sent for pathological and immunohistochemical study.

Results: There were no side effects, allergic reactions, surgical infection or toxicity related to the method applied. The concordance rate between hemosiderin and ^{99}Tc was 100%. The sensitivity and accuracy of hemosiderin was 100%. An incidental finding refers to magnetic properties of axillary lymph nodes (ALN) identified as an hypersignal in the NMR with hemosiderin in 100% of the exams. In two of four cases with positive SLN on histopathology, the image of the NMR with hemosiderin suggested neoplastic involvement of the marked lymph node.

Conclusion: Hemosiderin proved to be an efficient and safe dye that is equivalent to ^{99}Tc in breast SLNB.

Descriptors: Breast Neoplasms. Sentinel Lymph Node Biopsy. Hemosiderin. Technetium.

LISTA ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Conceituação esquemática do LS.....	28
Figura 2	Drenagem linfática da mama humana-os principais locais de drenagem e grupos linfonodais.....	30
Figura 3	Pele de paciente no pós-operatório de biopsia de nódulo mamário marcada com derivado de sangue.....	41
Figura 4	Avaliação macroscópica de LS em modelo experimental canino.....	42
Figura 5	Materiais e equipamentos utilizados para o reparo e produção da hemossiderina.....	49
Figura 6	1ª Etapa de preparo da hemossiderina.....	50
Figura 7	2ª e 3ª Etapas de preparo da hemossiderina.....	51
Figura 8	Administração da hemossiderina na região subareolar na mama.....	52
Figura 9	Exames de imagem realizados no pré-operatório imediato.....	53
Figura 10	Identificação do Linfonodo Sentinela utilizando da hemossiderina e gama-probe/Tc99.....	54
Figura 11	Escala de classificação de tonalidades cor do LS corado com a hemossiderina	54
Figura 12	Identificação do LS <i>in-vivo</i> e <i>ex-vivo</i>	55
Figura 13	Fluxograma do estudo.....	56
Figura 14	Escala de variação de cores dos LS sem e com marcação com hemossiderina	66
Figura 15	RNM de mamas bilaterais ,24 horas após administração de hemossiderina.....	69
Figura 16	Análise comparativa do LA à RNM com hemossiderina e do LS à patologia...	71
Gráfico 1:	Avaliação comparativa dos casos de LA à RNM/hemossiderina, com LA sugestivos de comprometimento metastáticos e LS metastáticos à patologia.....	71
Gráfico 2:	Percentual de casos de linfangiografias à RNM.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características das pacientes submetidas à BLS com hemossiderina.....	58
Tabela 2	Descrição do tipo de procedimento cirúrgico realizado na mama, axila e estado patológico dos LS das mulheres submetidas a BLS com hemossiderina.....	60
Tabela 3	Descrição anatômica, patológica e imuno-histoquímica dos tumores das mulheres submetidas a BLS com hemossiderina.....	62
Tabela 4	Identificação de efeitos adversos e Infecção de sítio cirúrgico nas mulheres submetidas a BLS com hemossiderina.....	64
Tabela 5	Identificação do número de pacientes com LS marcado com tecnécio 99, hemossiderina e taxa de concordância entre os métodos nas mulheres submetidas a BLS.....	65
Tabela 6	Avaliação da sensibilidade e acurácia da hemossiderina na BLS.....	65
Tabela 7	Classificação da matizes de intensidade de coloração dos linfonodos marcados com hemossiderina.....	66
Tabela 8	Identificação do número de pacientes com LS marcado com Tc99 na cintilografia pré-operatória nas mulheres submetidas a BLS.....	67
Tabela 9	Coeficiente de Concordância de Kappa quando comparado a avaliação do RNM com o resultado da patologia do LS.....	68
Tabela 10	Avaliação dos indicadores de testes diagnósticos da RNM com hemossiderina comparando com o resultado da BLS na patologia.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJCC	American Joint Committee on Cancer
AS	Subareolar
ASCO	American Society of Clinical Oncology
BLS	Biopsia do Linfonodo Sentinela
CDIS	Carcinoma ductal <i>in situ</i>
DX	Dextran
EA	Esvaziamento axilar
FN	Falso negativo
FP	Falso positivo
FSM	Ferro supermagnético
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio(UFC)
GEEON	Grupo de Educação e Estudos Oncológicos
ID	Intradermal
IM	Intramuscular
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IS	Azul de isossulfan
IT	Intra tumoral
QT	Quimioterapia
QT NEO	Quimioterapia neoadjuvante
QT AD	Quimioterapia adjuvante
LA	Lifonodo Axilar
LC	Linfocintilografia
LS	Linfonodo sentinela
MEAC	Maternidade Escola Assis Chateaubriand (UFC)
NSABP	National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project
OMS	Organização Mundial de Saúde
PT	Peritumoral
PT-PCR	Reação Reversa em Cadeia Transcriptase-Polimerase
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
SD	Subdermal

SRE	Sistema Reticuloendotelial
TC	Tomografia computadorizada
Tc99	Tecnécio
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TCR	Trabalho Clínico Randomizado
TNM	Tumor, linfonodos regionais, metástese a distância
US	Ultrassom

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
1.1 Câncer de mama um problema de saúde pública.....	19
1.2 Tratamento cirúrgico do câncer de mama.....	22
1.3 Abordagem axilar no câncer de mama.....	25
1.4 Linfonodo sentinela.....	27
1.5 O uso da hemossiderina na identificação do linfonodo sentinela.....	40
2 OBJETIVO.....	44
2.1 Objetivo geral.....	44
2.2 Objetivos específicos.....	44
3 MÉTODO.....	45
3.1 Aspectos éticos.....	45
3.2 Ambiente de pesquisa.....	45
3.3 Universo e seleção de pacientes.....	45
3.4 Critérios de inclusão.....	46
3.5 Critérios de exclusão.....	46
3.6 Materiais.....	47
3.7 Desenho do estudo.....	48
3.8 Preparo, administração e produção da hemossiderina.....	48
3.9 Biopsia do linfonodo sentinela.....	53
3.10 Análise estatística.....	57
4 RESULTADOS.....	58
4.1- Características dos pacientes do estudo da BLS com hemossiderina.....	58
4.2 Tipo de procedimento cirúrgico realizados no estudo da BLS com hemossiderina...	59
4.3 Características patológica e imuno-histoquímica dos tumores das mulheres submetidas a BLS com hemossiderina.....	60
4.4 Identificação de efeitos adversos (reações alérgicas e não alérgicas) e infecção de sítio cirúrgico nos pacientes com a utilização da hemossiderina na BLS dos pacientes do estudo	63

4.5 Identificação do número de pacientes com ls marcados com tecnécio 99 e hemossiderina na BLS.....	64
4.6 Sensibilidade e acurácia do teste da hemossiderina comparado ao tecnécio 99 na BLS.	65
4.7 Avaliação das matizes de intensidade de coloração do linfonodo sentinela identificado com hemossiderina.....	66
4.8 Identificação do número de pacientes com ls marcado com tecnécio 99 na cintilografia pré-operatória.....	67
4.9 Avaliação da taxa de concordância entre a avaliação do linfonodos axilares identificados à RNM com hemossiderina, comparado o resultado da patologia do linfonodo sentinela...	67
4.10 Avaliação dos indicadores de validade do teste diagnóstico da identificação dos linfonodos axilares identificados à RNM com hemossiderina comparados com o resultado da patologia do linfonodo sentinela.....	70
4.11 Avaliação comparativa dos casos de LA identificados à RNM com hemossiderina, com LA sugestivos de comprometimento metastático e LS metastáticos à patologia.....	70
4.12 Avaliação das pacientes que se submeteram a RNM com administração de hemossiderina em que foi identificado linfangiografia à RNM.....	72
5 DISCUSSÃO.....	73
6 CONCLUSÃO.....	92
REFERÊNCIAS.....	93
APÊNDICES.....	113
APÊNDICE A Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
APÊNDICE B - Ficha de registro do projeto	
APÊNDICE C - Figura 17 - Região pós-injeção de hemossiderina subareolar da mama	
APÊNDICE D - Artigo publicado na Acta Cirúrgica Brasileira	
APÊNDICE E - Patente depositada no INPI	
ANEXOS	141
ANEXO A- Classificação Clínica – TNM	
ANEXO B- Quadro 1- Classificação do IMC	
ANEXO C- Figura 18 - Coloração da pele após a administração do corante azul patente para BLS da mama, em duas pacientes, imediatamente após injeção de azul patente subareolar	

ANEXO D- Figura 19 - A) Coloração da pele após a administração do corante azul patente para BLS da mama: A) Coloração na pele, em um paciente de 65 anos de idade, coloração azul forte é visível uma semana após a injeção do corante azul para BLS

ANEXO E Figura 19 - B) Coloração na pele, em um paciente de 68 anos de idade, após 2 anos da injeção de corante azul, coloração fraca na pele ainda pode ser identificada

ANEXO F - Quadro 2- BLS Em câncer de mama - análise comparativa de estudos utilizando vários Isótopos radioativo.

ANEXO G - Quadro 3: BLS em câncer de mama: estudos usando técnicas combinadas

ANEXO H - Tabela 11 Escala de concordância do Kappa

ANEXO I - Figura 20 – Magnetómetro A) O Sentimag® B) Ilustração de BLS Utilizando o Sentimag®

ANEXO J – Aprovação do Comitê de Ética.

1 INTRODUÇÃO

As neoplasias ganharam relevância pelo perfil epidemiológico e assumiram importância pela morbimortalidade da população mundial. Em 2012, a World Health Organization (WHO) (OMS) estimou que haveria 14,1 milhões de casos novos de câncer e um total de 8,2 milhões de mortes em todo o Mundo. Os tumores de pulmão (1,82 milhões) no sexo masculino e os de mama (1,67 milhões) no sexo feminino são as maiores ocorrências de casos novos de câncer. O câncer de mama é a neoplasia maligna mais comum em mulheres no mundo, correspondendo a 25% de todos os novos casos de câncer, responsável por cerca de 14,7% de todas as mortes, em mulheres no Globo. Estimou também que, em 2030, haverá 21,4 milhões de casos novos de câncer e 13,2 milhões de mortes por esta doença, em consequência do crescimento e envelhecimento da população, bem como da redução na mortalidade infantil e das mortes por doenças infecciosas em países em desenvolvimento. (WHO, 2012).

1.1 Câncer de mama um problema de saúde pública

Nos Estados Unidos são estimados 231.840 novos casos de câncer de mama em mulheres, 122,8 a cada 100 mil mulheres, ou seja 28,6% de todos os tumores que serão diagnosticadas em 2015. São esperadas 40 mil mortes, perdendo só para o câncer de pulmão (ACS, 2015).

O número de casos novos de câncer de mama esperados para o Brasil em 2016 é de 57.960, com um risco estimado de 56,20 a cada 100 mil mulheres, 28,1% dos novos casos de câncer. Na região Nordeste, o câncer de mama é o mais incidente entre as mulheres com um risco estimado de 36,74 casos novos por 100 mil e o Ceará tem uma taxa superior à média da região, que é de 44,78 casos para cada 100 mil mulheres (INCA, 2014; 2015).

O quadro atual do câncer de mama exige mais esforços e recursos para a prevenção, detecção precoce e controle dessa neoplasia. Nos países mais ricos, grandes desafios foram superados com vistas a disseminar o uso de rastreamento em massa do câncer de mama para diagnosticar o maior número de casos em estádios iniciais da doença, onde a sobrevivência de cinco anos varia de 100% no estágio “0” a 88% no estágio “IIA”(TESSARO, 2006).

Atualmente, o diagnóstico do câncer mamário nos países desenvolvidos é feito, na sua grande maioria, em estádios iniciais. Este fato decorre, principalmente, do uso da mamografia,

como política de rastreamento em massa do tumor da mama na população desses países. Nos EUA, em 93% dos casos, o diagnóstico é feito nos estádios I e II (TESSARO, 2006). A experiência estadunidense projeta uma diminuição de 50% da mortalidade de 1990 a 2014 (BYERS et al., 2006). Estima-se que cerca de metade dos casos de câncer de mama serão diagnosticados na fase pré-clínica, num futuro próximo. Para todas as fases combinadas, a sobrevivência relativa - cinco, dez e 15 anos - as taxas de câncer de mama são de 89%, 83% e 78%, respectivamente (ACS, 2013).

A população brasileira expressa envelhecimento mensurável nas últimas décadas. Em 1940, os idosos respondiam por cerca de 4% da população e no ano de 2001 esse percentual atingiu 9%. Esse aumento resulta tanto da redução da mortalidade quanto das altas taxas de crescimento da população nos anos de 1950 e 1960. A essas novas características da sociedade brasileira, unem-se os novos estilos de vida e a exposição, ainda mais intensa, a fatores de risco próprios do mundo contemporâneo. Esse quadro aponta para a crescente importância do câncer de mama no perfil de morbimortalidade da população brasileira (INCA, 2014).

A realidade nacional ainda convive com a maioria dos casos de câncer de mama diagnosticada em estádios avançados (III e IV), diminuindo as chances de sobrevivência das pacientes e comprometendo os resultados do tratamento (INCA, 2014). A realidade cearense corrobora o quadro nacional haja vista que, no Serviço de Mastologia da MEAC-UFC, 60% dos casos o diagnóstico é feito nos estádios III e IV (PINHEIRO et al., 2009).

Os principais fatores de risco, potencialmente modificáveis, associados ao crescimento do risco do câncer de mama incluem: ganho de peso após a idade de 18 anos e / ou excesso de peso ou obesidade (na pós-menopausa), o uso de Terapia de Reposição Hormonal, inatividade física e consumo de álcool. O tabagismo intenso também pode aumentar o risco de câncer de mama, particularmente entre as mulheres que começam a fumar antes da primeira gravidez. O trabalho por turnos, particularmente durante a noite (isto é, que perturba os padrões de sono), pode ser associado com um risco aumentado de câncer da mama (ACS, 2013; SBM, 2011).

Fatores reprodutivos que aumentam o risco incluem: uma história menstrual longa (menarca precoce e /ou menopausa tardia), uso recente de contraceptivos, ausência de filhos, e ter o primeiro filho depois 30 anos de idade, um histórico familiar de câncer de mama, particularmente tendo um ou mais parentes de primeiro grau afetados. Mutações hereditárias (alterações genéticas) em BRCA1 e BRCA2, os genes de susceptibilidade ao câncer de mama mais bem estudados, em média 5% a 10% de todos os cânceres de mama feminina, estima-se de 5% a 20% dos cânceres de mama no sexo masculino, e 15% a 20% dos cânceres de mama

familiar. Estas mutações, no entanto, são muito raras na população geral (muito menos do que 1%) (ACS, 2013; FRASSON, et al., 2013).

Fatores associados com uma diminuição do risco de câncer de mama incluem o aleitamento materno por pelo menos um ano; controle no uso de bebidas alcoólicas e estímulo a atividade física, dieta saudável e controle do peso corporal. Portanto, devem ser orientados para melhorar a qualidade de vida geral e pelos eventuais benefícios na prevenção do câncer de mama (SBM, 2011).

O diagnóstico precoce do câncer de mama aumentou no mundo em razão dos programas de rastreamento mamográfico em mulheres assintomáticas, com o objetivo de reduzir a mortalidade pela doença. A Sociedade Brasileira de Mastologia prevê uma mamografia anual desde os 40 anos e a American Cancer Society preconiza mamografia anual iniciando aos 45 anos e bienal após os 55 anos (ACS, 2015; AGUILLAR, 2012). O programa de rastreamento do Ministério da Saúde do Brasil preconiza o Exame Clínico das Mamas (ECM) feito uma vez por ano pelas mulheres a partir de 40 anos e a mamografia realizada a cada dois anos pelas mulheres de 50 a 69 anos, ou segundo recomendação médica (INCA, 2014).

As mulheres com história familiar de câncer de mama, especialmente se uma ou mais parentes de primeiro grau (mãe ou irmãs) foram acometidas antes dos 50 anos ou mutação dos genes BRCA 1 e 2 apresentam maior risco de desenvolver a doença. Para algumas mulheres com alto risco de câncer de mama, o rastreamento anual usando ressonância nuclear magnética (RNM), além da mamografia, é recomendado, normalmente desde a idade de 30 anos (ACS, 2013).

O estadiamento do câncer de mama é um importante método utilizado pelo mastologista, clínico e patologista para o auxílio no tratamento das neoplasias mamárias. O sistema TMN - Tumor, Linfonodos e Metástases é, atualmente, o mais utilizado. O tumor (T) avalia a dimensão da neoplasia clinicamente, com auxílio de exames complementares, mamografia, ultrassonografia e RNM, ressaltando-se que a dimensão histológica (pT) é o método para neoplasias com dimensão reduzida, enquanto a dimensão macroscópica se presta a neoplasias maiores. Os linfonodos (N) são avaliados de acordo com o comprometimento ou não das cadeias axilares, mamária interna, infraclaviculares e supraclaviculares. As metástases (M) registram a presença ou não de metástases a distância (NCCN.ORG, 2015) (ANEXO A).

Os fatores prognósticos contribuem para avaliação da história natural do tumor, ou seja, marcadores associados ao tempo livre de doença ou sobrevida global na ausência de terapia sistêmica adjuvante. A existência ou não de metástases linfonodais, a dimensão tumoral, o

grau nuclear, o estado dos receptores hormonais, o tipo histológico do tumor, invasão angiolinfática e o índice de proliferação celular da neoplasia são os principais fatores prognósticos avaliados atualmente (FRASSON, 2013).

O estado axilar, ainda, é o fator prognóstico mais importante do câncer de mama para se estimar risco de recidiva e sobrevida em pacientes (VERONESI et al., 1997). As metástases axilares constituem fator independente e mostra uma característica mais agressiva do tumor, portanto, indicação de terapêutica sistêmica adjuvante. A sobrevida em cinco anos para pacientes com axila negativa é de 82,8%, comparada com 73% de um a três linfonodos comprometidos, 47,5% se quatro a 12 linfonodos positivos e 47,5% se mais de 13 linfonodos expressam metástases (LYMAN et al., 2005; VERONESI et al., 1997).

1.2 Tratamento cirúrgico do câncer de mama

Nas últimas décadas, o manejo da neoplasia maligna da mama passou a ser conduzido por uma equipe multidisciplinar, pois, além da equipe cirúrgica, conta com patologista, radiologista, oncologista clínico, radioterapeuta e equipe de reabilitação e suporte. Em virtude de novos conhecimentos sobre a história natural do câncer de mama e de sua biologia celular, o tratamento cirúrgico passou por importantes mudanças nas técnicas e abordagem do controle local dessa doença.

Os primeiros registros de câncer de mama que trazem referências ao tratamento, datam de 2500 a.C. de Imhotep, médico egípcio, descreveu em papiro um provável caso de câncer de mama e, na seção intitulada "Terapia", marcou o prognóstico sombrio, à época, com a frase: "não existe". Heródoto (440 a.C.) descreveu a primeira extirpação da mama por um tumor, com sucesso. Hipócrates (460 a 370 a. C), o primeiro a usar uma palavra similar a câncer-*karkinos*, concebeu a imagem de um tumor como uma espécie de caranguejo enterrado sob a pele, um provável câncer de mama e questionou o tratamento cirúrgico à época, com a reflexão: "só provocava dor e sofrimento não trazendo qualquer benefício". (MUKHERJEE, 2012).

Nos últimos 50 anos, as pesquisas apontaram significantes alterações na abordagem cirúrgica dos tumores de mama. Em 1867, Moore, do Middlesex Hospital, em Londres, recomendou que a completa remoção da mama fosse o tratamento de escolha para lesões em qualquer área da mama. Em 1880, Samuel Gross recomendou a excisão dos linfonodos se eles

fossem clinicamente comprometidos. Kuster, em 1883, propôs o esvaziamento axilar rotineiro em todos os casos de câncer de mama (KESHTGAR; BAUM, 2001).

Em 1891, Halsted descreveu a teoria da disseminação centrífuga do câncer de mama, creditando o papel da drenagem linfática como o maior mecanismo de disseminação do tumor de mama. Propôs que a cirurgia radical da mama era a chave para o sucesso do tratamento da doença. A cirurgia de Halsted extirpa a mama em monobloco, com os músculos peitorais e o conteúdo axilar (HALSTED, 1894).

A cirurgia radical permaneceu como tratamento de escolha para o câncer de mama de qualquer estágio e tipo, independentemente da idade, por 80 anos. Procedimentos que tentassem preservar a mama não foram largamente aceitos durante esse período (VERONESI et al., 2002).

Em 1943, Haagensen e Stout analisaram os dados de 640 pacientes que se submeteram a mastectomia radical num período de nove anos e descobriram que somente 36% deles permaneciam vivos depois de cinco anos. Em 1948, Patey e Dyson descreveram uma abordagem menos radical para cirurgia do câncer primário de mama, introduziram a mastectomia radical modificada como uma cirurgia menos mutilante e com uma evolução similar à vista na mastectomia radical. O músculo peitoral maior era preservado, mas a extensão da cirurgia axilar permanecia a mesma. Já a cirurgia de Madden-Auchinclos preserva os dois músculos peitorais. Estudos comparando as mastectomias radical clássica e as técnicas modificadas não evidenciaram diferenças de efetividade entre os grupos (BOFF; WISINTAINER, 2006).

Em 1965, Devitt sugeriu com relação ao câncer de mama que as metástase nos linfonodos axilares são mais uma expressão de pior prognóstico do que um determinante (KESHTGAR; BAUM, 2001).

Em 1970, Fisher sugeriu uma nova hipótese biológica. Ele acreditava que o câncer de mama era uma doença sistêmica no tempo do diagnóstico, e variações no tratamento loco-regional não melhoraria a sobrevida global (FISHER et al., 1981). Resultados de dez anos de observação do protocolo B 04 - National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) demonstraram que a sobrevida era idêntica independentemente de se realizar o esvaziamento axilar (FISHER et al., 1981; KESHTGAR; BAUM, 2001).

A mudança na pedra angular do tratamento do câncer de mama foi à introdução do conceito de cirurgia conservadora da mama. A quadrantectomia é a cirurgia que resseca o quadrante ou segmento da mama comprometido com o tumor e uma parte do tecido normal

que o envolve. Embora a conservação da mama tenha sido advogada por alguns antes da Segunda Grande Guerra, isso não aconteceu até o final de 1960 e início de 1970, quando estudos controlados e randomizados demonstraram que a combinação de cirurgia local e radioterapia poderiam encontrar resultados semelhantes àqueles da mastectomia radical e mastectomia radical modificada, embora o esvaziamento axilar total permanecesse como parte integral do procedimento (BOFF; WISINTAINER, 2006).

O tratamento conservador do câncer de mama teve início no Instituto de Câncer de Milão, em 1973, com recrutamento de pacientes e posteriormente com a publicação dos dados preliminares de Veronesi, et al. (1977 e 1981), confirmando que as taxas de sobrevida da cirurgia conservadora são iguais aos da cirurgia radical. Em 2002 Veronesi e Fisher publicaram o resultado de 20 anos de acompanhamento de pacientes que se submeteram à mastectomia clássica *versus* cirurgia conservadora e radioterapia, não expressando diferenças entre os grupos com relação à sobrevida geral e intervalo livre de doença (FISHER et al., 2002; VERONESI, 1977; VERONESI et al., 2002; VERONESI et al., 1981). Com o respaldo desses estudos, ratificando o papel da cirurgia menos agressiva no adequado tratamento dessa neoplasia, as cirurgias conservadoras difundiram-se no mundo inteiro, compostas basicamente de ressecção tumoral ampla, linfadenectomia axilar e radioterapia.

Inúmeros fatores relacionados ao câncer de mama, como tamanho tumoral, grau nuclear e histológico, pesquisa de receptores hormonais, ploidia tumoral e expressão de HER 2 são avaliados quanto ao seu valor prognóstico. Nenhum é capaz de identificar, de modo inequívoco, o potencial de metastatização do tumor. Portanto, a avaliação do estado axilar continua como o fator isolado mais importante para definir prognóstico, como também na condução terapêutica adjuvante (BASS et al., 1999; GIULIANO et al., 2000; LIBERMAN et al., 1999; MORROW et al., 1999; TURNER et al., 2000; WEAVER et al., 2000; WINCHESTER et al., 1999).

O tratamento cirúrgico conservador do tumor de mama passou a fazer parte da evolução recente do tratamento cirúrgico do câncer de mama, em virtude de uma série de fatores, como: o entendimento da doença neoplásica da mama como sistêmica desde o início; baixo índice de colonização dos linfonodos axilares nas peças cirúrgicas; morbidade associada ao esvaziamento axilar; difusão da mamografia, trazendo à clínica tumores em estádios iniciais, passíveis de ressecções mais econômicas; técnicas de cirurgia plásticas na melhoria estética; o tratamento de uma política seletiva no manejo da axila, por meio do linfonodo sentinela e questionamentos femininos com relação às mutilações (FISHER et al., 2002).

1.3 Abordagem axilar no câncer de mama

Atualmente a abordagem axilar é compreendida como proposta menos invasiva e com propósito de estadiamento da doença. Como a palpação não é fidedigna para o estadiamento, com especificidade e sensibilidade menores do que 70 %, outros métodos são avaliados para determinar o estado de comprometimento nodal da axila, incluindo linfocintilografia (LC), tomografia computadorizada (TC), ultrassonografia (US), tomografia com emissão de pósitron com fluordesoxiglicose (PET) e ressonância nuclear magnética (RNM). Apesar de área de pesquisa promissora, ainda não existe evidência de que quaisquer das modalidades de imagem possam refletir fielmente o estado linfonodal axilar (LYMAN et al., 2005).

A avaliação do estado axilar no câncer de mama com esvaziamento axilar (EA), nos seus três níveis, era a regra para o câncer de mama. O EA completo enseja muitas morbidades para a paciente, em particular, linfedema, limitação do movimento do ombro e dor do membro superior. Com a evolução para a BLS, método menos invasivo, que se tornou padrão na avaliação do estado axilar, em substituição ao EA, no câncer de mama inicial, observou-se a redução da morbidade relacionada ao procedimento, mas não eliminou completamente os riscos, como o de linfedema (ERICKSON et al., 2001; SENER et al., 2001; TEMPLE et al., 2002).

Há muito se investigam métodos de imagem não invasivos, na perspectiva de oferecer informações com acurácia semelhante a BLS, capazes de avaliar o estado axilar, sem adicionar morbidade cirúrgica e menores custos totais, com perspectivas promissoras.

O papel da ultrassonografia no estadiamento axilar do câncer de mama continua a evoluir e várias publicações demonstram o espaço desse exame complementar na abordagem axilar. Estudo demonstrou que US, associado a citologia por punção com agulha fina, é uma triagem viável e eficaz durante o estadiamento axilar para pacientes com câncer de mama recém-diagnosticado. A core biopsia, guiada por ultrassom, positiva no pré-operatório é capaz de prever o envolvimento macroscópico de gânglios axilares (FENG et al., 2015; SAUER; KÅRESEN, 2014). Uma revisão sistemática e metanálise da literatura foi realizada para testar a hipótese de que a biopsia de nódulos suspeitos guiada por ultrassom pode ser um meio útil para identificar pacientes com extensa carga tumoral axilar. Pacientes com câncer de mama em que metástases axilares são detectadas por biopsia guiada por ultrassom têm

significativamente mais linfonodos envolvidos do que pacientes com BLS-positivo. Esta descoberta permite, ainda no pré-operatório, avaliar a melhor abordagem do tratamento axilar no câncer de mama (VAN WELY et al., 2015).

A tomografia computadorizada (TC) pré-operatória é um método de imagem promissor e útil para o diagnóstico de metástases em linfonodos axilares. A TC pode distinguir linfonodos sentinelas de não sentinelas e avaliar com precisão a axila em pacientes com câncer de mama. Portanto, a TC pré-operatória é útil para prever metástases em linfonodos axilares, além de facilitar visualização pré-operatória de LS e rotas linfática de drenagem da mama, contribuindo para a detecção LS durante BLS (KUTOMI et al., 2014; MOTOMURA, KAZUYOSHI et al., 2013; YAMAMOTO et al., 2015).

A linfocintilografia (LC) identifica pré-operatoriamente o LS por via da injeção de um traçador radioativo. Apesar de controversa, a LC é empregada para melhorar a taxa de identificação, reduzir a taxa falso-negativo na BLS e com método auxiliar à BLS, em pacientes com câncer de mama, pois identifica o local, o número de linfonodos axilares e da mama interna captantes, além de indicar o local da incisão cirúrgica mais apropriado e capaz de prever metástase na BLS no câncer de mama (GHERGHE¹; BORDEA; BLIDARU, 2015; MATHEW et al., 2010; NOGUCHI et al., 2011).

Linfangiografia por Ressonância Nuclear Magnética (RNM), com a injeção intersticial de contraste gadolínio (Gd), obtém imagens de alta resolução espacial dos vasos linfáticos e linfonodos. Os resultados demonstram o potencial para identificar linfonodos sentinelas e diferenciar os linfonodos metastáticos dos não metastáticos em pacientes com câncer de mama (LU et al., 2013).

A possibilidade de evitar a BLS pela avaliação com RNM com óxido de ferro superparamagnético (FSM) é menos onerosa e os benefícios para a saúde obtidos pela maioria dos pacientes superam o impacto negativo sobre a sobrevivência e a qualidade de vida de uma pequena proporção de pacientes. Outros grandes estudos, no entanto, usando técnicas modernas, são necessários para a obtenção de dados precisos sobre a sensibilidade e especificidade de RNM *versus* BLS (KUIJS et al., 2015; MENG et al., 2011). A possibilidade de substituir BLS por RNM utilizando FSM ainda é baseada em um número limitado de estudos pequenos, mas é promissora. É um exame de imagem que leva a menos efeitos adversos, incluindo o linfedema, que tem um impacto importante na qualidade de vida e mais custo efetivo. A RNM, no entanto, tem menor sensibilidade do que a BLS e mais falso negativos (FN), além de menor especificidade, levando a mais falso positivos (FP), portanto,

os pacientes com um diagnóstico FN não receberão EA ou terapia adjuvante, conduzindo a um maior risco de recorrência do câncer. Pacientes com diagnóstico FP receberão EA desnecessariamente, com o aumento do risco de efeitos adversos (SHIOZAWA et al., 2014).

As pesquisas atuais apontam uma situação promissora nos estudos com imagem axilar pré-operatória, utilizando marcadores magnéticos e ressonância magnética, pois eles permitem um manejo axilar mais individualizado dos pacientes com câncer de mama. Além de proporcionar a oportunidade para erradicar a necessidade de BLS, permitindo identificar os pacientes que necessitam de esvaziamento axilar e também aqueles que não necessitam de cirurgia axilar (AHMED; DOUEK, 2014; KUIJS et al., 2015).

Os muitos métodos de imagem, a inovação e melhoria das tecnologias, apesar do otimismo, ainda carecem de evidências científicas robustas, antes de substituir a BLS, atualmente o padrão ouro para avaliação axilar no câncer de mama. Na realidade atual, a BLS é o método de excelência na avaliação da axilar e na definição do prognóstico do câncer de mama.

1.4 Linfonodo Sentinela

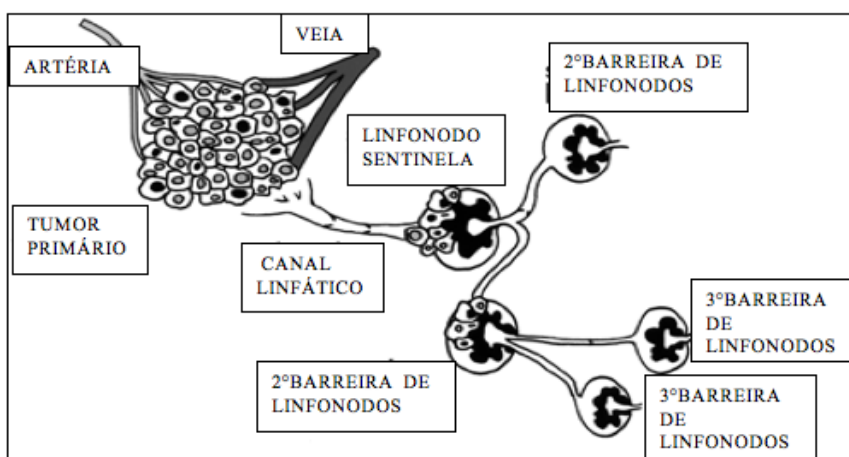
Em 1951, Gould et al descreveram o comprometimento de um nodo que normalmente aparece próximo à veia facial durante uma parotidectomia por câncer, o que levou a equipe a, posteriormente, realizar exame intraoperatório desse linfonodo, com localização anatômica típica, orientando a decisão de realização da linfadenectomia cervical radical durante as parotidectomia (GOULD et al., 1960; TANIS et al., 2001).

Décadas depois, Cabanas observou um linfonodo na drenagem linfática do pênis, utilizando linfangiografias, como sendo o primeiro a receber a drenagem linfática da área tumoral; e cunhou a expressão "Linfonodo Sentinela"(LS), ou seja, o primeiro linfonodo a receber o fluxo linfático oriundo de área de um tumor primário, conseqüentemente, o primeiro sítio de metástase, o qual poderia ser examinado mais amiúde e predizer o estado linfonodal (CABANAS, 1977). Chiappa e colaboradores postularam a existência de linfonodo sentinela testicular, utilizando, também, essa técnica. Estudos de Weissbach e Boedefeld avaliaram a possibilidade de uma abordagem retroperitoneal, do câncer testicular, menos agressiva, restritas às áreas onde os linfonodos apareciam ao estudo linfangiográfico. Os pesquisadores acreditavam que a utilização dessa abordagem com base no conhecimento das vias de

disseminação linfática, e particularmente nos primeiros locais de envolvimento nodal, podiam prevenir morbidade sem comprometer a acurácia do diagnóstico (TANIS et al., 2001; WEISSBACH; BOEDEFELD, 1987).

Kett e colaboradores (1970) publicaram o achado de um linfonodo isolado, chamado "Sorgius", identificado após injeção de corante azul na mama e subsequentemente acompanhando a drenagem. Observaram, então, o fluxo para a rede de linfáticos axilares e nodos ao redor da veia axilar (KETT; VARGA; LUKACS, 1970)(FIGURA 1).

Figura 1 - Conceituação esquemática do LS.



Fonte: MARIANI et al., 2001

Haagensen (1977) estudou a rota de drenagem de metástases por intermédio dos linfonodos axilares e estabeleceu que os nodos do grupo central são, não somente os mais envolvidos, mas também, somente eles comprometidos na maioria das vezes (HAAGENSEN, 1977).

Morton e colaboradores (1992), usando azul de isossulfan, identificavam a via de disseminação de melanomas localizados em sítios ambíguos e desenvolveram técnica intra-

operatória de mapeamento para remoção seletiva de linfonodos da via de drenagem direta do tumor primário (MORTON et al., 1992).

O conceito de linfonodo sentinela baseia-se em dois princípios básicos: a existência de um quadro de drenagem linfática gradativa e previsível para um linfonodo regional e o funcionamento do linfonodo como um verdadeiro filtro para células tumorais (TANIS et al., 2001).

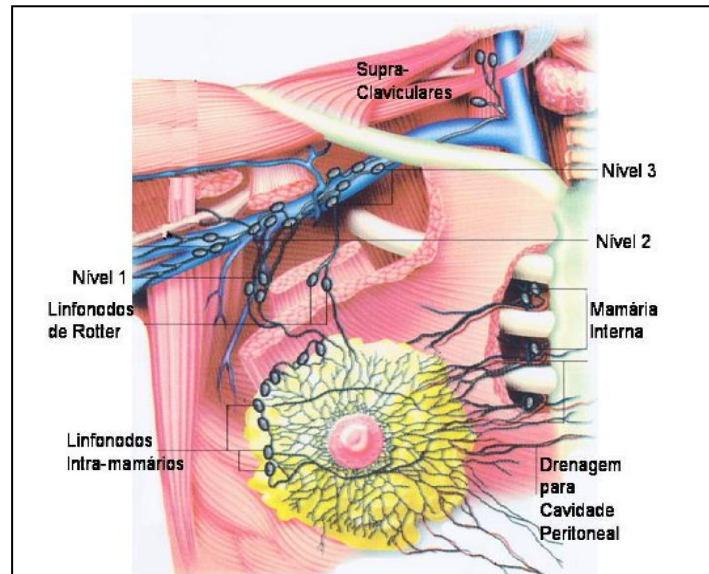
1.4.1 Linfonodo Sentinela No Câncer De Mama

Os plexos linfáticos da mama humana encontram-se no tecido conjuntivo interlobar, nas paredes dos ductos galactóforos e se comunicam com o plexo subareolar. A mama é constituída por uma rica malha de canais linfáticos que acompanham a circulação venosa. A principal rota de drenagem da mama é para linfonodos axilares, responsável por 97% da linfa mamária, enquanto os 3% restantes da linfa remanescente drenam para os linfonodos mamários internos. Turner-Warwick, usando autorradiografias, detectou que a axila e a mamária interna podem receber drenagem de qualquer quadrante da mama (TURNER-WARWICK, 1959). Em 1972, Vandrell-Torne, usando ouro coloidal mostrou que o quadro de drenagem linfática varia quando se injetam marcadores em distintos quadrantes mamários. O plexo subareolar comunica-se com os vasos linfáticos intramamários superficiais e profundos e drenam para os linfonodos regionais axilares via um ou dois grandes troncos linfáticos. O plexo linfático é formado por vasos (capilares e dutos coletores) e linfonodos que recebem o líquido intersticial tecidual. O trajeto dos dutos linfáticos encontra estruturas encapsuladas de tecido linfoide que são os linfonodos (REITSAMER et al., 2003).

Na axila a linfa atinge em média de 20 a 40 linfonodos que segundo a classificação de Berg, uma das mais usadas, corresponde a três níveis: nível I - contém em média 15 a 18 linfonodos (65%) localizados lateral e inferiormente à borda do músculo peitoral menor, nível II – dez a 12 linfonodos (25%) localizados posteriormente ao músculo peitoral menor) e nível III – seis a oito linfonodos apicais (10%) localizados na região superomedial ao músculo peitoral menor) (ROSES, 2005) (FIGURA 2).

Figura 2 - Drenagem linfática da mama humana – os

principais locais de drenagem e grupos linfonodais.



Fonte: NETTER, 2000.

Vários estudos demonstraram o envolvimento sequencial do linfonodos das cadeias regionais de drenagem do local primário e o sequestro de células tumorais que ocorre no primeiro linfonodo da cadeia de drenagem (KAPTEIJN et al., 1998; REINTGEN et al., 1994). Esse conceito também foi estendido ao câncer de mama, mostrando elevada acurácia na identificação do linfonodo sentinela e tornando a biópsia do Linfonodo Sentinela (BLS) um instrumento importante na mastologia atual.

Numa perspectiva histórica, Henry François lê Dran, em meados do século XVIII, descreveu a progressão do câncer de mama por via linfática, sendo, portanto, o primeiro estudo relacionando a drenagem linfática à progressão da neoplasia de mama (ROSES, 2005). Desde então, a drenagem linfática da mama foi estudada exaustivamente e sabe-se hoje que os vasos linfáticos da pele circundam a auréola e o mamilo, drenando para linfonodos axilares ipsilaterais, cervicais profundos, deltopeitorais e linfonodos da cadeia torácica interna. O fluxo linfático é centrífugo, dos vasos linfáticos intramamários e subcutâneos profundos em direção aos linfonodos mamários internos e axilares. (ROSES, 2005).

O Instituto de Câncer Jonh Wayne iniciou as pesquisas da BLS em câncer de mama, onde Giuliano publicou seus achados de mapeamento do câncer de mama, usando azul patente (GIULIANO, A. E. et al., 1994). Em 1992, Alex e col. injetaram tecnécio e introduziram a técnica de cirurgia guiada por gama probe na identificação do linfonodo sentinela. Krag et. al.

publicaram estudo sobre linfonodo sentinela, utilizando o Tc99 associado ao uso de sonda para detecção de raios gama, em melanoma; a seguir, os seus resultados em câncer de mama concluíram que a radiolocalização e a ressecção seletiva do linfonodo sentinela eram viáveis e podem prever o estado linfonodal axilar (KRAIG, DN et al., 1993).

Em 1995, foi desenvolvido o primeiro trabalho clínico randomizado (TCR) comparando BLS e EA no câncer de mama, demonstrando igual eficácia, acurácia e menor morbidade da BLS (VERONESI et al., 1997). Em 1997, realizaram a validação histopatológica do linfonodo sentinela e demonstraram que quando o LS é negativo, ou seja, livre de metástases, a probabilidade de envolvimento de outros linfonodos é $< 0,1\%$ (TURNER et al., 2000).

A validação do método de pesquisa do linfonodo sentinela em mama teve nos primeiros trabalhos de Giuliano o conceito de que: “o carcinoma primário da mama dissemina-se para a axila através de uma via específica de linfonodos que não pode ser identificadas por uma amostra randomizada”. (GIULIANO, 1999).

Em estudo que analisou 1385 pacientes com câncer de mama, verificou-se com a técnica do linfonodo sentinela uma sensibilidade de 94% e 100% de especificidade quando comparada com o esvaziamento linfonodal axilar, como também, a acurácia de 98%, com valor preditivo positivo de 100% e valor preditivo negativo de 97% (MCMASTERS et al., 2000).

No início dos trabalhos sobre drenagem linfática tumoral se pensava que tumores em variados quadrantes drenavam para LS diferentes (ESTOURGIE et al., 2004). Nos últimos anos, várias evidências sobre a anatomia funcional da drenagem linfática da mama, como também o aumento do uso do mapeamento linfático e da experiência na BLS, fortaleceram as evidências que suportam a teoria de que os linfáticos da glândula mamária drenam por meio de poucos troncos linfáticos aferentes comuns para linfonodos sentinelas, independentes dos quadrantes onde se origina o tumor (BORGSTEIN et al., 2000; CHAO et al., 2001; GRANT; TABAH; ADAIR, 1953; HALSELL et al., 1965; KLIMBERG et al., 1999; NATHANSON et al., 2001; TURNER-WARWICK, 1959; TUTTLE, 2004). A teoria embriológica comum defende a hipótese de que todo parênquima mamário e a pele que cobre a mama drenam para um mesmo linfonodo axilar, em razão de sua origem embriológica comum, portanto, respaldam as afirmações retromencionadas (NIEWEG et al., 2004).

A tentativa de avaliar seletivamente a axila, visando a reduzir a morbidade, é um estímulo à busca por métodos menos agressivos, uma vez que não se tem benefícios em termos de sobrevida, quando se compara o paciente com axila clinicamente negativa com ou sem

esvaziamento axilar. Com suporte nesses pressupostos, a amostragem axilar foi uma tentativa frustrada de minimizar efeitos colaterais, pois carrega o risco de não estadiar corretamente à axila por tratar-se de um estudo aleatório e denotar índices de linfedema de 8,3%, apesar de menor do que o EA (GRAVERSEN et al., 1988).

Portanto, a BLS na mama visa a estadiar adequadamente e preservar a axila nos casos de linfonodo sentinela negativo, evitando a morbidade importante que traz o EA, como: linfedema dos membros superiores ipsilateral, neuropatias, atrofia muscular, ombro dolorido, restrições do movimento do braço, além de importantes complicações cirúrgicas como o seroma, a infecção, lesão do plexo braquial e linfangiossarcoma (XAVIER et al., 2002).

Pacientes que se submeteram a biopsia do LS, quando comparados com aqueles que realizaram esvaziamento axilar, têm menor morbidade física e psicológica, além de, significativamente, menores taxas de utilização de drenos, tempo operatório, permanência hospitalar e tempo de retorno às atividades normais (MANSEL et al., 2006; PURUSHOTHAM et al., 2005; VERONESI, UMBERTO et al., 2003)

A taxa de recorrência axilar de paciente submetidos à biopsia de LS negativos tem, nos trabalhos de Naik et al., (2004) e Veronesi et al., (2005), baixas taxas respectivamente de 0,12% e 0,31%, com acompanhamento acima de 31 meses. A sobrevida dos pacientes com linfonodo sentinela negativo foi de 98% em cinco anos.

Como todo procedimento cirúrgico, apesar de expressar morbidade menor que o EA, a mais importante complicação associada à biopsia do linfonodo sentinela é o resultado falso negativo que pode não se tornar aparente por anos, mas pode afetar adversamente a decisão de terapia adjuvante em curto prazo (MCMASTERS; WONG; MARTIN, 2001). Outras complicações associadas à BLS são: seroma, hematoma, infecção, perda de sensibilidade do braço, desconforto do ombro, deficiências sensoriais, lesão do plexo braquial, morbidades de ordem psicológica e "axillary web syndrome" que é um cordão fibroso ao longo da parte superior interna do braço (WILKE et al., 2006).

A biopsia do linfonodo sentinela, quando comparada com a técnica de esvaziamento axilar, tem morbidade e custo menores, e é tão fidedigna, ou mais, no estadiamento axilar, por permitir um estudo anatomopatológico intensivo e mais completo daqueles linfonodos que tem maior probabilidade de apresentar metástases. Refinamento das técnicas como a utilização de imuno-histoquímica, cortes seriados e talvez PT-PCR (reação reversa em cadeia transcriptase-polimerase) podem, quando incorporadas na prática, aumentar a sensibilidade em

detectar pequenos depósitos metastáticos nos linfonodos positivos, que poderiam passar despercebidos no exame patológico tradicional e garantir taxas mínimas de falsos negativo (HAID et al., 2002; PENDAS et al., 1999; PIATO et al., 2008; SOMASUNDARAM; CHICKEN; KESHTGAR, 2007; WEAVER et al., 2000).

O estudo do American College of Surgeons Oncology Group – ACOSOG - Z011, com relação à morbidade, ratificou a hipótese de que a BLS tem menor morbidade (25%) comparada à BLS seguida do esvaziamento axilar (70%) (CAUDLE et al., 2011). Foram classificados como complicações as infecções, seromas, parestesias, lesões do plexo braquial e linfedema. Com relação, especificamente, ao linfedema foi evidenciado após BLS em 2 a 7 % dos casos e em 25% dos casos com esvaziamento axilar (LUCCI et al., 2007; SHAH-KHAN; BOUGHEY, 2012; WILKE et al., 2006).

Embora as técnicas utilizadas na BLS tenham evoluído e muitos protocolos e consensos já estejam estabelecidos, existe uma variabilidade de circunstâncias clínicas, características do tumor, técnica ideal, dentre outros aspectos que ainda causam controvérsias e são motivos de estudos na BLS.

As técnicas iniciais de injeção na BLS no câncer de mama objetivavam representar a via de drenagem das metástases tumorais, uma vez que os corantes ou radiofármacos eram injetados na região peritumoral. Com o melhor entendimento da drenagem linfática da mama, técnicas de injeção superficial foram implementadas (CHAGPAR et al., 2004; MCMASTERS et al., 2001). Com suporte nesse conhecimento a maioria dos centros adotou essas técnicas de injeção superficial: subdérmica, intradérmica, subareolar ou periareolar; pois são tecnicamente fáceis e de alta reprodutibilidade e proporcionaram taxa de identificação mais elevada e taxa de falso-negativo menor do que a injeção peritumoral (LYMAN et al., 2005).

Com relação ao tamanho do tumor, a BLS é indicada em mulheres que exprimem baixo risco de metástases axilares, ou seja, pacientes com tumores T1 (≤ 2 cm) e T2 (≥ 2 cm ≤ 5 cm) segundo recomendação da ASCO, 2005. Em suma, pacientes com tumores pequenos e axila clinicamente negativa são candidatas a BLS. Em relação aos tumores grandes e avançados, ainda não existem dados que suportem a pesquisa do LS (LYMAN et al., 2005). Apesar de que em um terço dos casos de grandes tumores, maiores de quatro cm, não apresentam metástases axilares e não se beneficiariam do esvaziamento axilar (FILIPPAKIS; ZOGRAFOS, 2007).

A curva de aprendizado na BLS é definida como a experiência necessária para minimizar a taxa de falso negativo na BLS, que deve ser inferior a 5%. A casuística é considerada fator que interfere diretamente na possibilidade do sucesso e da acurácia em identificar o linfonodo sentinela. Portanto, a experiência do cirurgião é um fator importante para aumentar o índice de identificação do LS e minimizar a taxa de falso negativo na biopsia do linfonodo sentinela em câncer de mama. Inúmeros trabalhos avaliam a curva de aprendizado dos cirurgiões na BLS e a variação na indicação de número mínimo de procedimento que avaliariam como apto a realizar a BLS oscila de 20 a 80 procedimentos (BASS et al., 1999; CODY, 1999; KRAG, DAVID et al., 1998; TAFRA et al., 2001).

O cirurgião deve realizar no mínimo 20 procedimentos de biopsias, antes de abandonar rotineiramente a dissecação axilar (MCMASTERS et al., 2001). Alguns trabalhos exprimem diminuição do número mínimo de casos necessários para superar a curva de aprendizado, mas centros, como a American Society of Breast Surgeons e American College of Surgeons Oncology Group, advogam a necessidade de, no mínimo 20, casos de BLS em associação com esvaziamento axilar ou com monitorização, com o objetivo de alcançar taxas de identificação de 85% e falso negativo de 5% ou menos (LYMAN, 2005). Com origem nessa casuística, o cirurgião encontra-se habilitado a realizar estudos nessa área (EAST et al., 2009; MCMASTERS et al., 2001; TAFRA et al., 2001).

Muitos experimentos mostram que a biopsia do linfonodo sentinela tem indicação para estadiamento axilar em pacientes de quaisquer idades. Apesar disso, pacientes com 50 anos ou mais, expressam uma diminuição nas taxas de identificação do linfonodo sentinela, além de apresentar contagem de radioatividade nos LS inversamente proporcional à idade (COX et al., 2002; MCMASTERS et al., 2001). O mesmo acontece com aqueles com obesidade e sobrepeso que cursam com um aumento na incidência de falência na BLS, portanto, os cirurgiões devem estar atentos, para esse viés. A associação de métodos (radiocoloide e azul patente) e o uso de injeções dérmicas podem aumentar a identificação nos pacientes com idade avançada e aumento no índice de massa corpórea (CODY et al., 2001; FILIPPAKIS; ZOGRAFOS, 2007).

A segurança e a realização da pesquisa do linfonodo sentinela durante a gravidez permanecem controversas. Corantes vitais não devem ser administrados em grávidas (LYMAN et al., 2005). Radiocoloides, em virtude da rápida captação pelo sistema reticuloendotelial, são, provavelmente, seguros. Pesquisas recentes comprovaram que a BLS com radiocolóides não aumentam a mortalidade, malformação ou déficit mental em fetos

(GENTILINI et al., 2010). Mais estudos, entretanto, são necessários para assegurar a BLS como inócua a pacientes grávidas e não devem ser realizada em mulheres de menos de 30 semanas de gestação (FILIPPAKIS; ZOGRAFOS, 2007; LYMAN, et al., 2014).

No que tange aos tipos de tumor, o carcinoma inflamatório da mama em virtude do comprometimento da rede linfática subdérmica, exprime taxa de falso negativo muito alta, sendo desaconselhada a realização da pesquisa de LS nestes casos, assim como em tumores T4 (invasão de pele e /ou parede torácica) (LYMAN, GARY H et al., 2014; STEARNS et al., 2002).

Tumores multicêntricos foram, recentemente, avaliados no que concerne à utilização da BLS utilizando técnicas de injeção subdermal, intradérmica ou subareolar, sugerindo a possibilidade de BLS com sensibilidade e falso negativos semelhantes às mulheres com doença unifocal. Tal indicação baseia-se no fato de que recentes estudos demonstraram que todos os quadrantes da mama drenam por via de um aferente comum para um gânglio axilar comum (CHAO et al., 2001; KERN, 2002; KLIMBERG et al., 1999; KRAG, et al., 1993; LYMAN, et al., 2014; MARTIN et al., 2001; MCMASTERS et al., 2001; TUTTLE et al., 2002).

No carcinoma ductal *in situ* (CDIS), em virtude da baixa prevalência de metástase, não se justifica a indicação rotineira. A BLS é recomendada nos casos em que a mastectomia está indicada e não existe a possibilidade de realização de BLS após a cirurgia ou nos casos em que a reconstrução imediata está planejada. Nos casos de CDIS a BLS, pode superestadiar e supertratar, sem benefícios do prognóstico (LYMAN et al., 2005; LYMAN, et al., 2014).

A BLS não é recomendada quando existe suspeita clínica de linfonodos axilares palpáveis. Se, durante procedimentos de BLS, linfonodos suspeitos são encontrados, estes devem ser removidos, mesmo que não capturem corantes ou radiomarcador, pois as vias linfáticas podem estar obstruídas por células tumorais (CODY et al., 2001). Estudos indicam taxas de falso positivo em 25% dos casos de exames clínicos de axilas positivas (LYMAN et al., 2005; LYMAN, et al., 2014).

As indicações de BLS são baseadas em recomendações e nível de evidência, Veronesi et al, em 2003, descobriram que não havia recorrência em pacientes com BLS negativa, livre de tumor, e que não havia sido realizado o EA; além de não comprometer a sobrevida de curto prazo quando comparados aos que realizaram EA (VERONESI, U. et al., 2003).

A Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO) publicou a primeira vez em 2005 e, agora, em 2014, os *guideline* baseados em evidências clínicas na BLS para pacientes com

câncer de mama inicial. A prática mudou com a incorporação de testes clínicos randomizados (TCR), mas muitos pontos, ainda permanecem em aberto, principalmente sobre a acurácia da BLS em situações especiais (LYMAN et al., 2005; LYMAN, et al., 2014)

Estudos nos quais os linfonodos sentinela positivos eram os únicos nodos positivos, foram encontrados em no mínimo 50% dos casos com câncer de mama em estádios precoces, têm sugerido que somente a biopsia oferece controle local na maioria dos casos (ALBERTINI et al., 1996; GIULIANO, ARMANDO E et al., 1994).

O American College of Surgeons Oncology Group – ACOSOG- realizou um estudo prospectivo randomizado – Z0011, demonstrou sobrevida equivalente em 891 pacientes com câncer de mama T1-T2, N0, que realizaram cirurgia conservadora, com até dois linfonodos positivos, randomizados para receber BLS exclusiva ou BLS seguida de esvaziamento axilar. Radioterapia total da mama em campos tangentes foi programada para os dois grupos, assim como terapia sistêmica. Após 6,3 anos de seguimento, a incidência de recorrência nos dois grupos foi menor do que 1 %, sem diferença estatística. Não houve diferença na sobrevida global entre os grupos estudados (GIULIANO et al., 2010).

O estudo 23-01 randomizou 934 pacientes T1-T2, N0 com micrometástase para receber BLS ou EA. Nesse estudo 25% realizaram mastectomia e, portanto, não receberam radioterapia. A sobrevida livre de doença e sobrevida global foram semelhantes em ambos os grupos. Portanto, o EA não é necessário em todos os casos de axila positiva, devendo-se individualizar os casos (GALIMBERTI et al., 2013).

Na última década, o emprego da quimioterapia neoadjuvante (QT NEO) possibilitou ampliar a indicação de cirurgia conservadora, sobretudo naquelas que obtiveram respostas clínicas e radiológicas completas. Nessas situações, questiona-se a utilização do EA, níveis I e II, sobretudo após observação de que 50-58% dos casos em que foram esvaziados, os linfonodos encontravam-se livres de tumores. A BLS é tecnicamente factível depois da terapia sistêmica pré-operatória. Em razão da possibilidade de erradicação de focos de doença em linfonodos axilares, alterações histológicas da mama e da drenagem linfática, o significado clínico em longo prazo desses achados axilares na BLS, depois da quimioterapia pré-operatória, permanece obscuro. (CHARFARE; LIMONGELLI; PURUSHOTHAM, 2005; KUEHN, THORSTEN et al., 2005; MAMOUNAS et al., 2005).

O Sentina Trial, estudo realizado para avaliar o momento da realização da BLS em 1738 pacientes candidatas a QT NEO, dentre os principais conclusões, nos pacientes que apresentaram conversão do linfonodo positivo para negativo, durante a QT NEO, a taxa de

identificação da BLS foi significativamente menor e o falso negativo foi maior, comparado àqueles que realizaram BLS pré - QT NEO (KUEHN, T et al., 2012).

Outro estudo o ACOSOG Z1071, incluiu mulheres com T0-T4, N1-N2, que receberam QT NEO, realizaram BLS e em seguida o EA. Foram incluídas 708 mulheres. Destas a taxa de identificação da BLS foi de 92,5%. O falso negativo foi de 12,8%, quando dois linfonodos foram examinados. Naquela que utilizaram métodos combinados azul + radionuclídeo, o falso negativo foi de 11,1%. Foi observado a resposta completa do linfonodo (cN1 para ypN0) em 40% dos casos. Nas pacientes BLS positivo, este foi único em 40% dos casos. Em pacientes N1-N2, em que houve ressecção de três linfonodos na BLS, o falso negativo diminuiu para 8,3% (BOUGHEY et al., 2013).

Em 2014, a ASCO atualizou as recomendações, incorporando a atualização das revisões sistemáticas e recomendações das pesquisas recentes, ratificando o fato de que mulheres sem metástase axilares não devem se submeter ao esvaziamento axilar. Mulheres com uma ou duas metástases em linfonodos sentinelas, que se submeterão a cirurgia conservadora e radioterapia da mama, na maioria dos casos, não devem se submeter a dissecação axilar. Como também, as mulheres com câncer de mama operáveis e tumores multicêntricos, as com carcinoma ductal *in situ* que se submeterão à mastectomia, as que se submeteram a cirurgias prévias de mama e/ou axila, ou aquelas que receberam terapia sistêmica pré-operatório/neoadjuvante podem ser submetidas a BLS (LYMAN, et al., 2014).

As contraindicações da BLS em 2005, ratificadas na atualização de 2014 pela ASCO são: tumores grandes e localmente avançados (T3/T4); câncer de mama inflamatório; CDIS quando programado a cirurgia conservadora e gravidez. (LYMAN et al., 2005; LYMAN, et al., 2014)

1.4.2 Marcadores Do Linfonodo Sentinela

Vários marcadores de linfonodos são desenvolvidos, desde o aumento na indicação da BLS em vários tumores e, principalmente, no câncer de mama. Diversos corantes, substâncias radioativas, partículas magnéticas, nanopartículas, substâncias fluorescentes, dentre outras, compõem o arsenal de substância usadas na identificação do linfonodo sentinela em todo o Mundo (Breast Cancer - Recent Advances in Biology, Imaging and Therapeutics, 2011).

O azul patente, um dos corantes mais usados no mundo, pode causar efeitos adversos sutis e até chegar a reações severas de hipersensibilidade. O azul de metileno também pode causar sérias reações, incluindo necrose de pele e gordura no local da injeção. Reações anafiláticas com o Isossulfan ou azul patente em pacientes submetidos a BLS devem ser de conhecimento do cirurgião e anestesista (SLETH, 2008).

Três métodos de mapeamento do BLS são atualmente considerados padrão ouro: (1) marcador radioativo, (2) corante azul, e (3) uma combinação de ambos. A combinação de marcador radioativo e corante azul atualmente relata as taxas mais elevadas de identificação (95%) e menores taxas de falso negativos (10%). Inúmeros trabalhos validam a pesquisa do linfonodo sentinela na mama utilizando técnicas com corante azul patente e/ ou substância radioativa guiado por gama probe, injetados no espaço subpapilar. Estes métodos têm sensibilidade e especificidade semelhantes na pesquisa do linfonodo sentinela da mama. As técnicas mostram-se complementares, de alta acurácia e aumentam a eficácia quando os métodos são associados (CSERNI et al., 2002; D'EREDITA et al., 2002; REITSAMER et al., 2003; XAVIER et al., 2002; ZENGEL et al., 2012).

A injeção do corante azul facilita, no ato cirúrgico, a identificação da drenagem linfática do tumor por impregnação na rede linfática, o que possibilita, seguindo a trama dos ductos linfáticos corados, identificar o primeiro linfonodo que recebe o marcador, o LS. Dentre os principais registram-se: azul patente, azul isossulfan e azul de metileno. Esses marcadores corantes são muito utilizados na BLS e, em revisão recente da literatura, que incluem os vários tipos de corantes, revelam um expressivo número de reações de hipersensibilidade (KALIMO et al., 1981). Esses corantes expressam, como desvantagens, o fato de não poderem ser visualizados através da pele e tecido adiposo; possibilidade de tatuagem temporária da mama, com resolução espontânea em pouco tempo, na maioria dos casos, e algumas com duração de vários meses (VARGHESE et al., 2007); necrose da pele pode ocorrer com injeções subdérmica e reações alérgicas, com casos de anafilaxia descritos (SIMMONS et al, 2003; SALHAB et al., 2005; GOLSHAN; NAKHLIS, 2006; VARGHESE et al., 2007).

A incidência de reações anafiláticas com o azul de isossulfan e o azul patente variam de 0,6% e 2,7% em BLS (SCHERER, 2006). Mertes et al (2008) reportaram 14 casos clínicos de anafilaxia induzidas por corantes durante os anos de 2004 e 2006 em quatro centros de alergoanestesia na França. Todos os pacientes apresentaram reações de hipersensibilidade ao azul patente durante BLS em câncer de mama. Nesse estudo, 43% dos pacientes tiveram

reações graves (colapso cardiovascular, taquicardia ou bradicardia, arritmias e severo broncoespasmo) e 64% destes necessitaram de infusão prolongada e contínua de epinefrina e transferência para unidades de tratamento intensivo. Wohrl et al (2004) descreveram um caso próximo de fatalidade por anafilaxia em decorrência do uso de azul patente em BLS em paciente com melanoma que desenvolveu parada cardíaca que requereu manobras de reanimação cardiovascular depois de injeção intradérmica do corante.

A utilização de radiocoloides para LS oferece vantagens, pois são eficientemente retidos nos LS, podem ser utilizados no pré-operatório para identificação da quantidade de linfonodos; localizam linfonodos em locais usuais e não usuais; e anormalidades na drenagem linfática, com a confecção de imagens utilizando a gama câmara; facilita a identificação no intraoperatório, com a utilização do gama-probe pela equipe cirúrgica. Alguns estudos demonstrarem elevadas taxas de identificação, inclusive maiores do que em comparação com o azul patente (MANSEL; GOYAL, 2004).

Existem variações quanto aos diferentes tipos de coloide usados no Mundo (dextram, sulfúrico, albumina e antimônio trisulfide), mas o marcador radioativo usado é o tecnécio-99m, que é seguro, meia-vida física de apenas seis horas e viável em qualquer departamento de Medicina Nuclear (MARIANI et al., 2001; PAGANELLI et al., 1998).

Como desvantagens, os coloides radioativos são caros, exigem o envolvimento de um médico nuclear e não fornecem, em tempo real, orientação visual. O Tc99 tem uma meia-vida de 6 h e a injeção é geralmente realizada por pessoal de Medicina Nuclear e não pelos próprios cirurgiões. O que limita a sua capacidade disponível para os centros próximos que lidam com o seu isótopo-pai molibdênio-99 (^{99}Mo); este decai tão rapidamente que devem ser fornecidos a serviços de Medicina Nuclear do hospital com a regularidade a cada duas semanas e é produzido em apenas alguns reatores em todo o Mundo. A oferta também está sujeita a interrupção, remodelação ou comprometimento de instalações nucleares pendentes, como foi demonstrado no desastre nuclear de Fukushima Daiichi, no Japão, em 11 de março de 2011 (MAYES; DOUEK; PANKHURST, 2012).

A utilização de radioisótopos proporciona desafios logísticos para os hospitais. Isso inclui o manuseio e descarte de isótopos, formação de pessoal e nas exigências legais. Adicionalmente, os doentes podem expressar relutância à exposição à radiação especialmente na gravidez (MAYES et al., 2012). Esses fatores limitam a disseminação da BLS para hospitais no Mundo, sem acesso a radioisótopos. Embora a incidência de câncer esteja aumentando, o número de BLS permaneceu estático, com apenas cerca de 60% dos pacientes

no Ocidente, em uma estimativa de meio milhão, teve acesso ao procedimento (RESCIGNO; ZAMPELL; AXELROD, 2009). Este valor cai para 5% na China e é mínima no resto do Mundo (LEONG et al., 2010). Portanto, muitos hospitais estão limitados ao uso, somente, do corante, para executar sua biopsia, por causa da falta de acesso aos isótopos radioativos ou recursos insuficientes (AHMED; DOUEK, 2014).

O emprego das técnicas combinadas, corante e radiofármaco, para identificação do LS, melhorou a taxa de identificação e diminuiu a taxa de falsos negativos na biopsia do LS (CSERNI et al., 2002; MANSEL; GOYAL, 2004). Alguns autores entendem o uso das duas técnicas como complementares na BLS (ALBERTINI et al., 1996; D'EREDITA et al., 2002).

Trabalhos demonstram a superioridade dos métodos combinados quando comparados a técnicas isoladas. A combinação das duas técnicas, comparadas ao corante isolado, permite um aumento nas taxas de identificação do LS de 0% a 18% (DEROSSIS et al., 2001; EAST et al., 2009). Embora alguns estudos não tenham evidenciado essa vantagem (BLESSING et al., 2002; MORROW et al., 1999; VARGHESE et al., 2007). Técnicas combinadas, segundo Cody et al., (2001), identificam 91% dos casos, com taxas de falsos negativos de 5%. A utilização da técnica combinada do radiocolóide e azul patente é de fácil exequibilidade, permitindo identificar localizações não usuais do LS, e diminui da curva de aprendizado nos centros de treinamentos; sendo atualmente a técnica preferida pelos cirurgiões na pesquisa do LS (DEROSSIS et al., 2001; GIULIANO et al., 2000; MCMASTERS et al., 2001; VERONESI et al., 2002).

1.5 O uso da hemossiderina na identificação do linfonodo sentinela

Pinheiro et al. (2009), após a realização de dois procedimentos de biopsias mamárias, observaram no pós-operatório das pacientes que a pele estava marcada na projeção dos ductos principais de drenagem linfática da mama, da aréola em direção aos linfonodos axilares (FIGURA 3). Tal fato chamou atenção para a possibilidade de que algum derivado do sangue, possivelmente oriundo do hematoma no sítio cirúrgico, fora capturado por macrófagos do sistema reticuloendotelial que, acessando a rede de drenagem linfática da mama, identificou o ducto linfático da mama até a axila, mecanismo analogamente descrito e conhecido na mobilização de depósitos de ferro dos seres humanos (CANÇADO; CHIATTONE, 2001).

Figura 3– Pele de paciente no pós-operatório de biopsia de nódulo mamário marcada com derivado de sangue, desenhando o ducto linfático principal da papila em direção à axila.

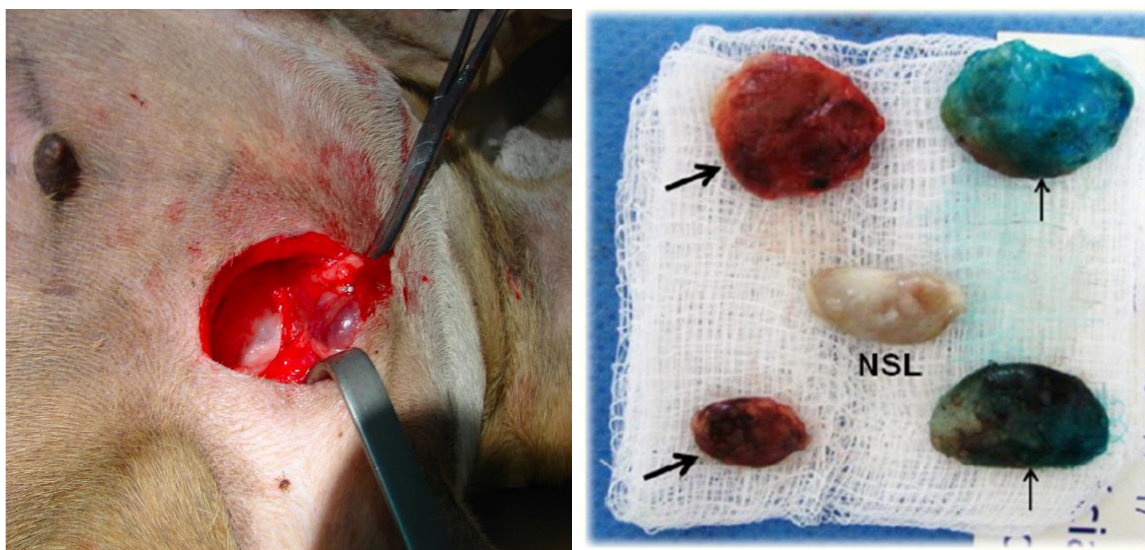


Fonte: Pinheiro et al, 2009.

A realidade de marcadores e corantes na realização da BLS é foco de muitos estudos e inovações. Pesquisa experimental comprovou a eficácia na BLS em cadelas com uso da hemossiderina, um corante autólogo derivado do sangue, que, associado ao tc99, obteve resultados semelhantes na identificação do linfonodo sentinela, quando comparados ao azul patente e tc99 (FIGURA 4). A identificação do linfonodo sentinela pela coloração vermelho escura/preto provocada pela hemossiderina, confirmada pela identificação de radiação do Tc99 e a comprovação pela patologia de que o LS estava saturado com a hemossiderina, sugeriu, em estudo experimental pré-clínico, a descoberta de um marcador do LS (PINHEIRO et al., 2009) .

Figura 4 - Avaliação macroscópica de LS em modelo experimental canino A) LS

marcado com hemossiderina, *in vivo*, na cadela. B) LS, *ex-vivo*, marcado com hemossiderina, azul patente e sem corante (NSL).



Fonte: Prof. Dr. Luiz Porto (2009)

O entendimento dos fenômenos fisiopatológicos que envolvem essa substância e o seu potencial como substância capaz de marcar o LS, derivado do ferro contido na hemoglobina, é hoje mais bem compreendido. O ferro pode armazenar-se, no organismo, sob a forma de ferritina ou de hemossiderina nas células do sistema mononuclear fagocitário (da medula óssea, do baço e do fígado), no parênquima hepático e no musculoesquelético. Aproximadamente 25% do ferro do organismo de um adulto normal encontra-se sob a forma de armazenamento, cerca de dois terços sob a forma de ferritina e o restante como hemossiderina. Em condições anormais de acúmulo de ferro no organismo, o armazenamento do ferro sucede, principalmente, sob a forma de hemossiderina (FREITAS et al., 2009).

Quando a oferta de ferro ao sistema reticuloendotelial (SRE) é muito grande, por exemplo, em anemias hemolíticas, ou após transfusões de sangue, as moléculas de ferritina podem saturar-se. As micelas de hidroxifosfato férrico agregam-se, resultando em uma partícula maior do que a ferritina normal, que passa a ser visível ao microscópio óptico na forma de grânulos de hemossiderina. A percentagem de ferro em relação à proteína é maior na hemossiderina do que na ferritina, e a mobilização do ferro é mais difícil (CANÇADO; CHIATTONE, 2001).

O ferro armazenado nas células do sistema mononuclear fagocitário tem uma capacidade de troca mais dinâmica do que em outros sítios. Esse fato determina que o sistema mononuclear fagocitário desempenhe, além de importante local de depósito, papel

fundamental na cinética interna do ferro. Trabalho experimental, quantificando a capacidade dos linfonodos em reter células tumorais e eritrócitos, documentou que a barreira linfonodal era capaz de reter 90% dos eritrócitos e 40% das células tumorais. Isto já sinalizava para uma eficiência seletiva dos linfonodos em reter no seu interior, por meio do sistema reticuloendotelial, células sanguíneas e tumorais (FREITAS et al., 2009).

A hemossiderina, um pigmento resultante da degradação da hemoglobina, representa uma das duas principais formas de armazenamento intracelular de ferro. No modelo experimental proposto por Pinheiro et al (2009), teoricamente, os macrófagos que compõem o sistema reticuloendotelial fagocitam os eritrócitos lisados, da solução injetados na região subareolar da mama e através da rede linfática da mama, saturam o LS com a hemossiderina, alterando a coloração do LS, permitindo sua identificação durante a BLS e quando corado com azul-da-prússia (Reação de Perls) reage com ferrocianeto de potássio, onde ao microscópio óptico, resulta em um produto de tom azul-esverdeado, denominado ferrocianeto férrico, constituído por ferro +++ (CANÇADO; CHIATTONE, 2001).

A BLS é um importante meio na avaliação prognóstica e preditiva e uma prática consolidada na abordagem axilar do câncer de mama. Em virtude do aumento na indicação desse método na condução terapêutica oncológica, houve necessidade de aprofundamento no conhecimento dos efeitos adversos associados aos corantes e substâncias radioativas utilizados na identificação do linfonodo sentinela. Em função disso, tornou-se imperativa a descoberta de substâncias equivalentes e com menores efeitos colaterais às usadas na BLS.

Estudo pré-clínico experimental que testou a hemossiderina, um derivado da hemoglobina do sangue, mostrou a eficácia desse corante na identificação do LS na mama de cadelas, abrindo perspectivas para sua utilização em seres humanos.

A relevância da realização desse estudo clínico com a hemossiderina justifica-se por ser uma substância autóloga potencialmente sem efeitos colaterais e, possivelmente, com sensibilidade semelhante àquelas tradicionalmente utilizadas na prática da BLS. É alternativa aos marcadores considerados, atualmente, como padrão-ouro na prática clínica da avaliação axilar em mulheres com cancer de mama. Poderá, ainda, proporcionar maiores benefícios e menor morbidade à BLS, além de ser testado pela primeira vez em seres humanos.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a segurança e a potencial equivalência do uso da hemossiderina em comparação com o tecnécio 99, na identificação do linfonodo sentinela da mama humana.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar a segurança da hemossiderina na identificação do linfonodo sentinela no câncer da mama humana.

Identificar o linfonodo sentinela, utilizando a hemossiderina e o radiomarcador tecnécio 99 injetado no espaço subpapilar da mama humana.

Analisar a taxa de concordância entre a hemossiderina e o radiomarcador tecnécio 99.

3 MÉTODO

3.1 Aspectos éticos

O estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos de Helsinki, com as normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde do Brasil e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará, em 10 de agosto de 2010, sob o protocolo de número: 073.07.10.

A paciente com câncer de mama e com indicação de BLS foi informada acerca do estudo e convidada a participar. Também restou esclarecido o fato de que a sua participação era voluntária e que não haveria nenhum constrangimento seja para si e/ou prejuízo ao tratamento caso não aceitasse o convite. Das que aceitaram, somente após a compreensão dos procedimentos, risco e benefícios, foi solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e autorizado a inclusão no estudo (APÊNDICE A).

3.2 Ambiente de pesquisa

Experimento, realizou-se no HUWC/MEAC- Hospital Universitário Walter Cantídio/ Maternidade Escola Assis Chateaubriand, no Complexo Universitário da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará- Brasil. Os experimentos foram iniciados em setembro de 2011 e concluídos em setembro de 2013, perfazendo um total de 14 (quatorze) procedimentos cirúrgicos e por equipe médica única.

3.3 Universo e seleção de pacientes

A população do estudo foi formada por voluntárias, portadoras de câncer de mama, com tumores iniciais T1/T2 e axila clinicamente negativa. Elas deveriam ter indicação de biopsia de linfonodo sentinela (BLS).

As pacientes foram selecionadas durante o período de setembro de 2011 a setembro de 2013 no Ambulatório em Mastologia da Maternidade Escola Assis Chateaubriand-MEAC. Esse ambulatório de referência terciária atende mulheres com queixas mastológicas gerais referenciadas àquele serviço, oriundas das Unidades Básicas de Saúde da Família de Fortaleza/CE. Passaram pela primeira avaliação especializada por mastologistas do serviço, após triagem, as mulheres diagnosticadas com câncer de mama, com tumores iniciais e axila clinicamente negativa, foram encaminhadas a uma segunda avaliação, desta vez com o cirurgião responsável pelos experimentos do trabalho. Após avaliação dos critérios de inclusão, checagem de exames pré-operatórios, estadiamento, esclarecimento técnicos e éticos da pesquisa, as pacientes foram selecionadas.

O número de participantes foi uma representação da população para o estudo clínico proposto. Foram selecionadas 14 mulheres portadoras de câncer de mama, para testar o novo corante derivado do sague autólogo, a hemossiderina, na BLS. Por se tratar de um estudo, em que essa “substância” foi administrada pela primeira vez em seres humanos, a seleção foi composta com número de casos suficiente para compor o estudo clínico Fase I, conforme Goldim (2007).

3.4 Critérios de inclusão

Pacientes, sexo feminino, com tumores T1(≥ 2 cm) e T2($>2\text{cm} \leq 5\text{cm}$), com indicação para a pesquisa de linfonodo sentinela.

3.5 Critérios de exclusão

Pacientes com neoplasias avançadas (T3 e T4); com indicação ou que realizaram quimioterapia neoadjuvante; com neoplasia inflamatória da mama; grávidas; pacientes que apresentaram cirurgias prévias não oncológicas de mama ou cirurgia axilar prévia, presença de linfonodos axilares palpáveis suspeitos de comprometimento.

3.6 Materiais

3.6.1 Equipamentos de radiolocalização

Gama probe - duas unidades, do Grupo de Educação e Estudos Oncológicos-GEEON

Modelos

- Gama probe NuclearLab modelo DGC-II. Fabricado por; NuclearLab. Argentina
- Navigator-GPS. Fabricado por: RMD Instruments Corp. USA

3.6.2 Materiais de coleta, manipulação e câmara de fluxo laminar na produção da hemossiderina

Todo o material de coleta, manipulação da hemossiderina em câmara de fluxo laminar, foi cedido e realizado pelo Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – Hemoce.

3.6.3 Substâncias radioativas

O radiofármaco utilizado foi o colóide fitato, marcado com Tecnécio 99 - fornecido por Clínica de Radiologia e Medicina Nuclear. O material radioativo foi preparado no dia do procedimento, sendo utilizado as dose inferiores a 0,5 mCi.

3.6.4 Material cirúrgico

Todo o material cirúrgico utilizado neste estudo procedeu dos centros cirúrgicos do HUWC e MEAC.

3.7 Desenho do estudo

O estudo clínico experimental, fase I, do tipo prospectivo, não randomizado, aplicado em seres humanos. A pesquisa clínica de Fase I é um tipo de estudo que tem como objetivo testar pela primeira vez em seres humanos um novo princípio ativo, ou uma nova formulação de uma substância. Este tipo de pesquisa é realizado, por conceito, em um pequeno número de pessoas voluntárias, uma vez que não se conhecem a segurança, os possíveis efeitos adversos, a toxicidade e a dose necessária para uso terapêutico (CANÇADO, 2001).

Após a seleção das mulheres com critérios para participar da pesquisa, uma semana antes da cirurgia, todas as participantes foram submetidas a avaliação clínica e exames pré-operatórios, checando se estariam aptas ao procedimento cirúrgico proposto e à inclusão na pesquisa. O perfil metabólico do ferro também foi avaliado previamente por meio do hemograma completo, das dosagens de ferro sérico, ferritina sérica, saturação de transferrina e capacidade total de fixação do ferro. Todos os dados referentes aos pacientes foram registrados numa ficha de registro-padrão para análise posterior de dados.

3.8 Preparo, administração e produção da hemossiderina

O preparo do corante autólogo derivado do sangue – hemossiderina - para utilização no estudo, foi obtido de uma amostra de 16 ml de sangue periférico, colhido 24h antes da cirurgia, no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará - Hemoce e acondicionados em dois tubos BD Vacutainer® de Citrato de Sódio Tamponado, de forma asséptica. Após a colheita do material, o tubo foi identificado à vista da paciente, colocando-se nos tubos de coleta, etiquetas com o nome da paciente, a data da coleta e o número sequencial de atendimento. Este número constava em todos os documentos, amostras, mapas de trabalho, relatórios e laudo final. Em seguida, de forma asséptica, o sangue foi centrifugado a 2000 rpm, 22°C, por 10 minutos (FIGURA 5).

Figura 5- Materiais e equipamentos utilizados para o preparo e produção da hemossiderina: A- Sangue acondicionado nos tubos Vacutainer® B- Centrifuga de laboratório

A



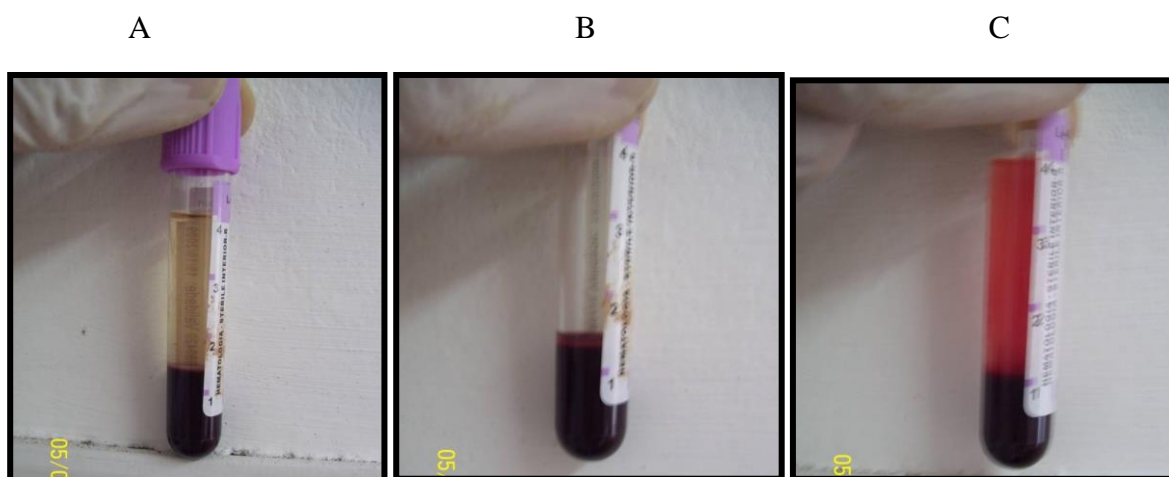
B



Fonte: Dados da pesquisa (2013)

O material centrifugado distribuiu-se em três fases no tubo de ensaio. As fases superior e intermediária (soro) foram descartadas e a camada (hemácias) inferior foi diluída, com soro fisiológico (NaCl 0,9%) em igual volume (ml) ao retirado, homogeneizado manualmente em câmara protegida por fluxo laminar (FIGURA 6).

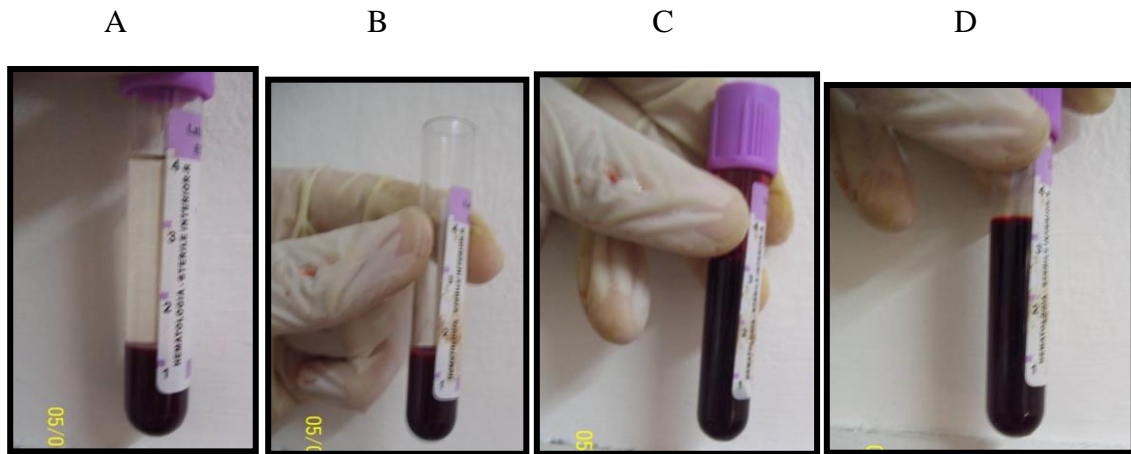
FIGURA 6 - 1ª Etapa de preparo da hemossiderina: sangue acondicionado nos tubos Vacutainer® A- Sangue após a primeira centrifugação B- Fases superior e intermediária (soro) foram descartadas C- A camada (hemácias) inferior foi diluída, com soro fisiológico (NaCl 0,9%) em igual volume (ml) ao retirado, homogeneizado manualmente em câmara protegida por fluxo laminar.



Fonte: Dados da pesquisa (2013)

A solução obtida foi novamente centrifugada (3800 rpm por três minutos), com o aparecimento de duas fases, a primeira das quais foi descartada, repondo o volume retirado com água bidestilada, na câmara de fluxo laminar, provocando a hemólise do concentrado de hemácias. Após terceira e última centrifugação (3800 rpm por três minutos), apresentou-se uma só fase de hemácias lisadas, em suspensão no líquido avermelhado (FIGURA 7).

FIGURA 7 - 2ª e 3ª Etapas de preparo da hemossiderina: A) solução obtida após a segunda centrifugação (3800 rpm por três minutos), com o aparecimento de duas fases B) descartada a primeira fase C) reposição do volume retirado com água bidestilada D) finalização do processo de produção do corante derivado do sangue autólogo, após terceira e última centrifugação (3800 rpm por três minutos), apresentou-se uma só fase de hemácias lisadas, em suspensão no líquido avermelhado.



Fonte: Dados da pesquisa (2013)

Esse hemolisado, rico em hemoglobina/ferro, foi injetado ambulatoriamente, com a paciente em decúbito dorsal, assepsia do sítio de injeção com álcool a 70%, anestesia local com xilocaína a 2%, sem adrenalina, na região periareolar externa da mama (3h), em punção única. Em seguida, foram injetados 4 ml do corante derivado do sangue autólogo, subareolar e, após a retirada da agulha, comprimiu-se o local com algodão durante um minuto (FIGURA 8.)

Figura 8 - Administração da hemossiderina na região subareolar na mama: A-injeção de 4ml do corante derivado do sangue autólogo subareolar B- local após a punção pequena equimose

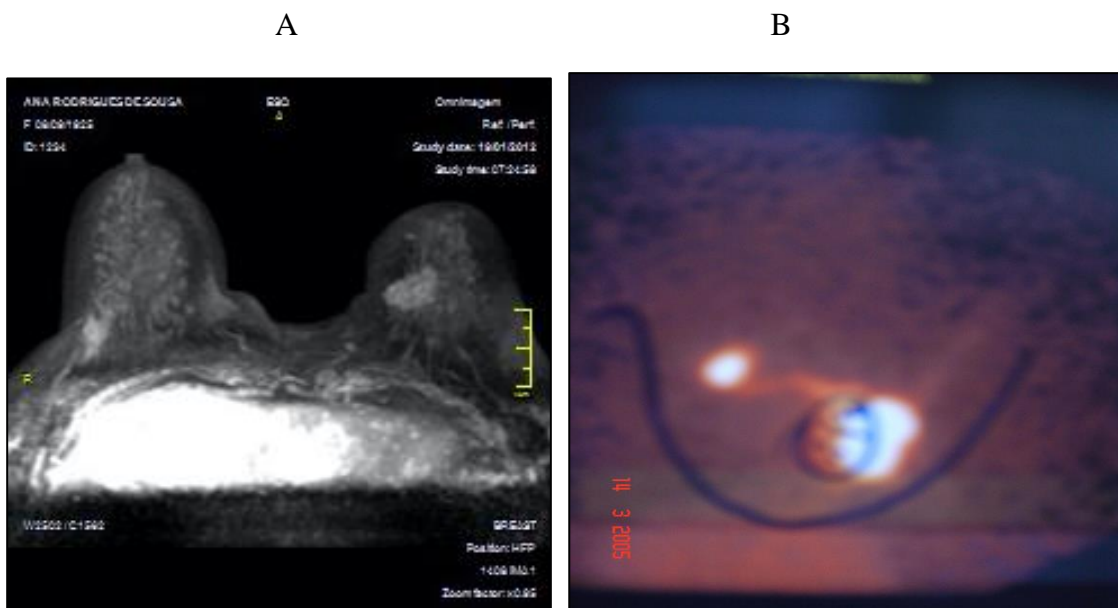


Fonte: dados da pesquisa (2013)

Após a administração, o corante derivado da hemoglobina do sangue, rico em ferro, injetado no subcutâneo da região subareolar da mama, foi, conforme Cançado, Chiattonne, (2001), fagocitado por macrófagos do Sistema Reticuloendotelial e, por meio de ampla rede linfática da mama, saturaram o linfonodo sentinela axilar de micelas de hidroxifosfato férrico, que, ao se acumularem, resultaram na formação e acúmulo de hemossiderina no linfonodo. A garantia da esterilidade do concentrado de hemácias hemolisadas foi rigorosamente controlada em todas as etapas e comprovada com realização de hemoculturas para bactérias e fungos em todas as amostras administradas nas mulheres participantes do estudo.

As pacientes foram internadas e avaliadas quanto a efeitos colaterais por 24 horas antes de se submeterem à cirurgia. Duas horas antes do procedimento cirúrgico, foram levadas à clínica de imagem e submetidas a ressonância nuclear magnética das mamas e axilas; logo após, foram realizadas a injeção intradérmica subareolar pré-operatória de 0,2 ml de Tc 99, utilizando doses inferiores a 0,5mCi, e a cintilografia mamária (FIGURA 9).

Figura 9 – Exames de imagem realizados no pré-operatório imediato: A- RNM das mamas e axila com a hemossiderina B-Cintilografia com a Tc99



Fonte: Dados da pesquisa (2013)

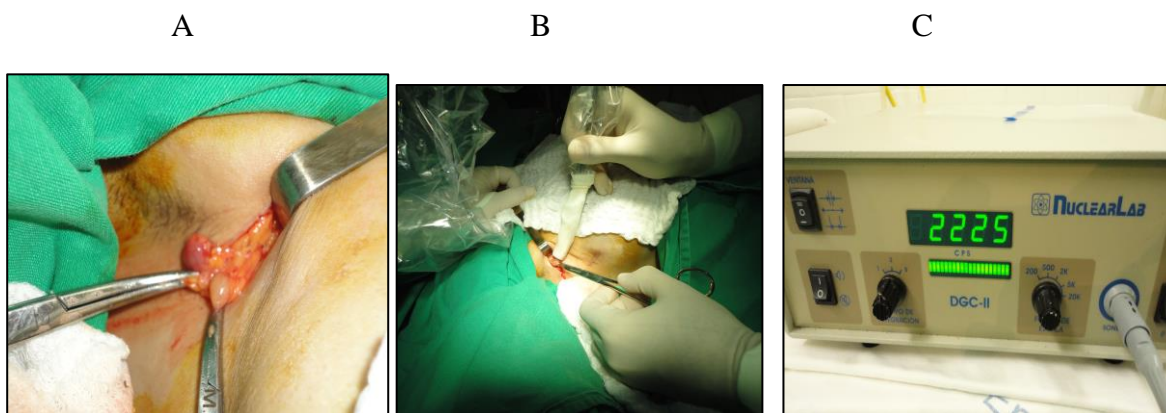
Fonte: Prof. Dr. Luiz Porto (2005)

Após os exames de imagem, as pacientes foram encaminhadas ao Centro Cirúrgico, onde, sob anestesia geral, foram submetidas ao procedimento cirúrgico. Foi realizada antibioticoprofilaxia com cefazolina 1 grama, endovenosa, diluída com 20 ml de água destilada, uma hora antes da incisão e mantido, na posologia de 8 em 8 horas, por tempo médio de 24 h no pós-operatório.

3.9 Biopsia do linfonodo sentinela

As pacientes foram submetidas a BLS, com incisão na prega axilar guiada pelo gama-probe, dissecação por planos até a identificação de ponto de captação máxima do Tc99, identificando-se os linfonodos marcados e as suas colorações (FIGURA 10).

Figura 10 – Identificação do linfonodo sentinela, utilizando-se da hemossiderina e gama-probe/Tc99: A) Identificação do LS marcado com hemossiderina B) Identificação do LS com o Tc99 C) Gama-probe, quantificando a impregnação do LS com Tc99



Fonte: Dados da pesquisa (2013).

Após a exérese dos linfonodos, foram verificados em cada um a intensidade de detecção do Tc99 pelo gama-probe e o nível de marcação pela hemossiderina, utilizando-se uma escala de tonalidades do vermelho ao preto (FIGURA 11).

Figura11 - Escala de classificação de tonalidades cor do LS corado com a hemossiderina

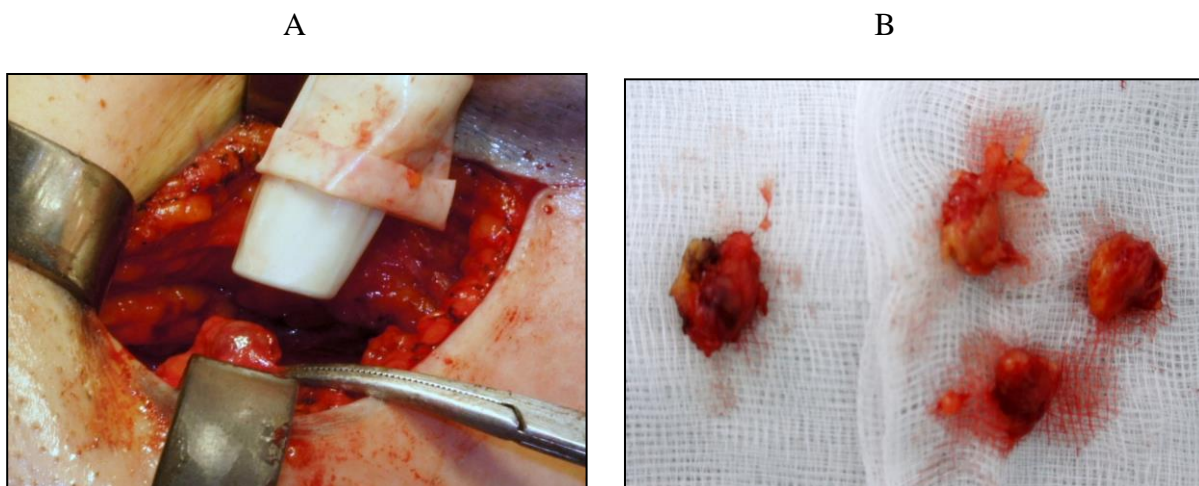
sem coloração	Vermelho-claro	Vermelho-escuro	Preto

Fonte: Elaboração própria. (2013).

A separação dos LS por categorias, tendo como classificação a escala das variações de cores, com gradação estruturada em quatro níveis desde o “não corou”, passando pelo vermelho (claro e escuro) e chegando ao preto, foi realizada por dois observadores, individualmente, o cirurgião e o auxiliar - sempre a mesma equipe. Foi possível separar os LS nos quatro grupos descritos, levando em consideração, primordialmente, o LS mais intensamente corado com a hemossiderina, se houvesse mais de um, e só classificando quando os dois avaliadores concordavam. Para que esses critérios saíssem da subjetividade individual, foi estabelecido que só estaria enquadrado numa categoria específica se: mais de 50% da superfície do linfonodo estivessem marcados com as colorações predominantes de cada

categoria (sem coloração, corado com vermelho-claro, corado com vermelho-escuro e preto) (FIGURA 12).

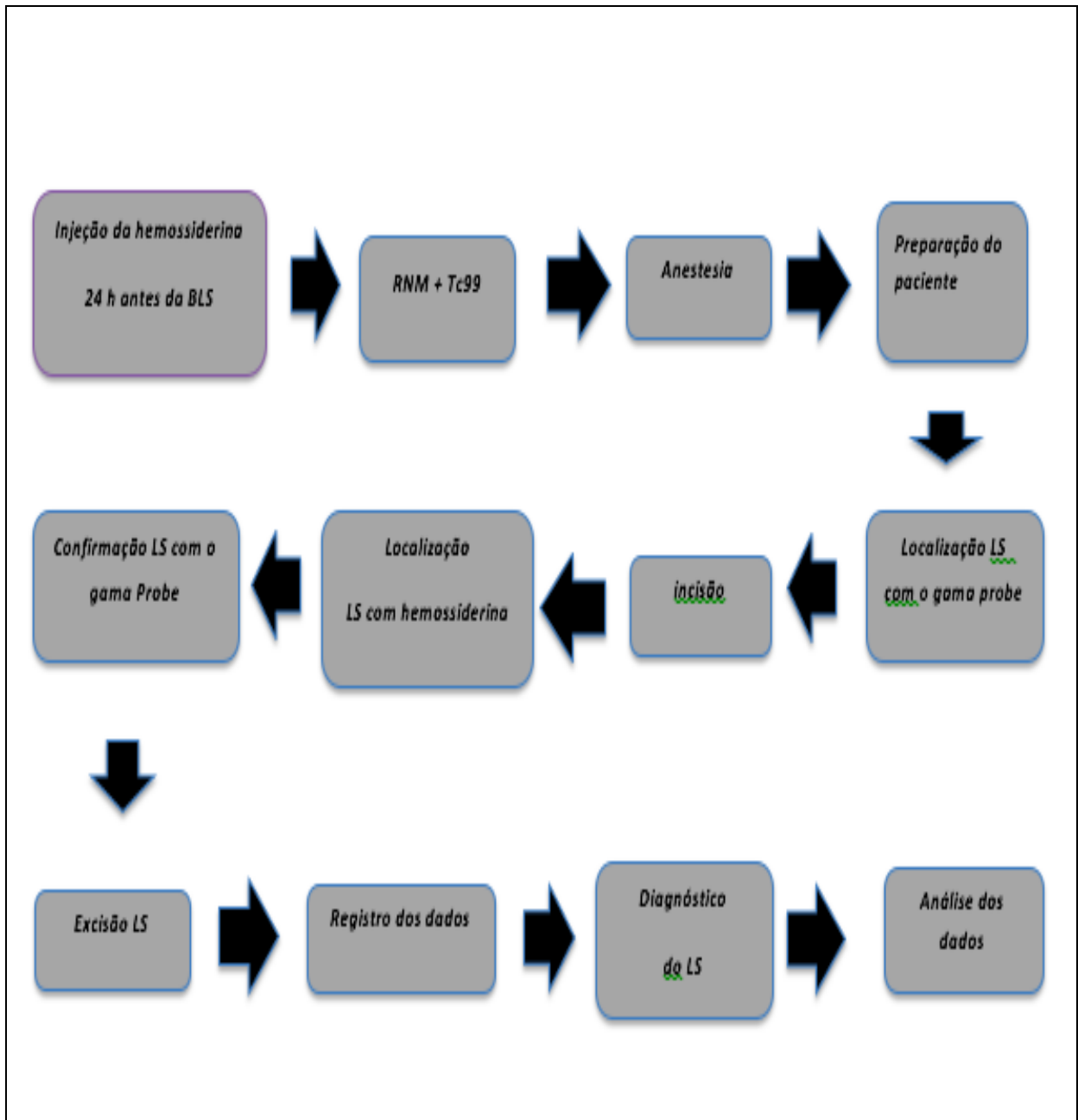
Figura 12 - Identificação do LS *in-vivo* e *ex-vivo*: A - LS *in-vivo* marcado com a hemossiderina e identificado com o Tc99 pela sonda do gama-probe B - LS *ex-vivo* corados com hemossiderina em vermelho escuro.



Fonte: Dados da pesquisa (2013)

Todos os dados foram registrados em uma ficha de coleta para fins de análise posterior (APÊNDICE B). Todas as peças cirúrgicas foram encaminhadas para estudo anatomopatológico e imuno-histoquímica. As pacientes foram acompanhadas durante todo o procedimento, desde a injeção da hemossiderina, até o pós-operatório e retorno com 7, 15 e 30 dias após a cirurgia (FIGURA 13).

FIGURA 13 -Fluxograma do estudo da BLS com Hemossiderina



Fonte: Elaboração própria (2015).

3.10 Análise estatística

Foi utilizado o programa gratuito, disponibilizado na internet, de análise estatística, Gafada Software: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>. Os dados foram avaliados calculando-se os valores de sensibilidade, especificidade, prevalência, acurácia e valores preditivos. A comparação dos resultados foi mostrada por meio da taxa global de concordância entre os examinadores e pelo indicador do Coeficiente de Concordância de Kappa. Valores de P menores e iguais a 0.05 foram aceitos como estatisticamente significantes.

4 RESULTADOS

4.1- Características dos pacientes do estudo da BLS com hemossiderina

As pacientes incluídas no estudo tinham idade média de 54,3 anos (mínima de 36 e máxima de 85), altura média de 156 cm (mínima de 143 cm e máxima de 172 cm) e peso médio de 68,4 kg (mínimo de 48 Kg e máximo de 88 kg). O Índice de Massa Corpórea (IMC) foi em média de 27,8 (mínimo de 22,1 e máximo 33,5). Quanto ao Estado Menopausal, quatro (28%) pacientes estavam na pré-menopausa e dez (72%) na pós-menopausa (Tabela 1).

Tabela 1 – Características das pacientes submetidas à BLS com hemossiderina. Fortaleza, Ceará, 2015.

Características	Média/Pacientes	Mínimo – máxima/ Percentual
Idade *	54,3 anos	(36 - 85) anos
Altura	156,4cm	(143-172) cm
Peso	68.4 kg	(48 - 88) kg
Índice de massa corpórea (IMC)	27.8	(22.1 - 33.5)
Estado menopausal		
Pré-menopausa	4 pacientes	28%
Pós-menopausa	10 pacientes	72%

Fonte: Dados da pesquisa

* Dois (15%) pacientes com ≤ 40 anos, 10 (70%) pacientes de 40- 69 anos e dois (15%) pacientes ≥ 70 anos.

4.2 Tipo de procedimento cirúrgico realizados no estudo da BLS com hemossiderina

Foram realizadas sete mastectomias e sete quadrantectomias. Todas as pacientes foram submetidas a biópsia do linfonodo sentinela com associação de dois métodos - o uso do corante hemossiderina e o radiocolóide Tc99. Três foram submetidas ao esvaziamento axilar após a BLS.

Todos os LS foram avaliados pela patologia trans e pós-operatoriamente, sendo encontrados três casos de LS positivos à congelação transoperatória e confirmado na patologia no pós-operatório quatro casos pN1 (um pN1mi e três pN1a). O caso de micrometástase foi confirmado com auxílio da imuno-histoquímica.

Foram diagnosticados pelo Serviço de Patologia dez (72%) mulheres com estado axilar pN0 (linfonodos são negativos) e quatro (28%) pN1, sendo uma (7%) pN1mi (micrometástase, maior do que 0,2 mm, porém não maior do que 2 mm em sua maior dimensão), três (21%) pN1a (metástase em 1-3 linfonodo(s) axilar(es), incluindo pelo menos um maior do que 2 mm em sua maior dimensão) (Tabela 2).

Tabela 2 –Descrição do tipo de procedimento cirúrgico realizado na mama, axila e estado patológico dos LS das mulheres submetidas a BLS comhemossiderina. Fortaleza, Ceará, 2015.

Tipo de procedimentos	Valores	Percentual
Mama		
Mastectomia	7	50%
Quadrantectomia	7	50%
Axila		
BLS*	14	100%
EA**	3	21%
Estado linfonodal		
pN0 ***	10	72%
pN1	4	28%
pN1mi ****	1	7%
pN1a	3	21%

Fonte: dados da pesquisa

*Biopsia Linfonodo Sentinela

**Esvaziamento Axilar

***Todos os LS foram avaliados por congelação intraoperatoriamente.

****A micrometástase são grupamentos celulares maiores do que 0,2 mm, porém não maiores do que 2 mm em sua maior dimensão (NCCN.ORG, 2015).

4.3 Características patológica e imuno-histoquímica dos tumores das mulheres submetidas a BLS com hemossiderina

Foram diagnosticados pelo Serviço de Patologia 12 (85%) carcinomas invasivos e dois (15%) carcinomas ductais *in situ*. Todos os casos foram diagnosticados pré-operatoriamente com biopsias por agulha grossa e, posteriormente, confirmados por anatomopatologia pós-operatória. Houve 100% de concordância entre os diagnósticos pré e pós-operatorio.

Quanto à localização do tumor, seis (42%) se encontravam no quadrante superior externo, dois (14%) no superior interno, dois (14%) no inferior interno e quatro 4(30%) no quadrante inferior externo.

Em relação ao tamanho do tumor, dois (15%) foram classificados como pTis (carcinoma ductal *in situ*), um (7%) como pT1a (tumor com mais de 0,1 cm, até 0,5 cm em sua maior dimensão), seis pT1c (tumor com mais de 1 cm, porém não mais de 2 cm em sua maior dimensão) e cinco (35%) pT2 (tumor com mais de 2 cm, porém não mais de 5 cm em sua maior dimensão). Não houve nenhuma paciente com tumores classificados em pT1b (tumor com mais de 0,5 cm, até 1 cm em sua maior dimensão).

Quanto ao grau tumoral foram descritos: dois (16,7%) em grau 1 (G1), nove (60%) em grau 2 (G2) e três (23,3%) em grau 3 (G3) (Tabela 3). Foram diagnosticados, pelo Serviço de Patologia, a imuno-histoquímica dos tumores das mulheres, sendo encontrados 12 (86%) com receptor de estrogênio positivo, 12 (86%) com receptor de progesterona positivos e duas mulheres com RE e RP negativos. Nenhuma das mulheres foi HER2 positivo (Tabela 3).

Tabela 3. Descrição anatômica, patológica e imuno-histoquímica dos tumores das mulheres submetidas a BLS com hemossiderina. Fortaleza, Ceará, 2015.

Características	valores	percentual
Tipo de Carcinoma *		
Invasivo	12	85%
Ductal <i>in situ</i>	2	15%
Localização do Tumor		
Quadrante Superior Externo	6	42%
Quadrante Superior Interno	2	14%
Quadrante Inferior Interno	2	14%
Quadrante Inferior Externo	4	30%
Tamanho do tumor		
pTis	2	15%
pT1a	1	7%
pT1b	0	0%
pT1c	6	43%
pT2	5	35%
Grau tumoral		
G1	2	16.7%
G2	9	60%
G3	3	23.3%
Receptor hormonal		
Receptor de estrogênio (RP)	12	86%
Receptor de progesterona (RP)	12	86%
Estado HER2		
HER 2	-	0%

Fonte: Dados da pesquisa

* Todos os casos foram diagnosticados pré-operatoriamente com biopsias por agulha grossa e com a confirmação anatomopatológica pós-operatória. Houve 100% de concordância entre os diagnósticos pré e pós-operatório.

4.4 Identificação de efeitos adversos (reações alérgicas e não alérgicas) e infecção de sítio cirúrgico nos pacientes com a utilização da hemossiderina na BLS das pacientes do estudo

Foram avaliados efeitos adversos e infecção de sítio cirúrgico nas 14 paciente do estudo, consoante está explicado no texto seguinte:

Não foram identificados sinais e sintomas de reações alérgicas (leve urticária, prurido, pápulas azuis, *rash* generalizado até hipotensão transitória-pressão arterial sistólica PAS <70mmHg, colapso cardiovascular grave e parada respiratória ou cardiorrespiratória) em nenhuma das 14 pacientes submetidas a BLS com hemossiderina.

Também não se identificaram sinais e sintomas de reações não alérgicas (interferências com pulso-oximetria, coloração azulada da pele ou fluidos corporais, e necrose da pele) em nenhum dos 14 pacientes submetidos a BLS com hemossiderina.

Não foi identificada infecção de sitio cirúrgico nos primeiros 30 dias após a cirurgia em nenhum dos 14 pacientes submetidos a BLS com hemossiderina. Critérios definidores de infecção cirúrgica: drenagem purulenta da incisão superficial; cultura positiva de secreção ou tecido da incisão superficial, obtido assepticamente (não são considerados resultados de culturas colhidas por swab); a incisão superficial é deliberadamente aberta pelo cirurgião na vigência de pelo menos um dos seguintes sinais ou sintomas: dor, aumento da sensibilidade, edema local, hiperemia ou calor, exceto se a cultura for negativa e diagnostico de infecção superficial pelo médico assistente ANVISA(2009) (Tabela 4).

Tabela 4 – Identificação de efeitos adversos e Infecção de sítio cirúrgico nas mulheres submetidas a BLS com hemossiderina. Fortaleza, Ceará, 2015.

	Casos	Percentual
Efeitos adversos e		
Infecção de sítio cirúrgico*		
SIM	0/14	0%
NÃO	14/14	100%

Fonte: Dados da pesquisa, 2015

* avaliação dos primeiros 30 dias após a cirurgia.

4.5 Identificação do número de pacientes com LS marcados com tecnécio 99 e hemossiderina na BLS

Das 14 pacientes selecionadas para o estudo que realizaram BLS, foram identificados o LS marcado com Tc99, com utilização da sonda do gama probe, em 100% dos casos (14/14), como também o LS marcado com hemossiderina, pela mudança da coloração macroscópica para matizes do vermelho ao preto, em 100% dos casos (14/14). Todos os linfonodos sentinela foram identificados no sitio axilar, após a injeção de fitato de tecnécio e hemossiderina na região subareolar. Não foi identificado nenhum LS na cadeia mamária interna. Nos casos estudados, houve concordância entre os métodos avaliados em 100% (14/14) dos casos (Tabela 5).

Tabela 5 – Identificação do número de pacientes com LS marcado com tecnécio 99, hemossiderina e taxa de concordância entre os métodos nas mulheres submetidas a BLS. Fortaleza, Ceará, 2015.

	Casos	Percentual
LS marcado com tecnécio 99		
Marcaram	14/14	100%
N/Marcaram	00/14	0%
LS marcado com hemossiderina		
Marcaram	14/14	100%
N/Marcaram	00/14	0%
Concordância		
Concordaram	14/14	100%
N/Concordaram	00/14	0%

Fonte: Dados da pesquisa.

4.6 Sensibilidade e acurácia do teste da hemossiderina comparado ao tecnécio 99 na BLS

A validação diagnóstica do teste da hemossiderina comparado ao teste padrão-ouro – Tc99 na BLS no estudo apresentou sensibilidade e acurácia de 100%. Todos os pacientes tiveram LS identificados pela hemossiderina confirmado com o controle pela avaliação simultânea do LS com a sonda do gama-probe pela captação com oTc99 (Tabela 6).

Tabela 6- Avaliação da sensibilidade e acurácia da hemossiderina na BLS. Fortaleza, Ceará, 2015.

Avaliação	Percentual
Sensibilidade	100%
Acurácia	100%

Fonte: Dados da pesquisa

4.7 Avaliação das matizes de intensidade de coloração do linfonodo sentinela identificado com hemossiderina

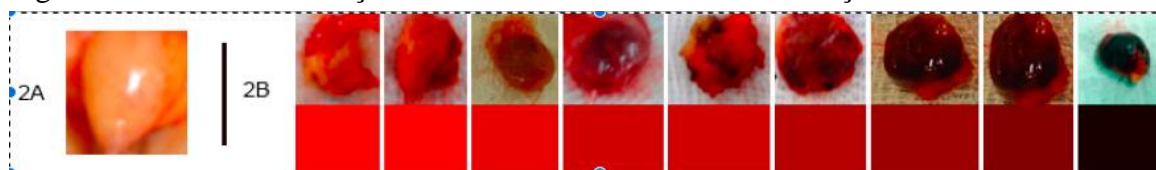
Os linfonodos identificados na BLS com hemossiderina foram classificados, segundo a intensidade de marcação, nas escalas de tons vermelho ao preto. Foram identificados dois (14%) casos o LS com a coloração vermelho-claro, em 10 (72%) com vermelho-escuro, dois (14%) preto. Nenhum LS deixou de ser corado com a hemossiderina (Tabela 7).

Tabela 7 – Classificação da matizes de intensidade de coloração dos linfonodos marcados com hemossiderina.

Coloração do Linfonodo/pacientes	Casos	Percentual
Sem coloração	00	(0%)
Vermelho-claro	02	(14%)
Vermelho-escuro	10	(72%)
Preto	02	(14%)

Fonte: Dados da pesquisa

Figura 14 - Escala de variação de cores dos LS sem e com marcação com hemossiderina



Fonte: Elaboração própria (2015).

2A- linfonodo sem coloração 2B - Matizes de intensidade de coloração dos linfonodos

4.8 Identificação do número de pacientes com LS marcado com tecnécio 99 na cintilografia pré-operatória

Das 14 pacientes selecionadas para o estudo que realizaram cintilografia e foram identificados o LS marcado com Tc99, ao exame, em 100% dos casos (14/14). Todos os linfonodos sentinela foram identificados no sitio axilar, após a injeção de fitato de tecnécio na região subareolar. Não foi identificado nenhum LS na cadeia mamária interna (Tabela 8).

Tabela 8 – Identificação do número de pacientes com LS marcado com Tc99 na cintilografia pré-operatória nas mulheres submetidas a BLS. Fortaleza, Ceará, 2015.

LS marcado com tecnécio 99.	Casos	Percentual
Marcaram	14/14	100%
N/Marcaram	00/14	0%

Fonte: dados da pesquisa

4.9 Avaliação da taxa de concordância entre a avaliação do linfonodos axilares identificados à RNM com hemossiderina, comparado o resultado da patologia do linfonodo sentinela

A avaliação da taxa geral de concordância da RNM com hemossiderina foi de 75% (12/16) dos pacientes, analisando-se os linfonodos axilares (LA) identificados nas imagens obtidas com RNM/hemossiderina. Os linfonodos foram classificados LA em metastático (+) ou não metastático (-) e comparando com o resultado da patologia do linfonodo sentinela (LS) em metastático (+) ou não metastático (-) O valor de k (Coeficiente de Concordância de Kappa) = 0,714 (Tabela 9).

Tabela 9 – Coeficiente de Concordância de Kappa quando comparado a avaliação do RNM com o resultado da patologia do LS. Fortaleza, Ceará, 2015.

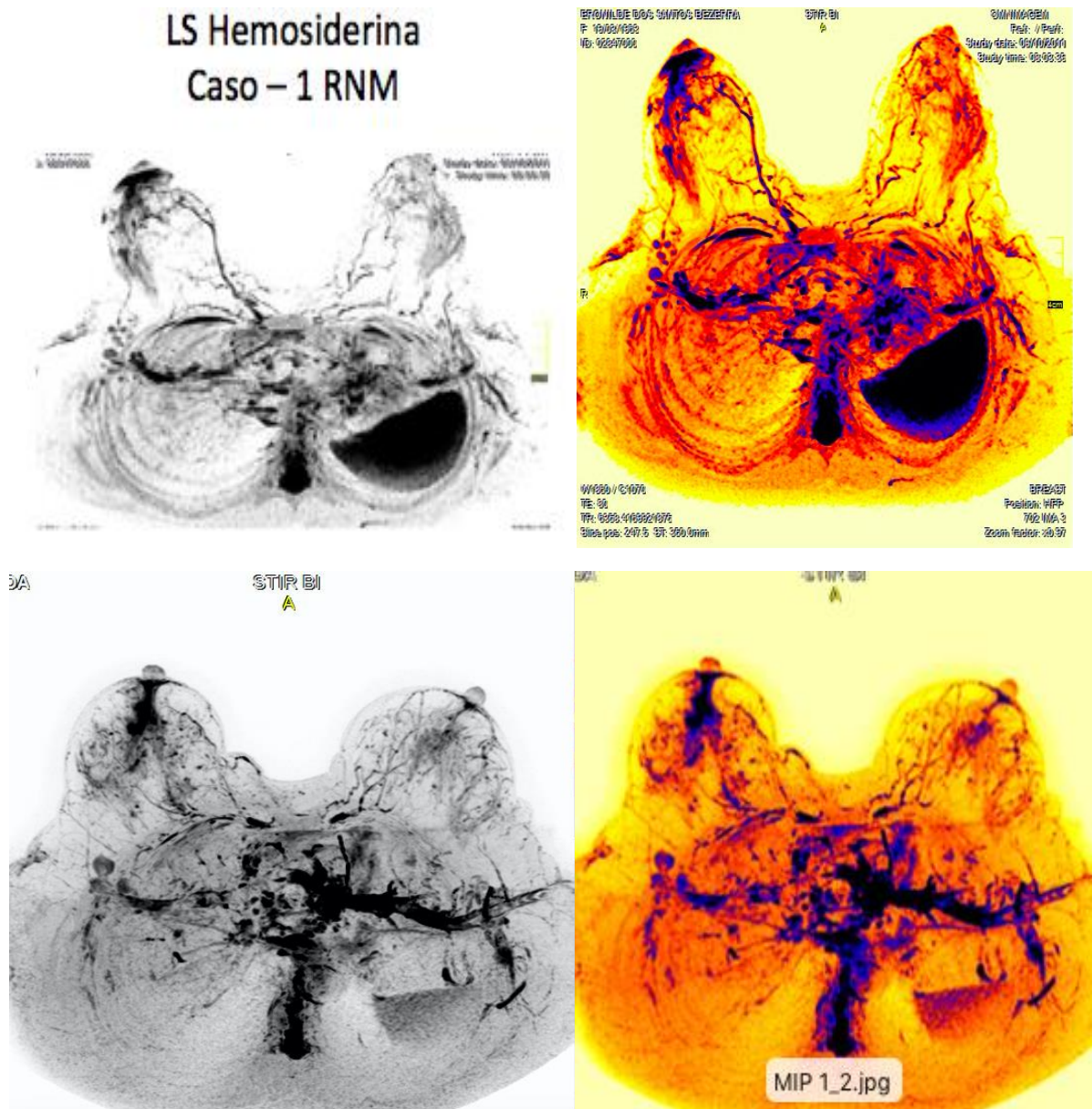
		PATOLOGIA LS		
		+	-	Total
RNM/HEMOSSIDERINA LA	SIM	02	02	04
	NÃO	02	10	12
	Total	04	12	16

A taxa geral de concordância foi de 75 % (12/16) e o valor de $k = 0,714$.

Fonte: Dados da pesquisa

Figura 15 - RNM de mamas bilaterais, 24 horas após administração de hemossiderina

A e B - caso 1 – RNM mostrando linfangiografia e LA marcados com hemossiderina. C e D - caso 2 RNM mostrando linfangiografia e LA marcados com hemossiderina



Fonte: Dados da pesquisa (2013)

4.10 Avaliação dos indicadores de validade do teste diagnóstico da identificação dos linfonodos axilares identificados à RNM com hemossiderina comparados com o resultado da patologia do linfonodo sentinela

Avaliação dos indicadores de validade do teste diagnóstico com imagens dos LAs obtidas com RNM com hemossiderina em comparação ao resultado da patologia do linfonodo sentinela, evidenciou sensibilidade de 50%, especificidade de 85%, valor preditivo positivo de 50%, valor preditivo negativo de 83% e classificação incorreta de 25%. (Tabela 10)

Tabela 10 – Avaliação dos indicadores de testes diagnósticos da RNM com hemossiderina comparando com o resultado da BLS na patologia

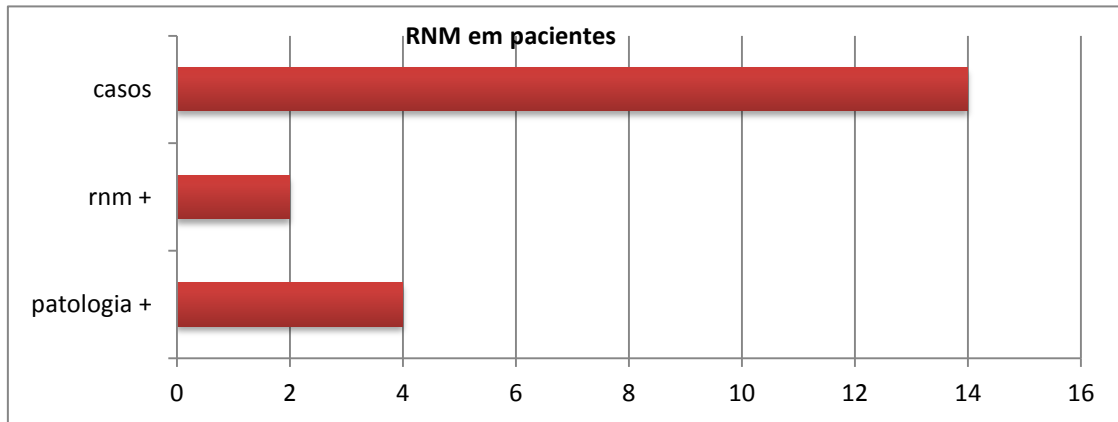
Características	Valores
Sensibilidade	50%
Acurácia	75%
Especificidade	83%
Valor preditivo positivo	50%
Valor preditivo negativo	83%
Classificação incorreta	25%

Fonte: Dados da pesquisa

4.11 Avaliação comparativa dos casos de LA identificados à RNM com hemossiderina, com LA sugestivos de comprometimento metastático e LS metastáticos à patologia

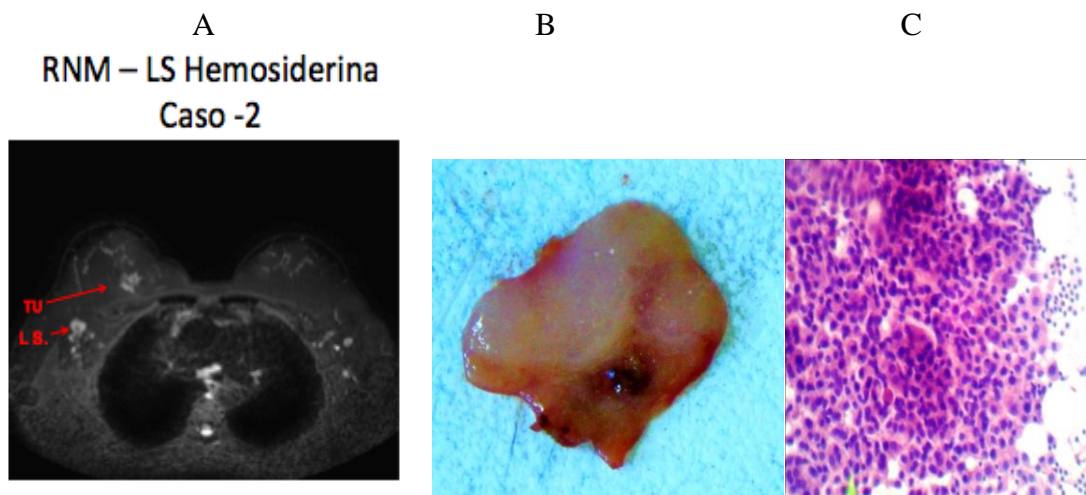
Foram realizadas RNM/hemossiderina, pré-operatória, em todas (14/14) mulheres do estudo. Em dois casos os LA foram avaliados como metastáticos e em quatro casos os LS foram identificados metastáticos à patologia. (GRÁFICO 1).

Gráfico 1: Avaliação comparativa dos casos de LA à RNM/hemossiderina, com LA sugestivos de comprometimento metastáticos e LS metastáticos à patologia.



Fonte: Dados da pesquisa (2013)

Figura 16 – Análise comparativa do LA à RNM com hemossiderina e do LS à patologia. A) RNM identificando o tumor e o LA com falha de preenchimento; B) Corte macroscópico sagital do LS corado com hemossiderina (vermelho) e o tumor (esbranquiçado) preenchendo parcialmente o LS; C) Microscopia do LS com coloração de Perls, mostrando impregnação do LS com hemossiderina (grânulos azuis).

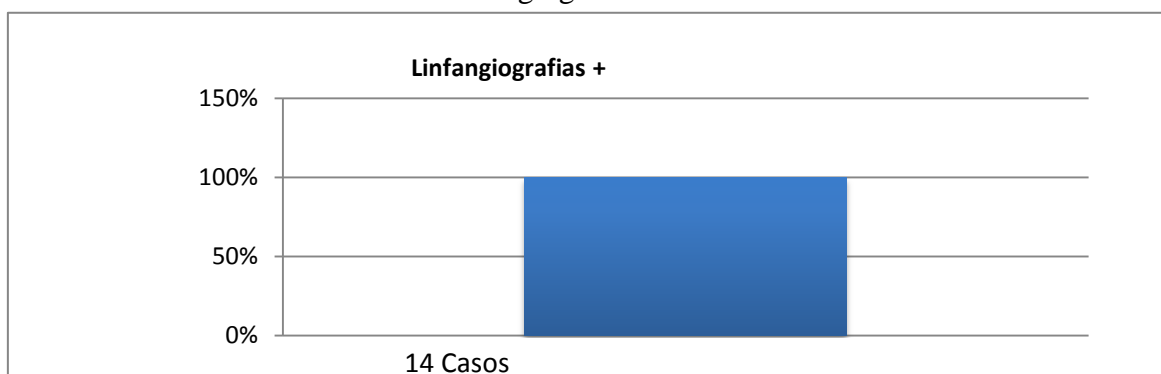


Fonte: Prof. Dr. Luiz Porto (2009)

4.12 Avaliação das pacientes que se submeteram a RNM com administração de hemossiderina em que foi identificado linfangiografia à RNM

Nas pacientes que se submeteram a RNM com hemossiderina foi identificado Linfangiografia à RNM em 100% dos casos (GRÁFICO 2). Em todos os casos foi identificada a via de drenagem contrastada para a cadeia linfática axilar e, em dois casos (2/14), para a cadeia mamária interna.

Gráfico 2: Percentual de casos de linfangiografias à RNM/hemossiderina*



Fonte: Dados da pesquisa (2015)

* Em todos os casos foi identificada via de drenagem contrastada para a cadeia linfática axilar e, em dois casos (2/14), para a cadeia mamária interna.

DISCUSSÃO

O estudo clínico Fase 1 deve ser capaz de avaliar a segurança, possível toxicidade e dose apropriada para estudos subsequentes, além de servir de piloto para a utilização da hemossiderina em futuros estudos fase II e III (BOFF; WISINTAINER, 2006). Pode ser desenvolvida diretamente com pacientes de grupos específicos, como portadores de doenças oncológicas. O número de participantes na Fase I pode variar de 10 a 80 (GOLDIM, 2007). Os objetivos fundamentais desse tipo de estudo são estabelecer a relação entre o uso do fármaco, sua segurança e toxicidade, e determinar qual a dose apropriada para estudos subsequentes (BOFF; WISINTAINER, 2006). Somente após os resultados da primeira fase, os estudos clínicos fase II avaliarão a utilidade deste novo produto e a eficácia terapêutica da “droga”, devendo inicialmente incluir o número de 14 pacientes, só expandindo para mais pacientes se houver resposta objetiva nesses primeiros pacientes (BOFF; WISINTAINER, 2006). Esses argumentos respaldam o número de 14 pacientes selecionados, pois atende aos critérios para a primeira etapa dos estudos clínicos e prepara o alicerce para outras fases futuras, onde a eficácia e a real utilidade do “corante hemático” possam ser testados, com uma inclusão de um grande número de pacientes, em novos estudos multicêntricos e randomizados, em concordância com os preceitos de testes clínicos experimentais para novas drogas (BOFF; WISINTAINER, 2006; GOLDIM, 2007; NOBRE; BERNARDO; JATENE, 2004).

A idade das pacientes recrutadas no estudo foi de 54.3 anos, em média, variando de 36 a 85 anos, o que corrobora a literatura, ao descrever que a incidência de câncer de mama aumenta a partir dos 50 anos (INCA, 2014). A chance de uma mulher de 50 anos desenvolver um câncer de mama é uma em 54 e, para mulheres de 30 anos, uma em 2.212 (BOFF; WISINTAINER, 2006). A incidência e os índices de morte por câncer de mama aumentam com a idade. Em 79% dos novos casos diagnosticados e 88% das mortes por câncer de mama ocorreram em mulheres com 50 anos de idade e mais velhos (ACS, 2013; INCA, 2014).

Estudos demonstraram que a contagem radioativa de um linfonodo sentinela (LS) é inversamente proporcional à idade. Outras publicações demonstram que identificação precisa do LS diminui com o aumento idade (COX et al., 2002; LYMAN et al., 2005). A faixa etária

das pacientes selecionadas no estudo com hemossiderina foi semelhante ao intervalo de idade média do diagnóstico de câncer no Brasil que aumenta a incidência a partir dos 50 anos (INCA, 2014). A seleção das pacientes apresentou 85% das mulheres com idade menor do que 69 anos, perfil compatível com a proposta do estudo de realizar a BLS com hemossiderina e Tc99 em mulheres com câncer de mama, sem adicionar o viés do perfil etário médio muito aumentado, o que poderia comprometer o método, uma vez que mulheres mais idosas diminuem a taxa de identificação do LS (LYMAN, et al., 2014).

Trabalhos científicos mostram que a identificação precisa na BLS diminui com o aumento da massa corporal (LYMAN, et al., 2014). O Índice de Massa Corporal (IMC) é uma medida internacional usada para calcular se uma pessoa está no peso ideal e é determinado pela divisão da massa do indivíduo pelo quadrado de sua altura, em que a massa está em quilogramas e a altura em metros (COX et al., 2002; WHO, 2015). O IMC médio 27.8 (22.1 - 33.5) das pacientes em estudo enquadra-se como sobrepeso, segundo classificação da World Health Organization (WHO), 2015 (ANEXO B); portanto abaixo do Grau I de obesidade, o que provavelmente não interferiu na taxa de identificação do LS, conforme será discutido *a posteriori*.

Resultados de um estudo de 1.356 pacientes sugeriram que para cada aumento de uma unidade de Índice Massa Corporal (IMC) e para cada aumento de um ano de idade, as chances de BLS bem-sucedida diminuiu 0.05 (COX et al., 2002; LYMAN et al., 2005). A associação entre faixa etária e IMC das pacientes estudadas não interferiu na pesquisa da BLS com hemossiderina, pois ambas as características representavam a média da realidade etária e IMC das mulheres portadoras de câncer no Brasil (INCA, 2014), não se traduzindo num viés de seleção da amostra, o que se comprova com os resultados 100% de taxa de identificação do LS no estudo com a hemossiderina e o Tc99.

O estado menopausal das mulheres estudadas foi definido pela história menstrual, sendo: a pré-menopausa o período que se inicia, em geral, no final da quarta ou no curso da quinta década de vida da mulher, ainda que seja objeto de largas variações individuais e pós-menopausada toda mulher em amenorreia espontânea há 12 meses ou mais (DE LORENZI et al., 2006; DEL NERO, 2006). Após a ocorrência da última menstruação espontânea, segue-se o período da pós-menopausa, que, em geral, se caracteriza pela exacerbação dos sintomas decorrentes do hipoestrogenismo. Nesta etapa, os níveis de FSH estão muito elevados e os níveis plasmáticos estrogênicos estão persistentemente baixos (AVIS et al., 2000). Observou-se nas pacientes selecionadas para este estudo que quatro (28%) pacientes enquadravam nos critérios da pré-menopausa e dez (72%) pacientes na pós-menopausa. A menopausa tardia é

um dos fatores de risco associado ao câncer de mama, como também o uso da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) e obesidade na pós-menopausa aumentam a incidência de câncer de mama (ACS, 2013; INCA, 2014). Nesse trabalho, 72% (10/14) das mulheres se encontravam na pós-menopausa. Os dados são compatíveis com a média de idade das mulheres selecionadas que foi de 54.3 anos e de acordo com dados da literatura, onde a média da idade das mulheres menopausadas é de 53,7 (\pm 4,1) anos (DE LORENZI et al., 2006).

A BLS está formalmente indicada para as mulheres em estágio inicial de câncer de mama, que não têm metástases ganglionares (LYMAN, et al., 2014). Essa premissa norteou a seleção dos pacientes do estudo para teste da segurança hemossiderina como corante à BLS. Para pacientes com carcinoma ductal *in situ* (CDIS) a BLS geralmente não é necessária. Vários estudos de CDIS mostraram uma incidência de LS positivos em 5% a 15% dos casos, com base em análise de imuno-histoquímica (IHC), mas o significado clínico de tais metástases permanece obscuro. Em certas circunstâncias clínicas, no entanto, a BLS pode ser importante para evitar uma segunda operação (ACS, 2015). A BLS está indicada para pacientes com CDIS quando uma mastectomia está indicada ou quando uma reconstrução imediata está prevista (LYMAN et al., 2005). Em conformidade com os protocolos atuais, os dois casos (2/14) de carcinoma ductal *in situ* do estudo que foram tratados com mastectomia realizaram BLS, com resultados de LS negativo à patologia. Esses achado estão de acordo a literatura, que estima baixo comprometimento metastático nos LSs em CDIS (ACS, 2015).

Embora o câncer invasivo seja encontrado, posteriormente, em 10% a 20% de pacientes que tenham CDIS diagnosticado por biopsia, o protocolo da Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO) não recomenda o uso rotineiro de BLS em pacientes com CDIS que devam ter a cirurgia conservadora da mama (LYMAN, et al., 2014). No trabalho da hemossiderina, todos os pacientes tiveram seu diagnósticos pré-operatórios definidos por biopsia com agulha grossa do tumor. Os dois casos (100%) de CDIS diagnosticados tiveram sua patologia ratificada pela peça cirúrgica pós-operatória, sem evidência de câncer invasivo da mama e sem metástases dos linfonodos à BLS.

Avaliando a localização tumoral dos tumores das mulheres, com relação aos quadrantes, a maioria (42%) estava localizada no Quadrante Superior Externo (QSE), em concordância com os dados da literatura, que justifica essa predominância nessa área da mama pela a maior concentração de tecido glandular no QSE da mamário, região na qual há a maior incidência de câncer. Em média, 50% de todos os tumores ocupam essa região da mama (BOFF; WISINTAINER, 2006). A importância da localização do quadrante tumoral decorre da

possibilidade dos tumores originados nos quadrantes internos estarem anatomicamente mais próximos à cadeia mamária interna (CMI) e, potencialmente, poderem se disseminar para a CMI. Apesar de a drenagem linfática da mama para essa região ser responsável por apenas 3% de toda a drenagem, essa possibilidade deve ser avaliada (BOFF; WISINTAINER, 2006). No estudo com a RNM com hemossiderina, apesar de se identificar pela linfangiografia contraste à imagem na via de drenagem para a CMI em dois casos (2/14), tanto a cintilografia pré-operatória como a avaliação intraoperatória não captaram Tc99 em nenhum dos pacientes comprometendo a CMI. Dai a importância da análise combinada da RNM e cintilografia pré-operatórias, da avaliação com o gama probe da captação do LS com o Tc99 pós-operatória, como meios para mapeamento do LS, aferição de marcação do LS com o Tc99, como também a cadeia preferencial de drenagem dos tumores estudados.

Não existe recomendação para a BLS em tumores grandes e localmente avançados (T3/T4), permanecendo a indicação para tumores T1 e T2, sem evidências de comprometimento axilar (LYMAN et al., 2005). Dai por que foram excluídas deste estudo pacientes com tumores avançados, somente sendo selecionadas as pacientes com tumores iniciais. A maioria das pacientes (78%) tinha tumores maiores do que 1 cm, sendo o tamanho do tumor um dos critérios de inclusão das pacientes no estudo. A avaliação anatomopatológica comprovou um total de duas pacientes com pTis, uma paciente pT1a, seis pacientes pT1c e cinco pacientes pT2; todas pacientes T1 e T2, validando à indicação de BLS, segundo as últimas atualizações da ASCO.

Em 28,5% (4/14) das pacientes da pesquisa com hemossiderina, a BLS foi positiva e 21% (3/4) realizaram o EA, o que está de acordo com dados de pesquisas do grupo da Itália, ao afirmar que 62 % dos tumores T1 e T2 não necessitarão de EA, sem comprometer a sobrevida (VERONESI et al., 1997) e se beneficiarão da abordagem seletiva da axila, com menores efeitos adversos como: linfedema, infecções, seroma, défices sensoriais e neurológico, incluindo parestesias e dor no ombro e / ou prejuízo de movimento (LYMAN, et al., 2014).

A relevância em se avaliar outros fatores prognósticos, como o grau histológico, receptores hormonais e HER 2, dentre outros, realizada neste trabalho, segue uma prática dos especialistas mundiais na avaliação da história natural do tumor e sua associação com tempo livre de doença (SLD) e sobrevida global (SG) (BOFF; WISINTAINER, 2006).

O grau histológico tumoral é um fator prognóstico, importante a ser analisado nas pacientes portadoras de câncer de mama, pois quanto maior for o grau histológico, pior será a

sobrevida, independentemente do estado axilar e do tamanho tumoral ((BOFF; WISINTAINER, 2006). A avaliação do grau histológico combinado de Nottingham é baseado em padrões morfológicos, como formação tubular, pleomorfismo nuclear e número de mitoses e designado como valor G1- favorável, G2- moderadamente favorável e G3- desfavorável (GPM). Pacientes com grau tumoral G3 têm risco aumentado de doença metastática, aumento no risco de recidiva local e redução de sobrevida. No grupo de mulheres do estudo a maioria das pacientes (67%) foi classificada como G1 e G2 e três pacientes (23%) foram classificadas como G3, em associação a um prognóstico desfavorável. Neste estudo, o grau histológico favorável, na maioria das mulheres, diz respeito ao perfil daquelas que participaram da pesquisa e sua possível correlação com outros fatores prognósticos, como o comprometimento linfonodal axilar que, atualmente, é o fator prognóstico mais importante no câncer de mama, demonstrando o caráter de prognóstico favorável da maioria das pacientes selecionadas.

A determinação de receptores hormonais de estrogênio (RE) e receptor de progesterona (RP), e do proto-oncogene HER 2 por imuno-histoquímica, faz parte da avaliação prognóstica e preditiva no câncer de mama (GPM, 2011). Esses biomarcadores, tem sua principal importância na indicação de terapia endócrina (antiestrogênica) ou anti-HER2 (Traztuzumabe) (BOFF; WISINTAINER, 2006). Receptores de estrogênio estão presentes em 75 a 80% dos cânceres de mama, em proporção crescente com a idade, enquanto o RP tem maior relacionamento com o estado menopausal (GPM, 2011). É possível que a presença de RE/RP seja apenas indicativo de tumores mais indolentes. Os oncogêneses HER2 estão presentes em 30% dos tumores de mama, mais comumente nos carcinomas ductais invasivos (BOFF; WISINTAINER, 2006). Nas mulheres avaliadas neste estudo, 85% foram RE/RP positivo e nenhuma apresentou estado HER2 positivo. Isso demonstra a similitude com os dados da literatura sobre receptores hormonais nos tumores de mama e os pacientes selecionadas no estudo. Em contraste aos dados de frequência do HER2, nenhuma das pacientes estudadas apresentou amplificação do proto-oncogene, marcador de tumores de comportamento mais agressivos com importante diminuição da SLD e SG (SLAMON et al., 1987; SLAMON et al., 2001). Esse achado talvez se explique por conta da seleção dos pacientes com tumores iniciais, sem comprometimento axilar, confirmando um caráter mais indolente dos tumores avaliados neste ensaio, em acordo com o perfil visto na análise de outros marcadores prognósticos, conforme já discutido.

Com relação aos tipos de procedimentos cirúrgicos realizados foram observados 50% de mastectomias e 50% de quadrantectomias. Em todos os casos foram realizados BLS, sendo

constatado BLS positivo em 28,5% (4/14) casos, mas só foi realizado esvaziamento axilar em (3/14) 21% dos casos. Em uma das pacientes com BLS positivo foi evidenciado invasão microscópica do LS - pTmi (≤ 2.0 mm), não sendo realizado o EA. Muitos trabalhos atuais respaldam essa conduta, como os estudos clínicos randomizados e duplo-cegos do ACOSOG Z0010, NSABP B32, que avaliaram sobrevida livre de doença (SLD) e sobrevida geral (SG) em cinco anos e observaram que não houve diferença significativa entre os grupos com LS com e sem metástases ocultas (células tumorais isoladas ou micrometástase) detectadas por imuno-histoquímica (IHQ) (LYMAN, et al., 2014). O estudo IBCSG23-01 avaliou dois grupos de pacientes com BLS com micrometástase, que foram randomizados para realizar EA e outro grupo para nenhuma abordagem cirúrgica axilar e não foram encontradas diferenças significantes na SLD em cinco anos, o que respalda a conduta de evitar o EA em um dos casos (pTmi) do estudo em discussão (GALIMBERTI et al., 2013; WILKE et al., 2006).

O propósito de testar a segurança e utilização clínica da hemossiderina como um corante com potencial para substituir os corantes sintéticos azuis na BLS, fundamenta-se nas inúmeras e crescentes publicações que vem sendo divulgadas desde 1960, durante a realização de linfografias e BLS (MONTGOMERY et al., 2002; SPRUNG; TULLY; ZISER, 2003; BÉZU et al., 2011). Todas as publicações alertam para os riscos desse corante sintético, muito utilizados na prática cirúrgica da mastologia. Várias descrições de reações alérgicas ao azul patente em procedimentos foram divulgadas, principalmente, pelo aumento das indicações para a sua utilização, notadamente no melanoma, neoplasia da mama, da bexiga e do útero, esperando-se um aumento na incidência de anafilaxia, o que vem chamando a atenção de especialistas de alergia, anestesia e cirurgia (SCHERER et al., 2006). Sleth, em seu trabalho, aponta o aumento anual da incidência de reações adversas e o aumento dos riscos de reações alérgicas quantificáveis aos corantes azuis durante biópsia de linfonodo sentinela, o que lhe suscitou perguntar se não era a hora de trocar de corante (SLETH, 2008).

A literatura divulgou inúmeras reações alérgicas em associação com os corantes azuis com gravidade que variam de leve urticária, prurido, pápulas azuis, *rash* generalizado até hipotensão transitória (pressão arterial sistólica PAS <70 mmHg), perspassando colapso cardiovascular grave com necessidade de vasopressor, cancelamento do procedimento previsto, internamento em unidades de cuidados intensivos e até parada respiratória ou cardiorrespiratória (HAQUE et al., 2010; MANSON et al., 2012; MERTES et al., 2008). Diferentemente dos autores ora citados, não foi descrito nenhum efeito colateral e/ou reação alérgica nos pacientes submetidos a BLS com a hemossiderina. O corante foi aplicado, em

média, 24 horas antes da cirurgia, o que possibilitou o acompanhamento de possíveis reações adversas e, provavelmente, por se tratar de um corante produzido com origem no próprio sangue da paciente, não tendo sido registrado durante a aplicação da hemossiderina, no transoperatório e/ou pós-operatório, nenhum sinal ou sintoma de reações alérgicas nas pacientes estudadas.

A ausência de reações alérgicas das pacientes com a utilização da hemossiderina é um dado relevante, pois a descoberta de um corante seguro, no que tange à ausência de efeitos adversos, abre perspectivas até para substituição dos corantes tradicionais, largamente usados no Mundo, como os corantes azuis, cuja prevalência de reações alérgicas na BLS é estimada em 0,6 a 2,7% (SCHERER et al., 2006). Essas reações, além de agregar risco de vida às pacientes que se utilizam dessas substâncias, também podem complicar a anestesia requerendo, por parte da equipe médica, medidas terapêuticas e ressuscitadoras que podem, dependendo da gravidade do quadro, aumentar o tempo cirúrgico, suspender o procedimento da cirurgia e, até, levar o óbito à paciente (SCHERER et al., 2006; VAN ZUUREN; POLDERMAN; KUIJKEN, 2005). Esses dados situam a hemossiderina como uma alternativa segura, isenta de riscos, viável do ponto de vista de custo-benefício quando se comparam aos corantes azuis, pois, no estudo, não apresentou os efeitos adversos associados aos corantes azuis, podendo diminuir gastos com pessoal e de saúde, reduzir a morbidade do procedimento e o sofrimento emocional associados ao tratamento dessas complicações.

Durante o procedimento anestésico, o período perioperatório convencional, com a exposição do doente a qualquer substância, pode produzir reações adversas, incluindo as de ordem anafiláticas. Estima-se que a incidência destas reações seja 1:10.000 a 1:20.000, com uma mortalidade associada de 3,5 a 4,7 % (LANITIS et al., 2008). No caso da utilização da hemossiderina na BLS, outra vantagem, no que tange a minimizar complicações, é o fato de que, por ser administrada no pré-operatório, em média de 24h antes da cirurgia, em caráter ambulatorial, não apresentou reações alérgicas e/ou anafiláticas como demonstrado, agregou segurança ao procedimento da BLS e não acrescentou riscos ao procedimento anestésico, que possui os próprios riscos, registrando uma incidência de reações associadas a drogas e substâncias inerentes à prática anestesiológica peri e transoperatória (LANITIS et al., 2008).

As pacientes do estudo foram acompanhadas durante todo o pós-operatório com avaliações com sete, 15 e 30 dias após a cirurgia, o que permitiu avaliar de sinais e / ou sintomas de infecção de sítio cirúrgico. As pacientes foram avaliadas conforme os critérios definidores de infecção de sítio cirúrgico incisional superficial, preconizados pela ANVISA,

como aqueles que acometem pele e subcutâneo, com pelo menos um dos seguintes critérios: drenagem purulenta da incisão superficial; cultura positiva de secreção ou tecido da incisão superficial, obtido assepticamente (não são considerados resultados de culturas colhidas por swab); a incisão superficial é deliberadamente aberta pelo cirurgião na vigência de pelo menos um dos seguintes sinais ou sintomas: dor, aumento da sensibilidade, edema local, hiperemia ou calor, exceto se a cultura for negativa; diagnóstico de infecção superficial pelo médico assistente (ANVISA, 2009). Todas as pacientes (14/14) evoluíram sem infecção de ferida cirúrgica, bem como todos os resultados definitivos de culturas, para bactérias e fungos, obtidas de amostras de hemossiderina utilizadas nas pacientes foram negativos para 100% das análises, confirmando a segurança do método e a ausência de complicações infecciosas nas pacientes. Com esses dados é possível constatar que a utilização da hemossiderina na BLS foi um método seguro e não acrescentou risco de complicações infecciosas à BLS. Pode-se avaliar que o uso do novo corante, apesar de ser um derivado sanguíneo, seguiu todas as medidas de biossegurança e técnicas assépticas, conforme descrito no método, validando o processo como seguro, em todas as etapas, desde a coleta, o processamento e administração da hemossiderina. Isso autoriza que novos estudos, com amostras maiores, possam consolidar esse novo corante para BLS, agregando as vantagens comparativas já descritas, sem complicações infecciosas.

Pesquisas *in vitro* indicam a genotoxicidade dos corantes azuis e o aumento do nível de lesões oxidativas do DNA. O azul de metileno e o azul patente, comumente utilizados em BLS, têm efeitos genotóxicos em células da mama em concentrações clinicamente relevantes. Estudos *in vivo* são agora necessários para avaliar os danos ao DNA causados por estes corantes durante a BLS (MASANNAT et al., 2009). Apesar de ser um estudo *in vitro*, essas substâncias não são inócuas, como se pensava. O aumento na utilização dos corantes azuis sintéticos fez com que os pesquisadores investigassem seu risco e questionassem o seu custo-benefício. Portanto, a descoberta da hemossiderina, um corante sem toxicidade e derivado do sangue da própria paciente, em tese, minimizaria essas preocupações e ofereceria aos cirurgiões e mastologistas uma opção sem a toxicidade atribuída aos corantes tradicionais.

A BLS com o azul patente deve ser evitada durante a gravidez. Coloides radiomarcados são provavelmente mais seguros, por causa de sua rápida captação para o sistema reticuloendotelial, antes que qualquer material entre na circulação. Dados recentes demonstram que a dose de radiação para o feto é mínima, permitindo considerar o uso do Tc99 na BLS durante a gravidez. O Painel da ASCO, 2014, no entanto, concluiu que os dados

atuais são insuficientes, até o momento, para recomendar a utilização de BLS em grávidas com câncer de mama (ASCO 2015). A descoberta da hemossiderina pode modificar esse quadro, uma vez que, por ser uma substância inócua, isenta de reações adversas, pode ser no futuro, a depender de novos estudos, a alternativa para as gestantes avaliarem o comprometimento axilar com a BLS, sem pôr em risco a segurança e a saúde fetal.

Reações não alérgicas são descritas como mais uma desvantagem associadas aos corantes azuis, acrescentando dificuldades à realização do procedimento de BLS e sequelas às pacientes. As principais são: interferências com pulso-oximetria, coloração azulada da pele ou fluidos corporais, e necrose da pele (RAMIN; AZAR; MALIHE, 2011).

Tatuagens indesejáveis na pele, com o uso da técnica de injeção subdérmica ou intradérmica em decorrência a uso de corantes azuis são complicações frequentemente descritas no uso desses contrastes em BLS e podem causar o efeito secundário adicional de coloração atípica da pele no local da injeção (GUMUS et al., 2013). Isso pode ser considerado um problema cosmético para algumas mulheres, principalmente se persistirem, por muitos meses ou anos (ANEXO C). Estudos evidenciaram que essas colorações indesejáveis persistiram em 41% dos pacientes por 1 ano de pós-operatório (GOVAERT; OOSTENBROEK; PLAISIER, 2005). Experimentos que avaliaram a persistência desse transtorno atribuído aos corantes azuis divulgaram que, em 36,5% dos pacientes, haviam alguma coloração azul residual em 12 meses, que caiu para 23,6% em 24 meses (ANEXO D). Em uma pequena porcentagem de pacientes, a coloração azulada permanece além de 24 meses. A taxa de coloração azulada da pele diminui mais rapidamente após o segundo ano, mas pode permanecer depois de três anos (BARTHELMES et al., 2010; GUMUS et al., 2013).

Confrontando os dados de literatura, Barthelmes et al., (2010) e Gumus et al., (2013), sobre as reações não alérgicas dos corantes azuis, a utilização da hemossiderina não produziu colorações persistentes da pele ou fluidos corporais, nem apresentou interferências com pulso-oximetria e, também, não foram observados casos necrose da pele. Em alguns pacientes, nota-se a persistência de pequenas áreas de equimose no local da injeção subareolar, tornando-se imperceptível em poucas semanas e que desapareceram sem deixar marcas e/ou sequelas permanentes, conforme observado nas pacientes que se submeteram a cirurgias conservadoras neste estudo, não sendo visualizado nenhum vestígio da aplicação em nenhuma paciente após 30 dias de cirurgia (APÊNDICE C).

Na atual realidade do tratamento do câncer de mama, em que as cirurgias conservadoras e oncoplásticas tendem progressivamente a substituir as mastectomias e cirurgias mutilantes com segurança, a administração da hemossiderina utilizada para a BLS não deixa sequelas de pigmentações permanentes, diferentemente dos corantes tradicionais, conforme descrito por GUMUS et al. (2013). Essa vantagem da hemossiderina a credencia para iniciar estudos com objetivo de substituir os corantes azuis, nas cirurgias onde a segurança oncológica caminha pareada com a estética e autoestima femininas. As tatuagens e colorações persistentes nas mamas acrescentam um componente antiestético que prejudica o resultado final dos esforços do tratamento minimamente agressivo da cirurgia moderna.

Trabalhos publicados sobre o estudo da cinética interna do ferro no organismo humano, auxiliam a se entender como esse “derivado sanguíneo” é processado e se transforma no corante capaz de identificar o LS no organismo humano (CANÇADO; CHIATTONE, 2001). *In vivo*, a transferrina é responsável por captar e transportar o ferro. O complexo ferro-transferrina, ligado ao receptor, entra na célula por endocitose. O ferro liberado assume suas funções metabólicas ou se agrega em grumos. Esses grumos coalescem num aglomerado dentro dos lisossomos, recebendo a denominação de hemossiderina (HALLIDAY; RAMM; POWELL, 1994). A maior parte do ferro plasmático se destina à medula óssea, sendo que 80% do ferro ligam-se ao heme e passam a fazer parte da hemoglobina como ferro funcional, e os 20% restantes permanecem ligados à transferrina como ferro de transporte. Parte do ferro ligado à transferrina é captado pelas células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente do fígado e do baço, onde permanece como ferro de depósito sob a forma de ferritina e/ou hemossiderina (CANÇADO; CHIATTONE, 2001). Em condições anormais de acúmulo de ferro no organismo, porém, o armazenamento sucede principalmente sob a forma de hemossiderina (JONES; WORWOOD; JACOBS, 1980).

Respaldo no conhecimento acumulado da formação da hemossiderina em humanos, descrito pelos pesquisadores há pouco, por analogia, sugerem-se mecanismos semelhantes na tentativa de explicar a dinâmica do novo corante rico em ferro, introduzido na mama e como ele acessa e impregna os linfonodos sentinelas. Desde a região subareolar da mama, por se tratar de uma substância derivada da hemoglobina autóloga, provavelmente, é fagocitado pelos macrófagos do sistema reticuloendotelial e, via rede linfática da mama, satura o LS de hemossiderina. É demonstrado no acompanhamento das pacientes com a injeção de hemossiderina, possivelmente explicando por que esta não deixa marcas permanentes na pele

da mama, uma vez que é mobilizada pelo SRE, permitindo resultados estéticos satisfatórios e sem as indesejáveis tatuagens dos corantes azuis.

Alguns estudos demonstraram elevadas taxas de identificação na BLS utilizando Tc99 e a sonda de detecção gama-probe, como método isolado, inclusive maiores do que em comparação com o azul patente, daí por que é considerado o padrão ouro na BLS (MANSEL; GOYAL, 2004). Existem variações quanto aos diferentes tipos de coloide usados no Mundo (dextram, sulfúrico, albumina e antimônio trisulfide), mas o marcador radioativo mais usado é o tecnécio-99m, que é seguro, de fácil administração, meia-vida física de apenas seis horas e viável em qualquer departamento de Medicina Nuclear (PAGANELLI; DE CICCIO, 1998; MARIANI et al., 2001). O estudo clínico com o novo corante apresentou taxa de identificação dos linfonodos sentinelas com a hemossiderina em 100% (14/14) das pacientes, compatível com a melhores casuísticas da literatura mundial (QUADRO 1).

No estudo, em 100% dos pacientes pesquisados, houve alteração da cor do LS decorrida da impregnação com a hemossiderina e que foram classificados em 4 categorias de intensidade de colorações por paciente, conforme descrito no método: sem coloração – 0%, corado com vermelho claro – 14%, corado com vermelho escuro 72% e preto em 14% dos casos. Em 12 (86%) pacientes, na maioria dos casos, foi identificado o LS com coloração vermelho-escuro/preta, sendo facilmente identificado e diferenciado dos outros linfonodos não impregnados pela hemossiderina. Em dois pacientes, 14% dos casos, os LS estavam corados com vermelho claro, que contrastava discretamente com o tecido circunvizinho, mas não impossibilitou a diferenciação com os linfonodos não corados. A identificação e diferenciação dos linfonodos corados com hemossiderina ficou, ainda, mais fácil com a utilização da sonda do gama-probe, que direcionou a procura ao local mais específico de contagem radioativa e fez com que os LSs, mesmo corados com o vermelho-claro, fossem facilmente identificados. Todos os pacientes tiveram os LSs classificados e avaliados sem discordância dos observadores em 100% dos casos. Todos os LS corados com hemossiderina, também, foram avaliados quanto à radiação com a sonda gama probe, o que aconteceu em 100% dos casos validando o LS como o que reteve a hemossiderina e o Tc99, simultaneamente. Essa técnica combinada de hemossiderina com Tc99, em concordância com a literatura, pode ser responsável pela alta taxa de identificação do LS encontrada neste estudo (CSERNI et al., 2002; MANSEL; GOYAL, 2004).

O corante azul patente é o mais usado na BLS no Mundo. Trabalho avaliando o seu uso isolado demonstrou taxa de identificação de 92% e falso negativo de 10%; quando se compara

com a técnica combinada com azul patente/Tc99 a taxa de identificação aumenta para 99% e falso negativo diminui para 3% (CSERNI et al., 2002). Quando comparado aos achados do estudo com a hemossiderina que evidenciou taxa de identificação de 100% dos casos e falso negativo de 0%, comprovam-se a possibilidade e o potencial desse novo corante autólogo de substituir os corantes azuis, agregando benefícios e minimizando os efeitos adversos descritos largamente com esses corantes azuis sintéticos (DEWACHTER et al., 2006; EBO et al., 2005; FORSCHNER et al., 2003; HAQUE et al., 2010; HUNTING et al., 2010; RAMIN et al., 2011; SCHERER et al., 2006; WU et al., 2015).

Conhecimento consolidado, o emprego das técnicas combinadas, corante e radiofármaco, para identificação do LS, melhoraram a taxa de identificação e diminuíram a de falsos negativos na BLS (QUADRO 2) (CSERNI et al., 2002; GOYAL et al., 2006). Alguns autores entendem o uso das duas técnicas como complementares na BLS (ALBERTINI et al., 1996; D'EREDITA et al., 2002). A utilização do corante azul como método único pode levar a baixos índices de identificação e elevadas taxas de falsos negativos, quando comparados ao radiocoloide ou técnicas combinadas de biopsia de LS (CODY et al., 2001).

A combinação das duas técnicas, comparadas ao corante isolado, permite um aumento nas taxas de identificação do LS de 0% a 18% (DEROSSIS et al., 2001; EAST et al., 2009), embora alguns estudos não tenham evidenciado essa vantagem (MORROW et al., 1999; BLESSING et al., 2002; VARGHESE et al., 2007). Técnicas combinadas, segundo Cody et al. (2001), identificam 91% dos casos, com taxas de falsos negativos de 5%. A utilização da técnica combinada do radiocoloide e azul patente é de fácil exequibilidade, pois permite identificar localizações não-usuais do LS e diminui a curva de aprendizado nos centros de treinamento. Atualmente, é a técnica preferida pelos cirurgiões na pesquisa do LS (GIULIANO et al., 2000, MCMASTERS et al., 2000, MCMASTERS et al., 2001; DEROSSIS et al., 2001; VERONESI et al., 2002).

A taxa de identificação do LS nas pacientes submetidas à cirurgia no trabalho foi 100%. Em 100% dos casos os LS estavam corados com a hemossiderina. Da mesma forma, em 100% dos casos, os linfonodos foram identificados com o gama-probe marcados com o Tc99. A identificação do LS com a combinação de hemossiderina e Tc99 apresentou 100% de sensibilidade e acurácia de 100%, dados equivalentes aos trabalhos que têm mostrado a superioridade dos métodos combinados quando comparados a técnicas isoladas (ANEXO E e F). Esses resultados colocam a hemossiderina, associado ao radiocoloide, como uma combinação de métodos viáveis na prática clínica, com taxas de identificação, sensibilidade e

acurácia semelhantes às melhores estatísticas descritas na literatura (CSERNI et al., 2002; MANSEL; GOYAL, 2004).

Há controvérsias a respeito do melhor método de detecção do LS e, revisando a literatura, conclui-se que, com a combinação da linfocintilografia pré-operatória, da definição do local por via do detector gama-probe e da orientação anatômica obtida pelo corante azul vital, obtém-se as mais altas taxas de identificação do LS (NOGUCHI et al., 2011). Estudo mostrou a sensibilidade da cintilografia, com imagens obtidas em uma a duas horas, foi de 56%, porém chegando a 86% com imagens mais tardias (BRENNER et al., 2000). Trabalho sobre a utilidade da cintilografia definiu que o exame é útil, podendo mostrar mais de uma via até o nodo sentinela, que as pacientes poderão receber a injeção do tecnécio, antes do procedimento cirúrgico ou com intervalo de até 17 horas, sem que se alterem os resultados corretos e, quando duas rotas forem mostradas na cintilografia, deve-se procurar por dois pontos com LSs. (XAVIER et al., 2002). Em 100% das pacientes, foi realizada cintilografia pré-operatória, em média duas horas antes do procedimento, com objetivo de avaliar a detecção do LS, com um exame de triagem, que ratificaria ou não a presença de LS capaz de ser identificado pelo Tc99/gama-probe, uma vez que o radiocoloide foi utilizado como controle/padrão-ouro do método, além de avaliar pré-operatoriamente o LS na axila e/ou na cadeia mamária interna. Em todos os pacientes (14/14), foi identificado pela cintilografia o LS axilar e em nenhum dos pacientes (0/14) foi identificado LS na cadeia da mamária interna. Esse dado está de acordo com estudos anatômicos da via drenagem da mama, ao afirmar que 97% da drenagem mamária vão para a axila e apenas 3% para a mamária interna (BOFF; WISINTAINER, 2006).

A cintilografia foi realizada pré-operatoriamente em todos os pacientes, com o objetivo de se avaliar o LS marcado com o radiocolóide, o que ocorreu em 100% dos casos. Como controle do estudo, todos os LS foram avaliados intraoperatoriamente com a sonda do gama-probe, onde era avaliado se o LS estava marcado com o Tc99. Houve concordância entre os dois métodos em 100% dos casos e o LS foi identificada com o Tc99, usando sonda de gama-probe (TABELA 5). Esses resultados credenciam a hemossiderina em associação com o Tc99 na BLS no câncer de mama para que estudos futuros e mais abrangentes ratifiquem a viabilidade de utilizar esse novo corante em associação com o radiomarcador Tc99 na prática clínica. Esses achados estão em sintonia com estudos sobre a utilização de métodos combinados na BLS que associam o Tc99 e azul patente, considerado padrão ouro na BLS, que apresentam aumento taxas de identificação do LS, quando comparados a métodos que

usam substância isoladas. (RUTGERS, 2005; STRAVER et al., 2010). Com a média de dois linfonodos sentinela por pacientes (variando de 1 a 5 LS/Pacientes), essa média está de acordo com os dados da literatura, confirmando a acurácia e a reprodutibilidade do método em estudo (YI et al., 2008).

A BLS, apesar de ter menores índices de complicações do que o EA, apresenta complicações, como seroma, hematoma, infecção, perda de sensibilidade do braço, desconforto do ombro, deficiências sensoriais, lesão do plexo braquial e até morbidades de ordem psicológica (WILKE et al., 2006). Isso instiga pesquisadores do Mundo todo a investigar outros métodos de imagem com potencial de avaliar o comprometimento axilar, diminuir complicações e minimizar falsos negativos no câncer de mama. Inúmeros trabalhos começam a ser divulgados utilizando TC e RNM associados a injeção de ferro supermagnético (FSM) no estadiamento pré-operatório, para excluir metástase em linfonodos axilares, avaliando o potencial de substituir a BLS por métodos de imagem, e, conseqüentemente, eliminando o risco de morbidade associada à BLS (KUIJS et al., 2015; KUTOMI et al., 2014).

Neste estudo, por se tratar de mulheres com tumores iniciais, com as novas perspectivas da utilização da RNM no estadiamento adequado do câncer de mama, a ressonância foi realizada como rotina dos exames pré-operatórios do estudo da hemossiderina, ou seja, uma RNM das mamas e axilas no pré-operatório imediato, em todas as pacientes. A mamografia sozinha, e também mamografia combinada com ultrassom da mama, parecem insuficientes para a avaliação da mama contralateral e o estadiamento do câncer de mama em mulheres, principalmente as que estão em maior risco familiar com ou sem mutação BRCA documentado (KUHL et al., 2005).

Como achado incidental, e de relevância, do estudo clínico com a hemossiderina, uma substância derivada do sangue das pacientes e, sabidamente, rica em ferro, mostrou-se com potencialidade de incorporar ao LA marcado características magnéticas, identificando o linfonodo com hipersinal na RNM pré-operatória. A exemplo dos estudos citados anteriormente que testaram a RNM com FSM no estadiamento axilar pré-operatório, essa característica abre perspectivas para avaliações sobre a possível utilização dessa substância para o diagnóstico de metástases em LA no pré-operatório de mulheres com câncer de mama (KUIJS et al., 2015; KUTOMI et al., 2014).

Após análise das RNM pela equipe cirúrgica e por médicos radiologistas, foi evidenciada linfangiografia da mama e axila, sendo identificadas a rede linfática contrastada e o sinal

magnético contrastando os linfonodos axilares (LA), que, pela análise das suas características ao exame, impregnação da hemossiderina, tamanho e forma dos LA, poderiam sugerir ou excluir o comprometimento metastático. A expressão linfonodo axilar (LA) foi usada quando se referia a linfonodos identificados à RNM com hemossiderina, pois, como se trata de observação preliminar e pré-operatória dos gânglios à imagem, optou-se por só utilizar a dicção linfonodo sentinela (LS) aos que, de fato, foram identificados pelo corante/radiocoloide na BLS à cirurgia. Apesar de ser possível afirmar pela linfografia que os LA identificados, com o aumento do sinal magnético (hipersinal), foram os primeiros que se impregnaram com a hemossiderina na axila, podendo-se fazer uma correlação que os LA vistos na RNM com hemossiderina e àqueles que foram, efetivamente, identificados na biopsia à cirurgia são os mesmos. Foi encontrada em 100% dos casos (14/14) linfangiografia à RNM da mama no lado estudado, bem como a taxa de identificação do LA contrastado à RNM pela hemossiderina foi de 100%(14/14) dos exames (GRÁFICO 1 e 2).

Estudos recentes mostraram que metástase axilar única pode não exigir, obrigatoriamente, EA. Giuliano et al. (2011) demonstraram na avaliação do de ACOSOG Z011 que a sobrevida global em cinco anos dos pacientes com câncer de mama com metástase limitado ao LS, tratado com cirurgia conservadora da mama e terapia sistêmica, não diminuiu quando omitindo EA [92,5%; 95% intervalo de confiança (CI), 90,0-95,1%] em comparação com pacientes que realizaram EA (91,8; 95% IC, 89,1-94,5%) (GIULIANO et al., 2011). Além disso, o impacto do estado linfonodal patológico nas recomendações de tratamento sistêmico adjuvante, em pacientes com axila clinicamente negativa, avaliados pela ultrassonografia e tratados com cirurgia conservadora parece limitado (VAN ROOZENDAAL et al., 2014). Estes novos *insights* criaram uma janela de oportunidade para muitas outras modalidades (imagem) não invasivas a serem utilizados na avaliação do estadiamento do linfonodos axilares (KUIJS et al., 2015).

O potencial da hemossiderina, como marcador magnético, capaz de avaliar pré-operatoriamente o estado axilar à RNM foi demonstrado nos achados de LA visualizados na imagem, onde a média de LA contrastados à RNM foi de 1,5 linfonodo. Em dois casos (2/4) de linfonodos axilares positivos à histopatológica, a imagem da RNM sugeriu colonização neoplásica do linfonodo marcado.

Uma maneira utilizada para expressar a confiabilidade de um teste é por via do índice Kappa (k) que constitui um avanço em relação à taxa geral de concordância, por ser um indicador de concordância ajustada, pois leva em consideração, a concordância decorrente da

chance (BONITA; BEAGLEHOLE; KJELLSTRÖM, 2006). A avaliação da taxa geral de concordância da RNM com hemossiderina/ patologia do LS foi de 75% (12/16) e o valor de $k = 0,714$, incluso no intervalo 0,61-0,80 escala de concordância categorizado com boa concordância. O k de concordância não aleatória (além da esperada pela chance) entre observadores ou medidas da mesma variável categórica, e seu valor varia de "menos 1" (completo desacordo) a "mais 1" (concordância total). Se a medida concorda mais frequentemente do que seria esperado pela chance, então o índice k é positivo; se a concordância é completa $k = 1$. Zero indica o mesmo que leituras feitas ao acaso. No Anexo G a tabela exprime os valores do k e respectivas interpretações (LANDIS; KOCH, 1977). Estes dados demonstram evidências de que este método de imagem RNM com hemossiderina denota boa confiabilidade e justifica ampliação da casuística em novos testes, randomizados, talvez comparando a RNM/hemossiderina com outro grupo utilizando RNM/FSM, avaliando a concordância com a BLS pela patologia.

A avaliação do estado patológico dos LS encontrados no estudo revelou que 72% (10/14) dos casos foram classificados como pN0 - ausência de metástase em linfonodos regionais. Todos os casos sugestivos de LA negativos à RNM com hemossiderina foram analisados pré-operatoriamente, pelas equipes da cirúrgica e da radiologia, que compunham o grupo do trabalho, levando em consideração as características à imagem que sugerissem doença no LS, como a falha de enchimento e realce heterogêneo na imagem do LA da RNM com hemossiderina.

Na avaliação de testes diagnósticos, descreve-se a intensidade da associação, em termos de sensibilidade e especificidade (capacidade do teste em discriminar doentes de não doentes) (ALTMAN; BLAND, 1994; BONITA; BEAGLEHOLE; KJELLSTRÖM, 2006). Em dois pacientes foram confirmados LA metastáticos à RNM com hemossiderina, dando uma sensibilidade de 50% e especificidade de 83% dos casos em discriminar a malignidade e benignidade dos LSs. O valor preditivo negativo de 83% foi alto, revelando a capacidade da RNM/hemossiderina em identificar o estado axilar, analisando os LA que não se apresentavam com características sugestivas de metástases à imagem e comparando com os LSs negativos confirmados na patologia. Dois casos (2/4) LSs foram confirmados metastáticos pela patologia; mas estes não foram diagnosticados corretamente por RNM com hemossiderina, provavelmente, em razão das micrometástases e metástases de tamanho pequeno (0,2mm e 3mm). Um dos linfonodos à patologia comprovou que se tratava de micrometástase - pN1mi (maior que 0,2 mm, porém não maior que 2 mm em sua maior

dimensão). Esta infiltração tumoral não deve ter alterado as características anatômicas e fisiológicas do LS o que, provavelmente, não modificou a forma e a captação magnética do LA à imagem de um dos casos não identificados à RNM, justificando, possivelmente, a falha do método em não identificar um dos dois casos de BLS positivo à patologia.

Estudos futuros de validação da RNM com hemossiderina devem ser planejados com número suficiente de pessoas para que os resultados tenham densidade, agreguem credibilidade e sejam devidamente divulgados, evitando o que se conhece como “viés de amostragem” (SILVA FILHO et al., 2005; NOBRE et al., 2004). A análise preliminar do método da RNM com hemossiderina, que demonstrou baixa sensibilidade e alta especificidade, pode ser atribuída ao pequeno número de pacientes selecionadas para o trabalho, 14 casos. Esse trabalho, cujo objetivo foi o de preencher os critérios de um estudo clínico (Fase I), teve como achado incidental importante a descoberta do potencial da hemossiderina como um marcador magnético autólogo à RNM e que pode contribuir com a avaliação prognóstica pré-operatória do estado axilar.

Esse estudo clínico sugere sobre a possível utilização desse marcador, com propriedades magnéticas, associado à RNM, e abre perspectivas para se avaliar em estudos maiores e duplo-cegos sobre a potencialidade da RNM utilizando a hemossiderina, derivado do ferro da hemoglobina humana, como contraste magnético, a exemplo dos estudos que começam a utilizar métodos de imagens menos invasivos e suas potenciais utilizações como método não cirúrgico de avaliação axilar do câncer de mama. Harnan et al. relataram sensibilidade de 98% e especificidade de 96%, utilizando-RNM/FSM para metástases em linfonodos axilares em pacientes com câncer de mama. Recente meta-análise demonstrou que RNM/FSM é sensível e específico, e superior a outras modalidades na detecção de metástases ganglionares para várias doenças malignas. Foram avaliados a RNM utilizando a injeção subareolar FSM, apresentando realce para a detecção de metástases em linfonodos sentinela que foram localizadas pelo TC/linfografia (TC-LG) em pacientes com câncer de mama. Foi demonstrado que RNM-FSM avalia com precisão a axila e pode evitar a BLS em pacientes com câncer de mama (AHMED; DOUEK, 2014).

Essas descobertas citadas acima possibilitam avançar em métodos menos invasivos para o estadiamento axilar, onde a RNM com hemossiderina têm potencial para, em futuros estudos multicêntricos e randomizados, ocuparem, como marcadores com propriedades magnéticas, um papel semelhante ao ferro supermagnético em associação com a RNM; com vantagens potenciais, visto que o FSM pode causar efeitos colaterais em até 18% dos exames, tais como

exantema, prurido, dor abdominal e / ou lombar, dor no peito e uma reação ortostática (MICHEL et al., 2002) - o que não se observa com a administração da hemossiderina. Outra desvantagem adicional de FSM é que ele não é universalmente disponível, dificuldade que não existe com a hemossiderina, produto autólogo, que pode ser produzido, manipulado e administrado em qualquer laboratório e hospital do Mundo.

O desempenho diagnóstico da ressonância magnética para avaliar estadiamento nodal axilar em pacientes com câncer de mama é promissor, apesar de experimental (LI et al., 2015; POUW et al., 2015). Futuros estudos devem considerar a utilização destes protocolos para avaliar se o desempenho de diagnóstico pode ser aumentado por esta abordagem (KUIJS et al., 2015; MOTOMURA, K et al., 2015). Portanto, ressalvadas essas considerações, os resultados indicaram que a RNM com hemossiderina pré-operatória pode ser útil para prever metástases em linfonodos axilares.

Estudos de BLS utilizando o óxido de ferro superparamagnético (FSM) e um magnetômetro que identifica o magnetismo do FSM se mostram uma alternativa na BLS, com resultados a avaliações alvissareiras. O FSM, injetado no espaço subareolar, concentra magnetismo no LS que é identificado pelo magnetômetro e possibilita ao cirurgião identificar o linfonodo marcado pelo ferro sintético (THILL et al., 2014). Essa técnica, de forma analógica, abre a possibilidade no futuro, com a utilização de um magnetômetro que seja capaz de detectar o magnetismo do ferro concentrado contido na hemossiderina, realizar BLS com esse novo contraste autólogo, agregando as vantagens do FSM quando comparado às substâncias radioativas, superando os métodos atuais por se tratar de uma substância autóloga sem efeitos adversos, de fácil produção e sem necessidade de grande aparato tecnológico.

Como perspectivas, a hemossiderina originária do ferro do núcleo das hemácias hemolisadas, uma substância com propriedades magnéticas, conforme demonstrado neste estudo, poderá ser utilizada de forma isolada na BLS, desde que se tenha um magnetômetro capaz de identificar o seu magnetismo transcutâneo, durante a cirurgia, facilitando a detecção do linfonodo impregnado pelo novo marcador, a exemplo de inúmeras publicações, com a BLS utilizando o ferro supermagnético e dispositivos que o detectam, como mais uma opção aos marcadores radioativos (RUBIO et al., 2015; THILL et al., 2014) (ANEXO H).

A possibilidade de identificar o linfonodo sentinela com um corante isento de reações adversas, em que a segurança seja sua marca registrada, além de conferir propriedades magnéticas ao linfonodo estudado, pode transformar essa descoberta num promissor campo de estudo para o estadiamento do câncer de mama.

Importante ressaltar a descoberta incidental da hemossiderina que, injetada 24 horas antes da cirurgia, comportou-se como marcador magnético à ressonância, possibilitando a identificação da imagem linfangiográfica com as características da rede linfática da mama, dos linfonodos axilares e da mama interna, visualizando-se aspectos da impregnação magnética e morfológicos, que poderiam sugerir benignidade ou malignidade dos gânglios. Todas essas características credenciam a hemossiderina a novos estudos, em que o novo marcador, quer associado a outras substâncias radioativas ou não, possa funcionar em conjunto com a RNM como um exame prognóstico, não invasivo, do estado axilar.

Este estudo comprovou *in vivo*, em seres humanos, que a hemossiderina tem características magnéticas e atua como um novo marcador, potencialmente comparável ao Tc99, padrão-ouro na BLS, pois demonstrou uma taxa de concordância de 100% entre os métodos. Abre perspectivas para mais estudos, em que o novo corante autólogo, sem efeitos adversos, com propriedades magnéticas, ampliando as possibilidades de utilização no estadiamento do câncer de mama; além da possibilidade de realizar pré-operatoriamente a avaliação axilar, via identificação transcutânea na cirurgia, a exemplo de substâncias já incorporadas a prática clínica como as radioativas e o ferro superparamagnético e também de corar o LS, facilitando sua identificação na cirurgia (GHILLI et al., 2015).

Novos caminhos e possibilidades de pesquisas foram sugeridas e serão necessárias com essas novas descobertas. A hemossiderina deverá ser avaliada, nos próximos estudos, em suas múltiplas possibilidades, com maiores casuísticas, onde resultados consistentes serão necessários para ratificar sua eficácia e segurança. Novos estudos deverão ser realizados para abordar as suas múltiplas possibilidades, seja à ressonância, seja com marcador transcutâneo, seja como corante isolado ou associado a outras substâncias radioativas, portanto, a hemossiderina se mostra como mais um instrumento importante no estadiamento do câncer de mama.

6 CONCLUSÃO

A hemossiderina demonstrou ser um corante seguro, sem efeitos adversos, com sensibilidade e acurácia elevadas, equivalente ao tecnécio 99 na Identificação do Linfonodo Sentinela no câncer de mama.

Referências

ACS. American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014. Atlanta: American Cancer Society, Inc. 2013. Disponível em <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-42725.pdf>. Acesso 17 dez 2015.

ACS. American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2015. Atlanta, Ga: American Cancer Society 2015. Disponível em <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@editorial/documents/document/acspc-044552.pdf>> Acesso 17 dez 2015.

AGUILLAR, V. L. N. Rastreamento mamográfico em mulheres com idade entre 40 e 49 anos Julho de 2012. In: Sociedade Brasileira de Mastologia. Disponível em <http://www.sbmastologia.com.br/artigo/rastreamento-mamografico-em-mulheres-com-idade-entre-40-e-49-anos-85.htm> Acesso em 17 dez 2015.

AHMED, M.; DOUEK, M. What is the future of magnetic nanoparticles in the axillary management of breast cancer? **Breast cancer research and treatment**, v. 143, n. 2, p. 213-218, 2014.

ALBERTINI, J. J. et al. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. **Jama**, v. 276, n. 22, p. 1818-1822, 1996.

ALTMAN, D. G.; BLAND, J. M. Diagnostic tests. 1: Sensitivity and specificity. **BMJ: British Medical Journal**, v. 308, n. 6943, p. 1552, 1994.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Sítio Cirúrgico**. Critérios Nacionais de Infecções relacionadas à assistência à saúde Critérios Nacionais de Infecções relacionadas à assistência à saúde.

Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicos/medicamentos/manuais/criterios_nacionais_ISC.pdf
Acesso em 17 dez 2015.

AVIS, N. E. et al. Is there an association between menopause status and sexual functioning? **Menopause**, v. 7, n. 5, p. 297-309, 2000.

BARTHELMES, L. et al. Adverse reactions to patent blue V dye—The NEW START and ALMANAC experience. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, v. 36, n. 4, p. 399-403, 2010.

BASS, S. S. et al. The role of sentinel lymph node biopsy in breast cancer. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 189, n. 2, p. 183-194, 1999.

BÉZU, C. et al. Anaphylactic response to blue dye during sentinel lymph node biopsy. **Surgical oncology**, v. 20, n. 1, p. e55-e59, 2011.

BLESSING, W. D. et al. A comparison of methylene blue and lymphazurin in breast cancer sentinel node mapping. **The American journal of surgery**, v. 184, n. 4, p. 341-345, 2002.

BOFF, R. A.; WISINTAINER, F. Mastologia moderna: abordagem multidisciplinar. In: (Ed.). **Mastologia moderna: abordagem multidisciplinar: Mesa Redonda**, 2006.

BONITA, R.; BEAGLEHOLE, R.; KJELLSTRÖM, T. **Basic epidemiology**. World Health Organization, 2006. ISBN 9241547073.

BORGSTEIN, P. J. et al. Functional lymphatic anatomy for sentinel node biopsy in breast cancer: echoes from the past and the periareolar blue method. **Annals of surgery**, v. 232, n. 1, p. 81, 2000.

BOUGHEY, J. C. et al. Sentinel lymph node surgery after neoadjuvant chemotherapy in patients with node-positive breast cancer: the ACOSOG Z1071 (Alliance) clinical trial. **Jama**, v. 310, n. 14, p. 1455-1461, 2013.

BRENNER, W. et al. Lymph Scintigraphy and Pre-and Intraoperative Gamma Prone Measurements for Localization of Sentinel Lymph Nodes (SLN) in Breast Cancer. **Nuklearmedizin**, v. 39, n. 3, p. 82-87, 2000.

BYERS, T. et al. A midpoint assessment of the American Cancer Society challenge goal to halve the US cancer mortality rates between the years 1990 and 2015. **Cancer**, v. 107, n. 2, p. 396-405, 2006.

BOFF, R. A; WISINTAINER, F. **Mastologia moderna: abordagem multidisciplinar. 1ª ed.** Caxias do Sul, Mesa Redonda, 2006

CABANAS, R. M. An approach for the treatment of penile carcinoma. **Cancer**, v. 39, n. 2, p. 456-466, 1977.

CANÇADO, R. D.; CHIATTONE, C. S. Aspectos atuais do metabolismo do ferro. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, v. 46, p. 10-6, 2001.

CAUDLE, A. S. et al. Multidisciplinary considerations in the implementation of the findings from the American College of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) Z0011 study: a practice-changing trial. **Annals of surgical oncology**, v. 18, n. 9, p. 2407-2412, 2011.

CHAGPAR, A. et al. Validation of subareolar and periareolar injection techniques for breast sentinel lymph node biopsy. **Archives of Surgery**, v. 139, n. 6, p. 614-620, 2004.

CHAO, C. et al. Reliable lymphatic drainage to axillary sentinel lymph nodes regardless of tumor location within the breast. **The American journal of surgery**, v. 182, n. 4, p. 307-311, 2001.

CHARFARE, H.; LIMONGELLI, S.; PURUSHOTHAM, A. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. **British journal of surgery**, v. 92, n. 1, p. 14-23, 2005.

CODY, H. S. Sentinel lymph node mapping in breast cancer. **Breast Cancer**, v. 6, n. 1, p. 13-22, 1999.

CODY III, H. S. et al. Complementarity of blue dye and isotope in sentinel node localization for breast cancer: univariate and multivariate analysis of 966 procedures. **Annals of surgical oncology**, v. 8, n. 1, p. 13-19, 2001.

COX, C. E. et al. Age and body mass index may increase the chance of failure in sentinel lymph node biopsy for women with breast cancer. **The breast journal**, v. 8, n. 2, p. 88-91, 2002.

CSERNI, G. et al. Comparison of vital dye-guided lymphatic mapping and dye plus gamma probe-guided sentinel node biopsy in breast cancer. **World journal of surgery**, v. 26, n. 5, p. 592-597, 2002.

D'EREDITA, G. et al. Effect of the use of vital dye, lymphoscintigraphy, or a combination for axillary lymphatic mapping and sentinel node biopsy in breast cancer. **World journal of surgery**, v. 26, n. 5, p. 588-590, 2002.

DA SILVA FILHOA, C. R. et al. Avaliação da qualidade de estudos clínicos e seu impacto nas metanálises. **Rev Saúde Pública**, v. 39, n. 6, p. 865-73, 2005.

DE LORENZI, D. R. S. et al. Fatores associados à qualidade de vida após menopausa. **Rev assoc med bras**, v. 52, n. 5, p. 312-7, 2006.

DEL NERO, U. Alterações orgânicas no climatério/menopausa que repercutem sobre a sexualidade feminina. **Femina**, v. 16, n. 4, p. 164-7, 2006.

DEROSSIS, A. M. et al. A trend analysis of the relative value of blue dye and isotope localization in 2,000 consecutive cases of sentinel node biopsy for breast cancer. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 193, n. 5, p. 473-478, 2001.

DEWACHTER, P. et al. Anaphylactic reaction to patent blue V after sentinel lymph node biopsy. **Acta anaesthesiologica scandinavica**, v. 50, n. 2, p. 245-247, 2006.

DONE, S. J. Breast Cancer - Recent Advances in Biology, Imaging and Therapeutics. **InTech**. 2011

EAST, J. M. et al. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer using methylene blue dye manifests a short learning curve among experienced surgeons: a prospective tabular cumulative sum (CUSUM) analysis. **BMC surgery**, v. 9, n. 1, p. 2, 2009.

EBO, D. et al. Flow-assisted diagnosis of anaphylaxis to patent blue. **Allergy**, v. 60, n. 5, p. 703-704, 2005.

ERICKSON, V. S. et al. Arm edema in breast cancer patients. **J Natl Cancer Inst**, v. 93, n. 2, p. 96-111, Jan 17 2001.

ESTOURGIE, S. H. et al. Lymphatic drainage patterns from the breast. **Annals of surgery**, v. 239, n. 2, p. 232, 2004.

FENG, Y. et al. Efficacy of physical examination, ultrasound, and ultrasound combined with fine-needle aspiration for axilla staging of primary breast cancer. **Breast cancer research and treatment**, v. 149, n. 3, p. 761-765, 2015.

FILIPPAKIS, G. M.; ZOGRAFOS, G. Contraindications of sentinel lymph node biopsy: are there any really? **World journal of surgical oncology**, v. 5, n. 1, p. 10, 2007.

FISHER, B. et al. Twenty-five-year follow-up of a randomized trial comparing radical mastectomy, total mastectomy, and total mastectomy followed by irradiation. **New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 8, p. 567-575, 2002.

FISHER, B. et al. Findings from NSABP protocol no. b-04: Comparison of radical mastectomy with alternative treatments. II. The clinical and biologic significance of medial-central breast cancers. **Cancer**, v. 48, n. 8, p. 1863-1872, 1981.

FORSCHNER, K. et al. Type I sensitization towards patent blue as a cause of anaphylaxis. **Allergy**, v. 58, n. 5, p. 457-458, 2003.

FRASSON, A et al.. **Doenças da Mama: guia de bolso baseado em evidências**. Editora Atheneu, 2013.

FREITAS, S. et al. Morphologic, morphometric, and ultrastructural aspects of the spleen of rats after hepatic pedicle total clamping. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 6, p. 1314-1321, 2009.

GALIMBERTI, V. et al. Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with sentinel-node micrometastases (IBCSG 23–01): a phase 3 randomised controlled trial. **The lancet oncology**, v. 14, n. 4, p. 297-305, 2013.

GENTILINI, O. et al. Sentinel lymph node biopsy in pregnant patients with breast cancer. **European journal of nuclear medicine and molecular imaging**, v. 37, n. 1, p. 78-83, 2010.

GHERGHE¹, M.; BORDEA, C.; BLIDARU, A. Clinical Significance of the Lymphoscintigraphy in the Evaluation of Non-axillary Sentinel Lymph Node Localization in Breast Cancer. **Chirurgia (Bucharest, Romania: 1990)**, v. 110, n. 1, p. 26, 2015.

GHILLI, M. et al. The superparamagnetic iron oxide tracer: a valid alternative in sentinel node biopsy for breast cancer treatment. **European Journal of Cancer Care**, 2015.

GIULIANO, A. E. Mapping a pathway for axillary staging: a personal perspective on the current status of sentinel lymph node dissection for breast cancer. **Archives of Surgery**, v. 134, n. 2, p. 195-199, 1999.

GIULIANO, A. E. et al. Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further axillary dissection in patients with sentinel node–negative breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 18, n. 13, p. 2553-2559, 2000.

GIULIANO, A. E. et al. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial. **Jama**, v. 305, n. 6, p. 569-575, 2011.

GIULIANO, A. E. et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. **Annals of surgery**, v. 220, n. 3, p. 391, 1994.

GIULIANO, A. E. et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. **Ann Surg**, v. 220, n. 3, p. 391-8; discussion 398-401, Sep 1994.

GIULIANO, A. E. et al. Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: the American College of Surgeons Oncology Group Z0011 randomized trial. **Annals of surgery**, v. 252, n. 3, p. 426-433, 2010.

GOLDIM, J. R. A avaliação ética da investigação científica de novas drogas: a importância da caracterização adequada das fases da pesquisa. **Rev HCPA**, v. 27, n. 1, p. 66-73, 2007.

GOULD, E. A. et al. Observations on a "sentinel node" in cancer of the parotid. **Cancer**, v. 13, n. 1, p. 77-78, 1960.

GOVAERT, G.; OOSTENBROEK, R.; PLAISIER, P. Prolonged skin staining after intradermal use of patent blue in sentinel lymph node biopsy for breast cancer. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, v. 31, n. 4, p. 373-375, 2005.

GRANT, R. N.; TABAH, E. J.; ADAIR, F. E. The surgical significance of the subareolar lymph plexus in cancer of the breast. **Surgery**, v. 33, n. 1, p. 71-78, 1953.

GRAVERSEN, H. P. et al. Breast cancer: risk of axillary recurrence in node-negative patients following partial dissection of the axilla. **Eur J Surg Oncol**, v. 14, n. 5, p. 407-12, Oct 1988.

GUMUS, M. et al. How long will I be blue? Prolonged skin staining following sentinel lymph node biopsy using intradermal patent blue dye. **Breast Care**, v. 8, n. 3, p. 199-202, 2013.

HAAGENSEN, C. Treatment of curable carcinoma of the breast. **International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics**, v. 2, n. 9, p. 975-980, 1977.

HAID, A. et al. Morbidity of breast cancer patients following complete axillary dissection or sentinel node biopsy only: a comparative evaluation. **Breast cancer research and treatment**, v. 73, n. 1, p. 31-36, 2002.

HALLIDAY, J.; RAMM, G.; POWELL, L. Cellular iron processing and storage: the role of ferritin. **Iron metabolism in health and disease. London: WB Saunders Company Ltd**, p. 97-121, 1994.

HALSELL, J. T. et al. Lymphatic Drainage of the Breast Demonstrated by Vital Dye Staining and Radiography. **Ann Surg**, v. 162, p. 221-6, Aug 1965.

HALSTED, W. S. I. The Results of Operations for the Cure of Cancer of the Breast Performed at the Johns Hopkins Hospital from June, 1889, to January, 1894. **Ann Surg**, v. 20, n. 5, p. 497-555, Nov 1894.

HAQUE, R. et al. Anaphylaxis to patent blue V: a case series and proposed diagnostic protocol. **Allergy**, v. 65, n. 3, p. 396-400, 2010.

HUNTING, A. et al. Anaphylaxis to patent blue VI Clinical aspects. **Allergy**, v. 65, n. 1, p. 117-123, 2010.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro, INCA, 2014. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/resources/ses/perfil/gestor/homepage/outros-estaques/estimativa-de-incidencia-de-cancer-2014/estimativa_cancer_24042014.pdf

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa de Câncer no Brasil, 2016. Coordenação de Prevenção e Vigilância INCA, 2015. Disponível em:

< <http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2015/dados-apresentados.pdf>>. Acesso em 17 dez 2015.

JONES, B.; WORWOOD, M.; JACOBS, A. Serum ferritin in patients with cancer: determination with antibodies to HeLa cell and spleen ferritin. **Clinica Chimica Acta**, v. 106, n. 2, p. 203-214, 1980.

KAPTEIJN, B. et al. Identification and biopsy of the sentinel lymph node in breast cancer. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, v. 24, n. 5, p. 427-430, 1998.

KERN, K. A. Concordance and validation study of sentinel lymph node biopsy for breast cancer using subareolar injection of blue dye and technetium 99m sulfur colloid. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 195, n. 4, p. 467-475, 2002.

KESHTGAR, M. R.; BAUM, M. Axillary dissection over the years: where to from here? **World J Surg**, v. 25, n. 6, p. 761-6, Jun 2001.

KETT, K.; VARGA, G.; LUKACS, L. Direct lymphography of the breast. **Lymphology**, v. 3, n. 1, p. 2-12, 1970.

KLIMBERG, V. S. et al. Subareolar versus peritumoral injection for location of the sentinel lymph node. **Annals of surgery**, v. 229, n. 6, p. 860, 1999.

KRAG, D. et al. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. **Surgical oncology**, v. 2, n. 6, p. 335-340, 1993.

KRAG, D. et al. The sentinel node in breast cancer—a multicenter validation study. **New England Journal of Medicine**, v. 339, n. 14, p. 941-946, 1998.

KUEHN, T. et al. Abstract S2-2: Sentinel Lymph Node Biopsy Before or After Neoadjuvant Chemotherapy-Final Results from the Prospective German, multiinstitutional SENTINA-Trial. **Cancer Research**, v. 72, n. 24 Supplement, p. S2-2-S2-2, 2012.

KUEHN, T. et al. A concept for the clinical implementation of sentinel lymph node biopsy in patients with breast carcinoma with special regard to quality assurance. **Cancer**, v. 103, n. 3, p. 451-461, 2005.

KUHL, C. K. et al. Mammography, breast ultrasound, and magnetic resonance imaging for surveillance of women at high familial risk for breast cancer. **Journal of clinical oncology**, v. 23, n. 33, p. 8469-8476, 2005.

KUIJS, V. et al. The role of MRI in axillary lymph node imaging in breast cancer patients: a systematic review. **Insights into imaging**, v. 6, n. 2, p. 203-215, 2015.

KUTOMI, G. et al. Lymph node shape in computed tomography imaging as a predictor for axillary lymph node metastasis in patients with breast cancer. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 8, n. 2, p. 681-685, 2014.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **biometrics**, p. 159-174, 1977.

LANITIS, S. et al. Atypical anaphylactic reaction to Patent Blue during sentinel lymph node biopsy for breast cancer. **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, v. 90, n. 4, p. 338, 2008.

LEONG, S. P. et al. Is breast cancer the same disease in Asian and Western countries? **World journal of surgery**, v. 34, n. 10, p. 2308-2324, 2010.

LI, C. et al. Sentinel lymph node detection using magnetic resonance lymphography with conventional gadolinium contrast agent in breast cancer: a preliminary clinical study. **BMC cancer**, v. 15, n. 1, p. 213, 2015.

LIBERMAN, L. et al. Sentinel Lymph Node Biopsy after Percutaneous Diagnosis of Nonpalpable Breast Cancer 1. **Radiology**, v. 211, n. 3, p. 835-844, 1999.

LU, Q. et al. Imaging lymphatic system in breast cancer patients with magnetic resonance lymphangiography. **PloS one**, v. 8, n. 7, p. e69701, 2013.

LUCCI, A. et al. Surgical complications associated with sentinel lymph node dissection (SLND) plus axillary lymph node dissection compared with SLND alone in the American College of Surgeons Oncology Group Trial Z0011. **Journal of Clinical Oncology**, v. 25, n. 24, p. 3657-3663, 2007.

LYMAN, G. H. et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. **J Clin Oncol**, v. 23, n. 30, p. 7703-20, Oct 20 2005.

LYMAN, G. H. et al. Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. **J Clin Oncol**, v. 32, n. 13, p. 1365-83, May 1 2014.

LYMAN, G. H. et al. Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. **Journal of Clinical Oncology**, v. 32, n. 13, p. 1365-1383, 2014.

MAMOUNAS, E. P. et al. Sentinel node biopsy after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. **Journal of clinical oncology**, v. 23, n. 12, p. 2694-2702, 2005.

MANSEL, R. E. et al. Randomized multicenter trial of sentinel node biopsy versus standard axillary treatment in operable breast cancer: the ALMANAC Trial. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 98, n. 9, p. 599-609, 2006.

MANSEL, R. E.; GOYAL, A. European studies on breast lymphatic mapping. *Seminars in oncology*, 2004. Elsevier. p.304-310.

MANSON, A. L. et al. Anaphylaxis to Patent Blue V: a case series. **Asia Pacific Allergy**, v. 2, n. 1, p. 86, 2012.

MARIANI, G. et al. Radioguided Sentinel Lymph Node Biopsy in Breast Cancer Surgery*. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 42, n. 8, p. 1198-1215, 2001.

MARTIN, R. C. et al. Intradermal isotope injection is superior to intramammary in sentinel node biopsy for breast cancer. **Surgery**, v. 130, n. 3, p. 432-438, 2001.

MASANNAT, Y. A. et al. DNA damaging effects of the dyes used in sentinel node biopsy: possible implications for clinical practice. **Journal of Surgical Research**, v. 154, n. 2, p. 234-238, 2009.

MATHEW, M. et al. Pre-operative lymphoscintigraphy before sentinel lymph node biopsy for breast cancer. **The Breast**, v. 19, n. 1, p. 28-32, 2010.

MAYES, E.; DOUEK, M.; PANKHURST, Q. Surgical magnetic systems and tracers for cancer staging. **Magnetic nanoparticles: from fabrication to clinical applications**. CRC Press, New York, 2012.

MCMASTERS, K. M. et al. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer: a suitable alternative to routine axillary dissection in multi-institutional practice when optimal technique is used. **Journal of Clinical Oncology**, v. 18, n. 13, p. 2560-2566, 2000.

MCMASTERS, K. M.; WONG, S. L.; MARTIN, R. C. Dermal injection of radioactive colloid is superior to peritumoral injection for breast cancer sentinel lymph node biopsy: results of a multiinstitutional study. **Annals of surgery**, v. 233, n. 5, p. 676, 2001.

MENG, Y. et al. Cost-effectiveness of MRI and PET imaging for the evaluation of axillary lymph node metastases in early stage breast cancer. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, v. 37, n. 1, p. 40-46, 2011.

MERTES, P. M. et al. Anaphylaxis to dyes during the perioperative period: reports of 14 clinical cases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 122, n. 2, p. 348-352, 2008.

MICHEL, S. C. et al. Preoperative Breast Cancer Staging: MR Imaging of the Axilla with Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Enhancement 1. **Radiology**, v. 225, n. 2, p. 527-536, 2002.

MONTGOMERY, L. L. et al. Isosulfan blue dye reactions during sentinel lymph node mapping for breast cancer. **Anesthesia & Analgesia**, v. 95, n. 2, p. 385-388, 2002.

MORROW, M. et al. Learning sentinel node biopsy: results of a prospective randomized trial of two techniques. **Surgery**, v. 126, n. 4, p. 714-722, 1999.

MORTON, D. L. et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. **Archives of surgery**, v. 127, n. 4, p. 392-399, 1992.

MOTOMURA, K. et al. Superparamagnetic iron oxide-enhanced MRI at 3 T for accurate axillary staging in breast cancer. **British Journal of Surgery**, 2015.

MOTOMURA, K. et al. Sentinel nodes identified by computed tomography-lymphography accurately stage the axilla in patients with breast cancer. **BMC medical imaging**, v. 13, n. 1, p. 42, 2013.

MUKHERJEE, S. **O imperador de todos os males: uma biografia do câncer**. Tradução Berilo Vargas. Editora Companhia das Letras, 2012.

NAIK, A. M. et al. The risk of axillary relapse after sentinel lymph node biopsy for breast cancer is comparable with that of axillary lymph node dissection: a follow-up study of 4008 procedures. **Annals of surgery**, v. 240, n. 3, p. 462, 2004.

NATHANSON, S. D. et al. Pathways of lymphatic drainage from the breast. **Annals of surgical oncology**, v. 8, n. 10, p. 837-843, 2001.

NCCN. National Comprehensive Cancer Network. Guidelines Version 3.2015 Breast Cancer Panel Members. Disponível em <<http://www.nccn.org/patients,2015>>. Acesso em 17 dez 2015.

NIEWEG, O. E. et al. Rationale for superficial injection techniques in lymphatic mapping in breast cancer patients. **Journal of surgical oncology**, v. 87, n. 4, p. 153-156, 2004.

NOBRE, M. R. C.; BERNARDO, W. M.; JATENE, F. B. A prática clínica baseada em evidências: Parte III Avaliação crítica das informações de pesquisas clínicas. **Rev Assoc Med Bras**, v. 50, n. 2, p. 221-8, 2004.

NOGUCHI, A. et al. Predicting sentinel lymph node metastasis in breast cancer with lymphoscintigraphy. **Annals of nuclear medicine**, v. 25, n. 3, p. 221-226, 2011.

PAGANELLI, G. et al. Optimized sentinel node scintigraphy in breast cancer. **The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 42, n. 1, p. 49, 1998.

PENDAS, S. et al. Sentinel node biopsy and cytokeratin staining for the accurate staging of 478 breast cancer patients/Discussion. **The American Surgeon**, v. 65, n. 6, p. 500, 1999.

PIATO, J. R. M. et al. Occult metastasis in sentinel lymph node in early-stage breast cancer. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 30, n. 9, p. 432-436, 2008.

PINHEIRO, L. G. et al. Hemosiderin: a new marker for sentinel lymph node identification. **Acta Cir Bras**, v. 24, n. 6, p. 432-6, Nov-Dec 2009.

POUW, J. J. et al. Pre-operative sentinel lymph node localization in breast cancer with superparamagnetic iron oxide MRI: the SentiMAG Multicentre Trial imaging subprotocol. **The British journal of radiology**, v. 88, n. 1056, p. 20150634, 2015.

PURUSHOTHAM, A. D. et al. Morbidity after sentinel lymph node biopsy in primary breast cancer: results from a randomized controlled trial. **J Clin Oncol**, v. 23, n. 19, p. 4312-21, Jul 1 2005.

RAMIN, S.; AZAR, F. P.; MALIHE, H. Methylene blue as the safest blue dye for sentinel node mapping: Emphasis on anaphylaxis reaction. **Acta Oncologica**, v. 50, n. 5, p. 729, 2011.

REINTGEN, D. et al. The orderly progression of melanoma nodal metastases. **Annals of surgery**, v. 220, n. 6, p. 759, 1994.

REITSAMER, R. et al. Subareolar subcutaneous injection of blue dye versus peritumoral injection of technetium-labeled human albumin to identify sentinel lymph nodes in breast cancer patients. **World journal of surgery**, v. 27, n. 12, p. 1291-1294, 2003.

RESCIGNO, J.; ZAMPELL, J. C.; AXELROD, D. Patterns of axillary surgical care for breast cancer in the era of sentinel lymph node biopsy. **Annals of surgical oncology**, v. 16, n. 3, p. 687-696, 2009.

ROSES, D. F. **Development of modern breast cancer treatment. In: ROSES D. F. Breast Cancer**, . Philadelphia: Churchill Livingstone: 2005.

RUBIO, I. et al. The superparamagnetic iron oxide is equivalent to the Tc99 radiotracer method for identifying the sentinel lymph node in breast cancer. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, v. 41, n. 1, p. 46-51, 2015.

RUTGERS, E. T. Guidelines to assure quality in breast cancer surgery. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, v. 31, n. 6, p. 568-576, 2005.

SAUER, T.; KÅRESEN, R. The value of preoperative ultrasound guided fine-needle aspiration cytology of radiologically suspicious axillary lymph nodes in breast cancer. **CytoJournal**, v. 11, n. 1, p. 26, 2014.

SBM - Sociedade Brasileira de Mastologia. Risco de desenvolver câncer de mama e fatores que podem influenciar neste risco. Disponível em < <http://www.sbmastologia.com.br/cancer-de-mama/rastreamento-diagnostico-cancer-de-mama/risco-de-desenvolver-cancer-de-mama-e-fatores-que-podem-influenciar-11.htm> > Acesso em 17 de Dez de 2015

SCHERER, K. et al. Anaphylaxis to isosulfan blue and cross-reactivity to patent blue V: case report and review of the nomenclature of vital blue dyes. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 96, n. 3, p. 497-500, 2006.

SENER, S. F. et al. Lymphedema after sentinel lymphadenectomy for breast carcinoma. **Cancer**, v. 92, n. 4, p. 748-52, Aug 15 2001.

SHAH-KHAN, M.; BOUGHEY, J. C. Evolution of axillary nodal staging in breast cancer: clinical implications of the ACOSOG Z0011 trial. **Cancer Control**, v. 19, n. 4, p. 267-76, 2012.

SHIOZAWA, M. et al. Magnetic resonance lymphography of sentinel lymph nodes in patients with breast cancer using superparamagnetic iron oxide: a feasibility study. **Breast Cancer**, v. 21, n. 4, p. 394-401, 2014.

SILVA FILHO, C. R; SACONATO, H; CONTERNOL, L. O et al. Avaliação da qualidade de estudos clínicos e seu impacto nas metanálises. **Rev Saúde Pública**, v. 39, n. 6, p. 865-73, 2005.

SLAMON, D. J. et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. **Science**, v. 235, n. 4785, p. 177-182, 1987.

SLAMON, D. J. et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. **New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 11, p. 783-792, 2001.

SLETH, J.-C. Un accident anaphylactoïde imputé au bleu patenté. Faut-il changer de colorant? , Annales francaises d'anesthesie et de reanimation, 2008. Elsevier Masson. p.515.

SOMASUNDARAM, S. K.; CHICKEN, D. W.; KESHTGAR, M. R. Detection of the sentinel lymph node in breast cancer. **British medical bulletin**, v. 84, n. 1, p. 117-131, 2007.

SPRUNG, J.; TULLY, M. J.; ZISER, A. Anaphylactic reactions to isosulfan blue dye during sentinel node lymphadenectomy for breast cancer. **Anesthesia & Analgesia**, v. 96, n. 4, p. 1051-1053, 2003.

STEARNS, V. et al. Sentinel lymphadenectomy after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer may reliably represent the axilla except for inflammatory breast cancer. **Annals of surgical oncology**, v. 9, n. 3, p. 235-242, 2002.

STRAVER, M. E. et al. Sentinel node identification rate and nodal involvement in the EORTC 10981-22023 AMAROS trial. **Annals of surgical oncology**, v. 17, n. 7, p. 1854-1861, 2010.

TAFRA, L. et al. Multicenter trial of sentinel node biopsy for breast cancer using both technetium sulfur colloid and isosulfan blue dye. **Annals of surgery**, v. 233, n. 1, p. 51, 2001.

TANIS, P. J. et al. Anatomy and physiology of lymphatic drainage of the breast from the perspective of sentinel node biopsy. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 192, n. 3, p. 399-409, 2001.

TEMPLE, L. K. et al. Sensory morbidity after sentinel lymph node biopsy and axillary dissection: a prospective study of 233 women. **Ann Surg Oncol**, v. 9, n. 7, p. 654-62, Aug 2002.

TESSARO, S. B., R. . **Mastologia moderna: abordagem multidisciplinar. Caxias do Sul: Mesa Redonda, 2006.** 2006.

THILL, M. et al. The Central-European SentiMag study: Sentinel lymph node biopsy with superparamagnetic iron oxide (SPIO) vs. radioisotope. **The Breast**, v. 23, n. 2, p. 175-179, 2014.

TURNER, R. R. et al. Pathologic features associated with nonsentinel lymph node metastases in patients with metastatic breast carcinoma in a sentinel lymph node. **Cancer**, v. 89, n. 3, p. 574-581, 2000.

TURNER-WARWICK, R. The lymphatics of the breast. **British Journal of Surgery**, v. 46, n. 200, p. 574-582, 1959.

TUTTLE, T. M. Technical advances in sentinel lymph node biopsy for breast cancer. **The American surgeon**, v. 70, n. 5, p. 407, 2004.

TUTTLE, T. M. et al. Subareolar injection of^{99m}Tc facilitates sentinel lymph node identification. **Annals of surgical oncology**, v. 9, n. 1, p. 77-81, 2002.

VAN ROOZENDAAL, L. et al. The impact of the pathological lymph node status on adjuvant systemic treatment recommendations in clinically node negative breast cancer patients. **Breast cancer research and treatment**, v. 143, n. 3, p. 469-476, 2014.

VAN WELY, B. et al. Meta-analysis of ultrasound-guided biopsy of suspicious axillary lymph nodes in the selection of patients with extensive axillary tumour burden in breast cancer. **British Journal of Surgery**, v. 102, n. 3, p. 159-168, 2015.

VAN ZUUREN, E.; POLDERMAN, M. C.; KUIJKEN, I. Anaphylaxis to patent blue during sentinel lymph node identification. **Contact dermatitis**, v. 53, n. 3, p. 171-171, 2005.

VARGHESE, P. et al. Methylene blue dye versus combined dye-radioactive tracer technique for sentinel lymph node localisation in early breast cancer. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, v. 33, n. 2, p. 147-152, 2007.

VERONESI, U. Conservative treatment of breast cancer: a trial in progress at the Cancer Institute of Milan. **World journal of surgery**, v. 1, n. 3, p. 324-326, 1977.

VERONESI, U. et al. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. **N Engl J Med**, v. 347, n. 16, p. 1227-32, Oct 17 2002.

VERONESI, U. et al. Sentinel node biopsy in breast cancer: early results in 953 patients with negative sentinel node biopsy and no axillary dissection. **European journal of cancer**, v. 41, n. 2, p. 231-237, 2005.

VERONESI, U. et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. **Lancet**, v. 349, n. 9069, p. 1864-7, Jun 28 1997.

VERONESI, U. et al. A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 349, n. 6, p. 546-553, 2003.

VERONESI, U. et al. A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. **N Engl J Med**, v. 349, n. 6, p. 546-53, Aug 7 2003.

VERONESI, U. et al. Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. **New England Journal of Medicine**, v. 305, n. 1, p. 6-11, 1981.

WEAVER, D. L. et al. Pathologic analysis of sentinel and nonsentinel lymph nodes in breast carcinoma. **Cancer**, v. 88, n. 5, p. 1099-1107, 2000.

WEISSBACH, L.; BOEDEFELD, E. Localization of solitary and multiple metastases in stage II nonseminomatous testis tumor as basis for a modified staging lymph node dissection in stage I. **The Journal of urology**, v. 138, n. 1, p. 77-82, 1987.

WHO. World Health Organization. Global Database on Body Mass Index. Disponível em: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html. Acesso 17 dez 2015.

WHO. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Disponível em: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx, Acesso em: 23 Setembro de 2015.

WHO. World Health Organization. BONITA, R; BEAGLEHOLE, R; KJELLSTRÖM, T. **Basic epidemiology**.2006.

Disponível em http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43541/1/9241547073_eng.pdf. Acesso 17 dez 2015.

WILKE, L. G. et al. Surgical complications associated with sentinel lymph node biopsy: results from a prospective international cooperative group trial. **Annals of surgical Oncology**, v. 13, n. 4, p. 491-500, 2006.

WINCHESTER, D. J. et al. Sentinel lymphadenectomy for breast cancer: experience with 180 consecutive patients: efficacy of filtered technetium 99m sulphur colloid with overnight migration time. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 188, n. 6, p. 597-603, 1999.

WÖHRL, S. et al. Near-fatal anaphylaxis to patent blue V. **British Journal of Dermatology**, v. 150, n. 5, p. 1037-1038, 2004.

WU, T.-T. et al. Anaphylactic reaction to patent blue V used in preoperative computed tomography-guided dye localization of small lung nodules. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 20, p. 1e2, 2015.

XAVIER, N. L. et al. Detecção do linfonodo sentinela em câncer da mama: comparação entre métodos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 2002.

YAMAMOTO, S. et al. Breast sentinel lymph node navigation with three-dimensional computed tomography–lymphography: a 12-year study. **Breast Cancer**, p. 1-7, 2015.

YI, M. et al. How many sentinel lymph nodes are enough during sentinel lymph node dissection for breast cancer? **Cancer**, v. 113, n. 1, p. 30-37, 2008.

ZENGEL, B. et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: review on various methodological approaches. **Tumori**, v. 99, n. 2, p. 149-153, 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1-Convite: Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa intitulado: A IDENTIFICAÇÃO DO LINFONODO SENTINELA NA MAMA HUMANA: UM ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O MARCADOR RADIOATIVO TECNÉCIO-99 E UM MARCADOR AUTÓLOGO DERIVADO DO SANGUE; que tem como objetivo comparar a taxa identificação do linfonodo sentinela na mama humana entre o marcador radioativo tecnécio-99 e um marcador autólogo derivado do sangue.

2/3- Descrição e relação dos procedimentos realizados: No pré-operatório, 24 horas antes do procedimento cirúrgico será colhido 08 ml de sangue de veia cubital, de forma asséptica e acondicionado em tubos de coleta com solução anticoagulante (EDTA), 4 ml em cada tubo.

Esses tubos serão colocados, simetricamente, em uma centrífuga por cinco minutos a 3800 rotações por minuto (rpm). A seguir cada tubo será observado, de forma clara, uma interfase; onde a parte superior com o plasma será extraído com uma pipeta e desprezado. Ao restante de cada tubo será adicionado, em igual volume em ml, solução fisiológica de NaCl à 0,9%, com objetivo de dobrar o volume final. Depois de homogeneização manual dos tubos, estes serão recolocados na centrifuga por mais cinco minutos a 3800 rpm. Uma nova interface será evidenciada e, o sobrenadante (uma solução com o soro), será mais uma vez extraída, com esse passo, o concentrado de eritrócitos será obtido em cada tubo.

O concentrado dos tubos será acrescido de igual volume de água bidestilada, com objetivo de duplicar o volume final nos recipientes. Vigorosa homogeneização será realizada manualmente, causando hemólise por diferenças de osmolaridade. Os tubos serão recolocados na centrifuga por mais três minutos para confirmar a hemólise. Após o que será obtida uma solução sem interfaces, ou seja, homogênea, confirmando a hemólise da solução que será usada como marcador na cirurgia para Biopsia do Linfonodo Sentinela (BLS).

O volume de 4 ml do tubo da solução sanguínea processada será injetado na região subareolar da mama, após botão anestésico com xilocaína a 2% sem adrenalina, seguido de uma massagem de 2 minutos e curativo simples, 24 horas antes da cirurgia.

No início do procedimento cirúrgico, após indução anestésica, será injetado na derme da aréola 0,2 ml do marcador radioativo Tecnécio 99, seguido de uma massagem de 2 minutos no local da injeção. Após colocação dos campos operatórios e, após 20 minutos da injeção será realizada incisão axilar orientada pelo local de maior contagem registrada pelo Gama-

probe. A BLS será guiada pela sonda do Gama Probe e pela impregnação do linfonodo com o marcador autólogo sanguíneo derivado do sangue.

Os dados serão registrados na ficha de registro, com ênfase no método da identificação do LS se marcou com o Tc99 e/ou se corou com a solução de sangue hemolisado macroscopicamente e com a análise microscópica do exame de congelação.

Todos os procedimentos descritos são rotineiramente realizados quando há indicação da Biopsia do Linfonodo Sentinela, exceto, a retirada de sangue para a preparação do marcador autólogo derivado do sangue, que por se tratar de um corante proveniente do próprio indivíduo, espera-se, ao contrário de outros corantes vitais, ausência ou mínimos efeitos adversos.

4- Desconfortos e riscos esperados:

Os procedimentos serão realizados sob anestesia. O derivado sanguíneo com anestesia local e o Tc 99 após indução anestésica. Os riscos são inerentes ao procedimento cirúrgico convencional a que o paciente irá se submeter.

5- Benefícios para os participantes: trata-se de estudo experimental testando a hipótese de que um novo marcador (corante) derivado do sangue possa ser mais uma alternativa como corante na BLS da mama humana e possa evitar os efeitos adversos observados, quando comparados a outros corantes sintéticos, uma vez que o marcador derivado do sangue é autólogo e, teoricamente, não causa reações alérgicas, portanto, uma opção mais segura e menos onerosa. Entretanto, somente ao final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício que justifique a utilização deste novo marcador nos procedimentos de BLS na mama humana.

6- Procedimentos alternativos: na BLS são usados rotineiramente corantes como: azul patente, azul isossulfan e azul de metileno. Os dois primeiros são os mais utilizados e apresentam índices de reações alérgicas que variam de 0,6 a 2,7% e o azul de metileno pode, eventualmente, apresentar necrose de pele e gordura no local da injeção. Corantes vitais não devem ser administrados em mulheres grávidas. Podem ser, também, utilizados marcadores radioativos como o tecnécio 99, radiocolóides são seguros nas dosagens preconizadas, mas não devem ser administradas em mulheres com menos de 30 semanas de gestação.

7 – Direito de se retirar do estudo: você tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem prejuízo para seu tratamento na Instituição.

8 – Direito de confidencialidade: as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

9 – Direito de ser mantido atualizado: sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

10 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

11 - Compromisso do pesquisador: utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

12- Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Paulo Henrique Diógenes Vasques, que pode ser encontrado no endereço Rua Papi Júnior, 1511 - Rodolfo Teófilo-CEP: 60430-230, Fortaleza-CE, Fone/Fax: +55 (85) 32836700.

OBS: “Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC – Rua Capitão Francisco Pedro 1290, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8589 – E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br”

•. Caso você se sinta suficientemente informado a respeito das informações que leu ou que foram lidas para você sobre os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos

permanentes e que sua participação é voluntária, que não há remuneração para participar do estudo e se você concordar em participar solicitamos que assine no espaço abaixo:

x-----

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

x-----

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

*Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

x-----

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

APÊNDICE B - FICHA DE REGISTRO DO PROJETO

IDENTIFICAÇÃO DO LINFONODO SENTINELA NA MAMA HUMANA; UM ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O MARCADOR RADIOATIVO TECNÉSIO-99 E UM MARCADOR AUTÓLOGO DERIVADO DO SANGUE.

Data da cirurgia ___/___/___

Início: _____ Término: _____

Paciente _____

Peso: _____ kg

Procedimento cirúrgico :

BLS da MAMA: () direita () esquerda

injeção do tecnécio(0,5 mCi) subareolar: _____ h

injeção do marcador autólogo sanguíneo (2,5 ml) subareolar: _____ h

contagem do sítio sub-areolar pós injeção com o probe: _____

identificação e contagem do sitio axilar marcado com o probe: _____ h, contagem _____

incisão axilar: _____ h

LINFONODO SENTINELA no-1

identificação do linfonodo sentinela com o probe: sim() não()

contagem in vivo: _____

contagem ex-vivo: _____

linfonodo(s) corado(s) com marcador autólogo sanguíneo n^o: _____

intercessão dos dois métodos: sim() não()

LINFONODO SENTINELA no-2

identificação do linfonodo sentinela com o probe: sim() não()

contagem in vivo: _____

contagem ex-vivo: _____

linfonodo(s) corado(s) com marcador autólogo sanguíneo n^o: _____

intercessão dos dois métodos: sim() não()

Registro fotográfico N° _____

OBS:

APÊNDICE C - REGIÃO PÓS-INJEÇÃO DE HEMOSSIDERINA SUBAREOLAR DA MAMA

Figura 17 - Região pós-injeção de hemossiderina subareolar da mama. Persistência de pequena equimose imediatamente após a administração subareolar da hemossiderina em duas pacientes do estudo.



Fonte: Dados da pesquisa (2013).



Fonte: Dados da pesquisa (2013).

APÊNDICE D – TRABALHO PUBLICADO NA ACTA CIRÚGICA BRASILEIRA

APÊNDICE E – PATENTE DEPOSITADA NO INPI

ANEXOS

ANEXO A- CLASSIFICAÇÃO CLÍNICA – TNM

T - Tumor Primário

TX O tumor primário não pode ser avaliado

T0 Não há evidência de tumor primário

Tis Carcinoma in situ:

Tis (CDIS) Carcinoma ductal in situ

Tis (CLIS) Carcinoma lobular in situ

Tis (Paget) Doença de Paget do mamilo sem associação com carcinoma in situ ou infiltrante

Nota: A doença de Paget associada com tumor é classificada de acordo com o tamanho do tumor

T1 Tumor com 2 cm ou menos em sua maior dimensão.

T1mic Microinvasão de 0,1 cm ou menos em sua maior dimensão

Notas: Microinvasão é a extensão de células neoplásicas além da membrana basal, alcançando os tecidos adjacentes, sem focos tumorais maiores do que 0,1 cm em sua maior dimensão. Quando há focos múltiplos de microinvasão, somente o tamanho do maior foco é utilizado para classificar a microinvasão. (Não usar a soma dos focos individuais) A presença de múltiplos focos de microinvasão deve ser anotada como se faz com os carcinomas invasores extensos múltiplos.

T1a Com mais de 0,1 cm, até 0,5 cm em sua maior dimensão

T1b Com mais de 0,5 cm, até 1 cm em sua maior dimensão

T1c Com mais de 1 cm, porém não mais de 2 cm em sua maior dimensão

T2 Tumor com mais de 2 cm, porém não mais de 5 cm em sua maior dimensão

T3 Tumor com mais de 5 cm em sua maior dimensão

T4 Tumor de qualquer tamanho com extensão direta à parede torácica ou à pele, somente como descritos em T4a a T4d

Nota: A parede torácica inclui costelas, músculos intercostais, músculo serrátil anterior, mas não inclui o músculo peitoral.

T4a Extensão à parede torácica

T4b Edema (inclusive "pele de laranja" 'peau d'orange'), ou ulceração da pele da mama, ou nódulos cutâneos satélites confinados à mesma mama

T4c Ambos (T4a e T4b), acima

T4d Carcinoma inflamatório

Nota: O carcinoma inflamatório da mama é caracterizado por um endurecido difuso e intenso da pele da mama com bordas erisipelóides, geralmente sem massa tumoral subjacente. Se a biópsia de pele for negativa e não existir tumor primário localizado mensurável, o carcinoma inflamatório clínico (T4d) é classificado patologicamente como pTX. A retração da pele, do mamilo ou outras alterações cutâneas, exceto aquelas incluídas em T4b e T4d, podem ocorrer em T1, T2 ou T3, sem alterar a classificação.

N- Linfonodos Regionais

NX Os linfonodos regionais não podem ser avaliados (p. ex., por terem sido previamente removidos)

N0 Ausência de metástase em linfonodos regionais

N1 Metástase em linfonodo(s) axilar(es), homolateral(ais), móvel(eis)

N2 Metástase em linfonodo(s) axilar(es) homolateral(is) fixo(s) ou metástase clinicamente aparente* em linfonodo(s) mamário(s) interno(s) homolateral(is), na ausência de evidência clínica de metástase em linfonodo(s) axilar(es)

N2a Metástase em linfonodo(s) axilar(es) fixos uns aos outros ou a outras estruturas

N2b Metástase clinicamente aparente* em linfonodo(s) mamário(s) interno(s), na ausência de evidência clínica de metástase em linfonodo(s) axilar(es)

N3 Metástase em linfonodo(s) infraclavicular(es) homolateral(ais) com ou sem envolvimento de linfonodo(s) axilar(es); ou clinicamente aparente* em linfonodo(s) mamário(s) interno(s) homolateral(is), na presença de evidência clínica de metástase em linfonodo(s) axilar(es); ou metástase em linfonodo(s) supraclavicular(es) homolateral(is) com ou sem envolvimento de linfonodo(s) axilar(es) ou mamário(s) interno(s)

Notas: *cl clinicamente aparente = detectado por exame clínico ou por estudos de imagem (excluindo linfocintigrafia)

N3a Metástase em linfonodo(s) infraclavicular(es)

N3b Metástase em linfonodo(s) mamário(s) interno(s) e axilares

N3c Metástase em linfonodo(s) supraclavicular(es)

M - Metástase à Distância

MX A presença de metástase à distância não pode ser avaliada

M0 Ausência de metástase à distância

M1 Metástase à distância

A categoria M1 pode ser adicionalmente especificada de acordo com as seguintes notações:

Pulmonar PUL (C34)

Medula óssea MO [MAR](C42.1)

Óssea OSS (C40, 41)

Pleural PLE (C38.4)

Hepática HEP (C22)

Peritoneal PER (C48.1,2)

Cerebral CER [BRA] (C71)

Supra-renal (Adrenal)ADR (C74)

Linfonodal LIN [LYM](C77)

Pele CUT [SKI](C44)

Outras OUT [OTH]

pTNM - Classificação Patológica

pT - Tumor Primário

A classificação histopatológica requer o exame do carcinoma primário sem tumor macroscópico nas margens de ressecção. Um caso pode ser classificado como pT se houver somente tumor microscópico em uma margem.

As categorias pT correspondem às categorias T.

Nota: Ao se classificar a categoria pT, o tamanho do tumor é a medida do componente invasivo. Se há um grande componente in situ (p. ex., 4 cm) e um pequeno componente invasor (p. ex., 0,5 cm), o tumor é codificado como pT1a.

pN - Linfonodos Regionais

A classificação histopatológica requer a ressecção e o exame, pelo menos, dos linfonodos axilares inferiores (nível I). Tal ressecção incluirá, geralmente, 6 ou mais linfonodos. Se os linfonodos são negativos, mesmo que o número usualmente examinado seja não encontrado, classifica-se como pN0.

O exame de um ou mais linfonodos sentinelas pode ser usado para a classificação patológica. Se a classificação é baseada somente em biópsia do linfonodo sentinela sem dissecação subsequente dos linfonodos axilares, deve ser designado como (sn) para linfonodo sentinela, p. ex., pN1(sn).

pNX Os linfonodos regionais não podem ser avaliados (não removidos para estudo ou previamente removidos)

pN0 Ausência de metástase em linfonodos regionais*

Nota: *Casos somente com células tumorais isoladas (CTI [ITC]) nos linfonodos regionais são classificados como pN0. As CTI [ITC] são células tumorais únicas ou em pequenos grupamentos celulares, não maiores que 0,2 mm em sua maior dimensão, que são geralmente detectadas por imunohistoquímica ou métodos moleculares, mas que poderiam ter sido verificados pela coloração de rotina (H&E). As CTI [ITC], tipicamente, não mostram evidência de atividade metastática, p. ex., proliferação ou reação estromal.

pN1 Metástase em 1-3 linfonodo(s) axilar(es) homolateral(is), e/ou linfonodo(s) mamário(s) interno(s) homolateral(is) com metástase microscópica detectada por dissecação de linfonodo sentinela, porém não clinicamente aparente**

pN1mi Micrometástase (maior que 0,2 mm, porém não maior que 2 mm em sua maior dimensão)

pN1a Metástase em 1-3 linfonodo(s) axilar(es) incluindo pelo menos um maior que 2 mm em sua maior dimensão

pN1b Metástase microscópica em linfonodos mamários internos detectada por dissecação de linfonodo sentinela, porém não clinicamente aparente**

pN1c Metástase em 1-3 linfonodos axilares e metástase microscópica em linfonodos mamários internos detectada por dissecação de linfonodo sentinela, porém não clinicamente aparente**

pN2 Metástase em 4-9 linfonodos axilares homolaterais, ou em linfonodo(s) mamário(s) interno(s) homolateral(is), clinicamente aparente***, na ausência de metástase em linfonodos axilares

Notas: **não clinicamente aparente = não detectado por exame clínico ou por estudos de imagem (excluindo linfocintigrafia).***clinicamente aparente = detectado por exame clínico ou por estudos de imagem (excluindo linfocintigrafia) ou macroscopicamente visível patologicamente.

pN2a Metástase em 4-9 linfonodos axilares incluindo, pelo menos, um maior que 2 mm

pN2b Metástase em linfonodo(s) mamário(s) interno(s), clinicamente aparente, na ausência de metástase em linfonodos axilares

pN3 Metástase em 10 ou mais linfonodos axilares homolaterais; ou em linfonodos infraclaviculares homolaterais; ou metástase clinicamente aparente em linfonodo(s) mamário(s) interno(s) homolateral(is), na presença de um ou mais linfonodos axilares positivos; ou em mais de 3 linfonodos axilares clinicamente negativos, metástase microscópica em linfonodos mamários internos; ou em linfonodos supraclaviculares homolaterais

pN3a Metástase em 10 ou mais linfonodos axilares (pelo menos um maior que 2 mm) ou metástase em linfonodos infraclaviculares

pN3b Metástase clinicamente aparente em linfonodo(s) mamário(s) interno(s), na presença de linfonodos axilares positivos; ou metástase em mais de 3 linfonodos axilares e em linfonodos mamários internos com metástase microscópica detectada por dissecação de linfonodo sentinela, porém não clinicamente aparente

pN3c Metástase em linfonodos supraclaviculares

pM - Metástase à distância

As categorias pM correspondem às categorias M.

Gradação Histopatológica:

Gx: Grau não pode ser avaliado

G1: Grau histológico combinado baixo (favorável)

G2: Grau histológico combinado intermediário (moderadamente favorável)

G3: Grau histológico combinado Alto (desfavorável)

Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19-403-410.

Classificação R

A ausência ou presença de tumor residual após o tratamento pode ser descrita pelo símbolo R. As definições da classificação R são:

RX A presença de tumor residual não pode ser avaliada

R0 Ausência de tumor residual

R1 Tumor residual microscópico

R2 Tumor residual macroscópico

Grupamento por Estádios

Estádio 0 Tis N0 M0

Estádio IA T1* N0 M0

Estádio IB T0 N1mi M0

T1* N1mi M0

Estádio IIA T0 N1** M0

T1* N1** M0

T2 N0 M0

Estádio IIB T2 N1 M0

T3 N0 M0

Estádio IIIA T0 N2 M0

T1* N2 M0

T2N2 M0

T3N1, N2M0

Estádio IIIB T4 N0, N1, N2 M0

Estádio IIIC Qualquer T N3 M0

Estádio IV Qualquer T Qualquer N M1

Nota: * T1 inclui o T1mic. ** Tumores T0 e T1 são excluídos do estágio IIA e são classificados como IB

Fonte: O American Joint Committee on Cancer (AJCC) em sua sétima edição (NCCN.ORG, 2015)

ANEXO B – CLASSIFICAÇÃO DO IMC

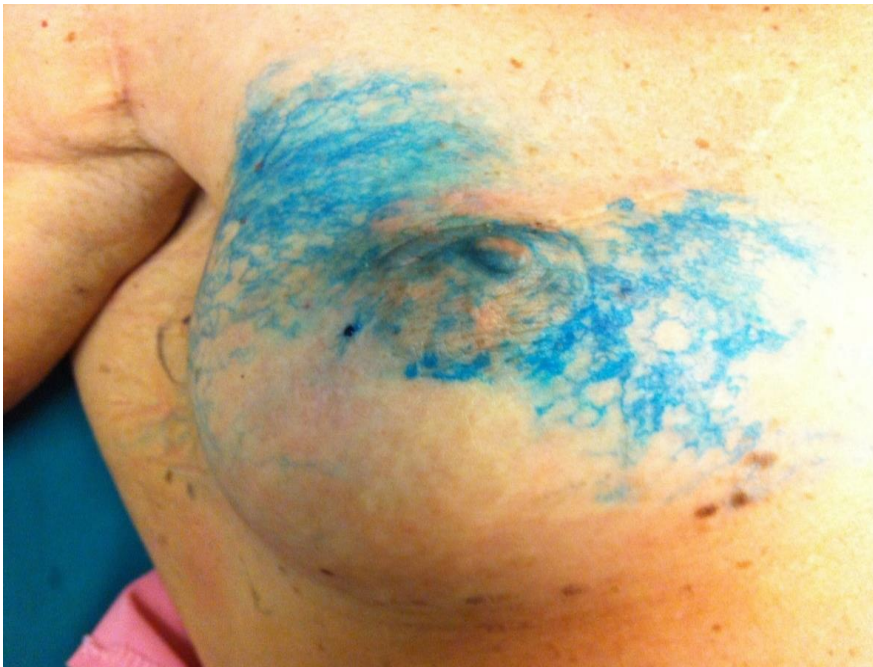
Quadro 1- Classificação do IMC

IMC	Classificação
< 16	Magreza grave
16 a < 17	Magreza moderada
17 a < 18,5	Magreza leve
18,5 a < 25	Saudável
25 a < 30	Sobrepeso
30 a < 35	Obesidade Grau I
35 a < 40	Obesidade Grau II (severa)
≥ 40	Obesidade Grau III (mórbida)

Fonte: World Health Organization (WHO/OMS, 2015)

**ANEXO C - COLORAÇÃO DA PELE IMEDIATAMENTE APÓS A
ADMINISTRAÇÃO DO CORANTE AZUL PATENTE PARA BLS DA MAMA**

Figura 18 - Coloração da pele após a administração do corante azul patente para BLS da mama, em duas pacientes, imediatamente após injeção de azul patente subareolar



Fonte: Prof. Dr. Luiz Porto

ANEXO D - COLORAÇÃO PERSISTENTE DA PELE APÓS A ADMINISTRAÇÃO DO CORANTE AZUL PATENTE PARA BLS DA MAMA

Figura 19 - A) Coloração persistente da pele após a administração do corante azul patente para BLS da mama. Coloração na pele, em um paciente de 65 anos de idade, coloração azul forte é visível uma semana após a injeção do corante azul para BLS



Fonte: Prof. Dr. Metehan Gumus

**ANEXO E - COLORAÇÃO PERSISTENTE DA PELE APÓS A ADMINISTRAÇÃO DO
CORANTE AZUL PATENTE PARA BLS DA MAMA**

Figura 19 - B) – Coloração persistente da pele após a administração do corante azul patente para BLS da mama. Coloração na pele, em um paciente de 68 anos de idade, após 2 anos da injeção de corante azul, coloração fraca na pele ainda pode ser identificada



Fonte: Prof. Dr. Metehan Gumus

ANEXO F - BLS EM CÂNCER DE MAMA - ANÁLISE COMPARATIVA DE ESTUDOS UTILIZANDO VÁRIOS ISÓTOPOS RADIOATIVO

QUADRO 2 - BLS Em câncer de mama - análise comparativa de estudos utilizando vários Isótopos radioativo.

Autor	Tipo de coloide	N	Volume (ml)	Dose (mCi)	Sítio da injeção	Taxa de identificação (%)	Falso negativo (%)
Krag	SC	22	0,5	0,4	PT	82	0
Schmidt	SCF	30	16	0,8	PT	97	0
Mertz	SCF	32	0,4	0,05	PT	97	10
Offodile	DX	41	0,5	1	IT	98	0
Miner	SC	41	4	1	PT	98	14
Mertz	SCF	47	0,4	0,05	AS	98	0
Crossin	SC	50	4	1	PT	84	13
Rubio	SC	55	4	1	PT	96	12
Snider	SC	80	4	1	PT	88	7
Roumen	NC	83	2	1,60	PT	69	4
Sandrucci	HÁ	84	0.25	0,1	SD	89	6
Reuhl	NC	96	0.5	1,5	PT	80	18
Rull	LC	100	2	0,3	PT	97	5
Borgstein	NC	130	4	1,1	PT	94	5
Veronesi	HÁ	163	0.2	0,2	SD	98	5
Zurrida	HÁ	376	0.2	0,2	SD/PT	99	7
Krag	SC	443	4	1	PT	93	11

Fonte: Fonte: TANIS et al., 2001. Tradução e adaptação do autor.

**ANEXO G - BLS EM CÂNCER DE MAMA: ESTUDOS USANDO TÉCNICAS
COMBINADAS**

Quadro 3: BLS em câncer de mama: estudos usando técnicas combinadas

Autor	Tipo de colóide	N	Volume (ml)	Dose (mCi)	Sítio da injeção	Taxa de id (%)	Corante	Falso (-) (%)
Schneebaum	RC	30	NS	1,6	NS	93	PB	22
Borgstein	NC	33	NS	1,1	PT	100	PB	0
Liberman	SC	33	4	0,3	PT/ID	91	IS	0
Barnwell	SCf	42	1+3*	1	PT	90	IS	0
Imoto	HÁ/TC	58	2,5	1,1	SD	93	IC	8-12
O'Hea	SC	59	4	0,3	PT	93	IS	13
Chatterjee	NC	60	NS	0,4	PT	97	PB	5
Albertini	SCf	62	NS	0,4	PT	92	IS	0
Van der Ent	NC	70	4	10	PT	100	PB	4
Jaderborg	SC	79	2-6	0,3	PT	81	IS	5
Canavese	MS/HÁ	99	0,1-0,3	0,3	PT/SD	96	PB	15
Bedrosian	SCf	104	6	1	PT	99	IS	3
Hill	SC/SCf	104	NS	0,3	PT	93	IS	11
Doting	NC	136	0,2	1,4	IT	93	PB	5
Bass	SCf	186	0,2	0,5	PT	93	IS	11
Cox	SCf	466	6	0,5	PT	94	IS	1

Fonte: TANIS et al., 2001. Tradução e adaptação do autor.

*Colóide e corante juntos

IC, índico carmim; ID, intradermal; IS azul de isossulfan; DX, dextram; HÁ, Albumina Coloidal

humana; MS, microcolóide sulfide; NC, nanocolóide; PB, azul patente; RC, rhenium colóide; TC, tin

colóide; IT, intra tumoral; NC, nanocolóide; PT, peritumoral; SC, sulfuro colóide; SCF, filtrado sulfúrico

colóide; SD, subdermal.

ANEXO H - ESCALA DE CONCORDÂNCIA DO KAPPA

Tabela 11 Escala de concordância do Kappa

Kappa	Concordância
<0,00	Nenhuma
0,00-0,20	Fraca
0,21-0,40	Sofrível
0,41-0,60	Regular
0,61-0,80	Boa
0,81-0,99	Ótima
1,00	Perfeita

Adaptado de Landis & Koch, Biometrics, 1977

Fonte: Adaptado de Landts e Koch, Biometrics, 1997

ANEXO I - MAGNETÓMETRO

Figura 20 - Magnetómetro A) O Sentimag® instrumento usa o princípio de susceptometria magnética e gera um campo magnético alternado que transitoriamente magnetiza as partículas de FSM (óxido de ferro em Sienna +®)



Fonte: <http://www.endomagnetics.com/sentimag>

B) Ilustração de BLS Utilizando o Sentimag®



Fonte: <http://www.endomagnetics.com/sentimag>

ANEXO J – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.