



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

BRUNO TIGRE DE ARRUDA LEITÃO

MODELO EXPERIMENTAL PARA PESQUISA DE
LINFONODO SENTINELA NO PÊNIS DO CÃO

FORTALEZA
2010

BRUNO TIGRE DE ARRUDA LEITÃO

MODELO EXPERIMENTAL PARA PESQUISA DE LINFONODO
SENTINELA NO PÊNIS DO CÃO

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará como requisito para obtenção do Título de Mestre em Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro

FORTALEZA
2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L548m Leitão, Bruno Tigre de Arruda.

MODELO EXPERIMENTAL PARA PESQUISA DE LINFONODO SENTINELA NO PÊNIS DO
CÃO / Bruno Tigre de Arruda Leitão. – 2011.
70 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação
em Cirurgia, Fortaleza, 2011.

Orientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro.

1. Cancer penis. 2. Biopsia linfonodo sentinela. 3. Tecnecio. 4. Modelo animais. I. Título.

CDD 617

BRUNO TIGRE DE ARRUDA LEITÃO

MODELO EXPERIMENTAL PARA PESQUISA DE LINFONODO
SENTINELA NO PÊNIS DO CÃO

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará como requisito para obtenção do Título de Mestre em Cirurgia.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro (Orientador)

Prof. Dr. Marcos Venício Alves Lima

Prof. Dr. Francisco Edson de Lucena Feitosa

A Deus, que ilumina meu caminho e
nada me deixa faltar.

Aos meus pais, Marcelo Chagas Leitão
e Ilse Maria Tigre de Arruda Leitão
pelo apoio e motivação.

A minha amada esposa Celina Aguiar Frota Tigre,
pelo estímulo e dedicação na realização desta obra.

A minha filha Beatriz Frota Tigre pela
compreensão nos momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. PAULO ROBERTO LEITÃO DE VASCONCELOS, Professor Associado do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Coordenador do Programa de Pós-graduação *stricto sensu* do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela dedicação nas suas atividades neste programa e pelo apoio e incentivo para elaboração desta Dissertação.

Ao Professor doutor LUIZ GONZAGA PORTO PINHEIRO, Chefe do Serviço de Mastologia da Maternidade-Escola Assis Chateaubriand e Coordenador do Laboratório de Cirurgia Experimental Dr. Saul Goldenberg, pelo incentivo, colaboração e orientação para realização deste trabalho.

Aos alunos da graduação PEDRO MACÊDO ESMERALDO BARBOSA, DIEGO ALVES CRUZ E JOÃO IVO XAVIER ROCHA pela colaboração nos experimentos e coleta de dados.

Às Secretárias do Programa de Pós-graduação *stricto sensu* do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA E MAGDA MARIA GOMES FONTENELE por todo apoio e atenção dedicados aos alunos da Pós-Graduação.

Aos que fazem parte da clínica Omnimagem que gentilmente forneceram materiais para os experimentos.

Aos diretores e funcionários do Centro de Zoonose de Fortaleza que prontamente disponibilizaram os animais para a pesquisa.

*“Quando se busca o cume da montanha,
não se dá importância às pedras no caminho”.*

(Provérbio oriental)

RESUMO

LEITÃO, Bruno Tigre de Arruda. Modelo Experimental para Pesquisa de Linfonodo Sentinela no Pênis do Cão [Dissertação de Mestrado]. Fortaleza: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, 2010. 68p.

O câncer de pênis é uma neoplasia rara nos países desenvolvidos, porém preocupante nos países da América Latina, Ásia e África. No Brasil representa cerca de 2% dos tumores malignos masculinos. Considerando essa incidência, estima-se para 2010 cerca de 160 casos novos no Ceará. Como há uma escassez de publicações sobre esta doença, ainda há inúmeras questões no seu manejo. O pênis tem características de drenagem linfática peculiares. No seu tratamento são realizadas linfadenectomia inguinal bilateral que têm elevada morbidade (edema e infecção de membros inferiores). Cabanas descreveu pela primeira vez o conceito anatômico de linfonodo sentinela que infelizmente não ganhou a confiabilidade esperada. Seguindo a mesma linha de pesquisa de linfonodo sentinela em modelos caninos para mama e estômago, este trabalho tem como objetivo definir um modelo experimental de pesquisa do linfonodo sentinela em pênis de cães, utilizando-se azul patente e o fitato Tecnécio ^{99m}Tc . Este modelo pode servir tanto para treinamento de profissionais na pesquisa do linfonodo sentinela para o câncer de pênis, quanto para avaliar outros métodos de pesquisa factíveis que possam ser levados para prática clínica. Foram utilizados nos procedimentos 19 cães, adultos, sadios, sem raça definida, com peso variando entre 10 e 20kg. Infiltrou-se 0,2 ml de solução fisiológica contendo 5milicurie de Tecnécio na borda anterior da glândula peniana (eixo de 12h); após 10 minutos injetou-se 0,5mL de azul patente no mesmo local. Esperado mais 10 minutos pesquisou-se transcutaneamente com o probe pontos “quentes” na região inguinal e cadeias ilíacas. Neste local realizou-se incisão e avaliou-se com o detector de radiação portátil o linfonodo sentinela *in-vivo* e *ex-vivo*, anotando-se os valores. Registrados os linfonodos corados e não corados com azul patente foi feita a análise estatística e intercessão dos dois métodos. Nesse estudo observa-se em 94.76% dos casos a identificação do linfonodo sentinela através do uso do azul patente e do tecnécio. Não houve diferença estatística na sua identificação entre os lados direito e esquerdo ($P>0,05$) e houve boa correlação entre os métodos de coloração pelo azul patente e de marcação com tecnécio ($\text{kappa}:0,642$) à direita e correlação perfeita entre os métodos à esquerda ($\text{kappa}:1$), indicando uma boa constância nos procedimentos. Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que a pesquisa no linfonodo sentinela no pênis do cão é exequível.

Palavras-chave: Câncer Pênis. Biópsia de Linfonodo Sentinela. Tecnécio. Modelos Animais.

ABSTRACT

LEITÃO, Bruno Tigre de Arruda. Identification of Sentinel Lymph of Inguinal Region in Dogs Model. [master thesis]. Fortaleza: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, 2010. 68p.

Cancer of the penis is a rare neoplasm in developed countries, but troubling in the countries of Latin America, Asia and Africa. In Brazil represents about 2% of male malignancies. Considering this incidence is estimated for 2010 some 160 new cases in Ceará. Because there is a scarcity of publications on this disease, there are still numerous issues in their management. The penis has peculiar features of lymphatic drainage. In its treatment are carried out bilateral inguinal lymphadenectomy, which have high morbidity (infection and swelling of limbs). Cabanas first described the anatomical concept of sentinel lymph node which unfortunately did not win the reliability expected. Perhaps the disbelief in this procedure refers to the fact that few series deserve credibility, which hinders their diffusion as well as high rates of false negatives. Following the same line of sentinel lymph node in canine models for breast and stomach, this work aims to define an experimental model of sentinel lymph node in dog penis, using patent blue and technetium 99m phytate. This model can serve both for training of professionals in the sentinel lymph node biopsy for penile cancer, how to evaluate other feasible research methods that can be brought into clinical practice. Procedures were used in 19 dogs, healthy adult, mixed breed, weighing between 10 and 20kg. Infiltrated 0.2 ml of saline containing Technetium 5 μ Ci the leading edge of the glans penis (shaft 12h), after 10 minutes injected with 0.5 mL of patent blue in one place. Waiting over 10 minutes was searched with the probe transcutaneously hot spots in the inguinal and iliac chains. In this place an incision was made and evaluated with the probe sentinel lymph node in-vivo and ex vivo, writing down the values. Registered lymph nodes stained and not stained with blue dye was performed statistical analysis and intercession of the two methods. It is observed in this study, the identification of 94.76% of the SLN. There was no statistical difference between right and left sides ($P > 0.05$) and there was good correlation between the methods of patent blue staining and labeling with technetium (κ : 0.642) on the right and perfect correlation between the methods the left (κ : 1) indicating a good consistency in the procedures. Based on these results, we can conclude that research in the penis linfondo sentry dog is feasible.

Keywords: Sentinel Lymph Node biopsy. Penile cancer. Technetium. Animal models

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CP - carcinoma peniano

CEC - carcinoma espinocelular

PAAF - punção aspirativa por agulha fina

BLS - Biópsia de Linfonodo Sentinela

IARC - International Agency Research in Cancer

INCA - Instituto Nacional do Câncer

DGI - Detecção Gama Intra-operatória

IPEN - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

LS - Linfonodo Sentinela

LPO - linfocintilografia pré-operatória

BLS - biópsia do linfonodo sentinela

AP - azul patente

UFC- Universidade Federal do Ceará

Tc-99m - Isótopo Tecnécio peso atômico 99

CEPA - Comitê de Ética em Pesquisa Animal

mCi: miliCurie

IM - intramuscular

SPSS - Statistical Package for the Social Science

UICC - União Internacional Contra o Câncer

TNM- Classificação dos Tumores malignos pelo tamanho, número de linfonodos e metástase

PCR- Polimerase chain reaction

GEEON- Grupo de Estudo e Educação em Oncologia

TC- Tomografia computadorizada

FNAC- Citologia aspirativa por agulha fina

US- Ultrassonografia

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Sarcoma de Sticker.....	33
FIGURA 2	Anestesia via intramuscular.....	37
FIGURA 3	Punção de acesso venoso periférico.....	38
FIGURA 4	Injeção de 0,2 ml de fitato de Tecnécio-99-mCi intradérmica, com agulha de insulina na glândula peniana dos cães. Tempo zero do experimento.....	39
FIGURA 5	Contagem da captação da radiação com o uso do aparelho gama-probe no sítio de injeção, revelando captação máxima no sítio de injeção.....	39
FIGURAS 6 A e B	Contagem da captação da radiação com o uso do aparelho gama-probe em regiões inguinais direita.....	40
FIGURAS 7 A e B	Contagem da captação da radiação com o uso do aparelho gama-probe em regiões inguinais esquerda.....	40
FIGURA 8	Injeção de Azul patente na glândula peniana.....	41
FIGURA 9	Incisão e localização do linfonodo com visualização do azul patente e auxílio do aparelho gama-probe em LS da região inguinal.....	41
FIGURA 10	Incisão e localização do linfonodo com visualização do azul patente e auxílio do aparelho gama-probe em LS da região inguinal.....	42
FIGURA 11	Imagem de ambos os linfonodos com visualização do azul patente.....	42
FIGURA 12	Contagem da captação da radiação do LS corado com azul patente ex vivo.....	43

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	Intercessão dos métodos (azul patente e radiação) no linfonodo <i>in vivo</i>	47
GRÁFICO 2	Relação entre as contagens de radiação pelo tecnécio no linfonodo <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i> – Lado direito.....	48
GRÁFICO 3	Relação entre as contagens de radiação pelo tecnécio no linfonodo <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i> – Lado esquerdo.....	49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Valores de interpretação do teste Kappa.....	44
TABELA 2	Descrição das medidas de tendência central e de dispersão das contagens de tecnécios nos minutos 5, 10 e 15.....	45
TABELA 3	Comparação dos lados direito e esquerdo através de variáveis de coloração com azul patente e captação de radioatividade do tecnécio 99m, bem como a intercessão dos dois métodos.....	46
TABELA 4	Teste <i>t</i> de <i>student</i> pareado comparando a captação de radioatividade encontrada à direita e esquerda <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i>	47
TABELA 5	Relação entre o linfonodo sentinela esquerdo e direito corado pelo azul patente in-vivo pelo teste de McNemar.....	47
TABELA 6	Correlação de Pearson das da contagem de radiação encontrada a direita e esquerda nos linfonodos <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i>	48
TABELA 7	Concordância entre os métodos de captação do tecnécio e corado com azul patente <i>In vivo</i> a direita.....	49
TABELA 8	Concordância entre os métodos de captação do tecnécio e corado com azul patente <i>In vivo</i> à esquerda.....	50
TABELA 9	Concordância entre os métodos de captação do tecnécio e corado com azul patente <i>ex vivo</i> a direita	50
TABELA 10	Concordância entre os métodos de captação do tecnécio e corado com azul patente <i>ex vivo</i> a esquerda.....	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Linfonodo sentinela.....	25
1.2 O cão como modelo	32
2 OBJETIVOS.....	34
2.1 Geral.....	34
2.2 Específicos.....	34
3 MÉTODO.....	35
3.1 Tipo de estudo.....	35
3.2 Área do estudo.....	35
3.3 Universo e amostra.....	35
3.4 Critérios de inclusão.....	35
3.5 Critérios de exclusão.....	35
3.6 Aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa.....	35
3.7 Período de estudo.....	35
3.8 Material.....	36
3.9 Desenho do estudo.....	36
4 RESULTADOS.....	45
5 DISCUSSÃO.....	51
6 CONCLUSÃO.....	54
7 REFERÊNCIA.....	55
ANEXOS.....	69
ANEXO A	70

1 INTRODUÇÃO

O carcinoma peniano (CP) é uma neoplasia rara na América do Norte e Europa, porém sua incidência ainda é preocupante em países da América Latina, África e Ásia. A incidência de câncer de pênis na Europa e nos Estados Unidos é de 0,8/100.000 homens/ano, entretanto, no Brasil representa 2% dos tumores malignos masculinos. Segundo o INCA, em 2007, ocorreram 195 mortes e a estimativa para 2010 é de 4637 casos novos. Segundo o primeiro estudo epidemiológico no Brasil realizado pela Sociedade Brasileira de Urologia em 2007, 24,26% dos casos se encontram em São Paulo. Em seguida, vem o Ceará com 12,87%, Maranhão com 10,66% e Rio de Janeiro com 9,19%. O câncer de pênis supera as ocorrências de câncer de próstata e de bexiga nas regiões Norte e Nordeste (FAVORITO *et al.*, 2008).

A escassez de publicações reflete a baixa incidência da doença em países ricos e a maioria dos trabalhos é proveniente de instituições isoladas com pequena casuística. Assim, questões relevantes referentes ao manejo clínico do CP continuam em aberto.

O CP é uma doença que acomete preferencialmente homens a partir da sexta década, com pico de incidência aos 80 anos (DERRICK *et al.*, 1973). Relatórios adicionais divulgaram uma maior incidência na raça negra na proporção de 2:1 (MUIR; NECTOUX, 1979).

A análise epidemiológica dos casos de CP indica que, em relação ao perfil sócio-econômico-cultural dos portadores, a neoplasia acomete principalmente homens de classe social e nível de instrução baixo e as áreas de maior incidência estão contidas nas regiões mais carentes dos países em desenvolvimento. Segundo a secretaria de Saúde do Estado da Bahia, a neoplasia é responsável por cerca de 1000 amputações por ano no Brasil com um custo médio de 35 mil para o tratamento de cada paciente.

A demora na procura de atendimento médico, também decorrente do baixo nível cultural dos pacientes, é uma variável que prejudica o resultado do tratamento. Uma grande parcela dos casos de CP em estágio avançado necessita de tratamento cirúrgico mutilante que resulta em repercussões psicológicas e funcionais desfavoráveis, situação que dificulta a reabilitação e a reintegração social. Lopes e colaboradores publicaram em 1996 e em 2001 duas séries sobre CP, nas quais mais de quinhentos pacientes foram excluídos em cada uma delas por apresentarem doença irrissecável, metastática ou por recusarem tratamento (BEZERRA *et al.*, 2001; LOPES *et al.*, 1996). Os dados apresentados por estes autores refletem o estágio avançado na apresentação e o baixo nível cultural dos enfermos. Dos pacientes incluídos nesses estudos, 63,4% e 73,17% apresentavam tumores T3 e T4, também

evidenciando doença local avançada. Slaton e colaboradores (1997) e Theodorescu e colaboradores (1987) relataram, respectivamente, taxas de 68,75 e 42,85% de CP localmente avançados.

O carcinoma de pênis corresponde a cerca de 2% dos cânceres do sexo masculino. Ele metastatiza essencialmente através do sistema linfático e se desenvolve principalmente através de um mecanismo de embolização, em vez de permeação linfática. As metástases à distância são muito raras e são o resultado de disseminação vascular (BURGERS *et al.*, 1992).

O tumor primário está localizado na glândula em 48% dos casos, no prepúcio em 21%, glândula e prepúcio em 9%, sulco coronal em 6% e inferior a 2% no corpo peniano. Linfonodos palpáveis estão presentes em 58% dos pacientes (faixa de 20-96%) no diagnóstico. Destes pacientes, 17-45% têm metástases, enquanto os demais pacientes têm doença inflamatória secundária a uma infecção do tumor primário (HORENBLAS *et al.*, 1993; ORNELLAS *et al.*, 1994; PIZZOCARO *et al.*, 1996; PIZZOCARO *et al.*, 1997).

A probabilidade de envolvimento bilateral é considerável por causa do grande número de vasos linfáticos no tecido subcutâneo. O comprometimento linfonodal pélvico é encontrado em 22-56% dos pacientes com metástases para dois ou mais gânglios (LOPES *et al.*, 2000; HORENBLAS, 2001; CULKIN; BEER, 2003). Cerca de 20% dos pacientes com nódulos não palpáveis possuem micrometástases linfonodais. Os seguintes fatores influenciam a ocorrência de metástase: profundidade da invasão, envolvimento tumoral, vascular e linfático, envolvimento do corpo cavernoso, padrão de crescimento e associação desses fatores (EMERSON *et al.*, 2001; SLATON *et al.*, 2001; FICARRA *et al.*, 2002).

O carcinoma espinocelular (CEC) é de longe a doença maligna mais comum do pênis, sendo responsável por mais que 95% dos casos. Os melanomas malignos e carcinomas basocelulares são menos comuns (CUBILLA *et al.*, 2001). Embora o CEC seja o tipo mais comum, ele se manifesta com tipos e padrões de crescimento diferentes (MAICHE *et al.*, 1991; CUBILLA *et al.*, 2001). Mênis ocorre raramente mas a bexiga, a próstata, os rins e os tumores de reto foram relatados como tumores primários nos casos de doença metastática no pênis. De modo adverso à tendência infiltrativa e ulcerada do CEC, o carcinoma verrucoso constitui uma lesão vegetante, de crescimento lento e com menor potencial de metastatização. Outros tipos histológicos mais raros incluem o carcinoma basocelular, sarcoma de Kaposi, melanoma e linfoma (BEGGS; SPRATT, 1964).

Os fatores de risco para o CP são múltiplos e apesar de várias causas e fatores de risco terem sido descritos, como a presença de fimose e a presença do HPV, a neoplasia permanece com etiologia ainda incerta (DILLNER *et al.*, 2000). A incidência de fimose entre

pacientes com CP é da ordem de 74%. Já a incidência de CP em países com prática de circuncisão neonatal, como Israel e EUA, é extremamente baixa, podendo chegar a índices menores que 1% (LICKLIDER, 1961).

Embora ainda não tenha sido encontrado um carcinógeno específico no esmegma, a ausência de circuncisão dificulta a higienização adequada da glândula, que associada à presença de *Mycobacterium smegmatis*, pode causar irritação crônica do epitélio, contribuindo para a gênese do CP (PLAUT; KOHN-SPEYER, 1947). Outros fatores de risco relacionados ao desenvolvimento de CP incluem o tabagismo, (HELLBERG *et al.*, 1987) o número elevado de parceiros sexuais; que aumentam o risco de infecção pelo HPV; além da história de escoriações penianas repetidas. Outros autores estabelecem que a ausência ou higiene precária, decorrente ou não de fimose, seja o principal fator envolvido na gênese do CP (BEGGS; SPRATT, 1964). Estudos pioneiros sobre a influência do HPV no câncer de colo uterino estabeleceram entre eles incontestável correlação. Tais estudos foram essenciais para compreender o papel dos vírus epiteliotrópicos na patogênese dos carcinomas, incluindo o CP (BOSHART *et al.*, 1984; GREGOIRE *et al.*, 1995).

Estudos utilizando PCR descrevem a presença de HPV em carcinoma peniano, variando de 30 a 100% dos casos (McCANCE *et al.*, 1986; GIRARDI *et al.*, 1992; SARKAR *et al.*, 1992; CUPP *et al.*, 1995). O HPV 16 é o genótipo mais prevalente no carcinoma peniano, representando 90% dos vírus encontrados. Os HPVs considerados de alto risco oncogênico para CP são 16, 18, 45 e 56 e, os de médio risco os 31, 33, 35, 51, 52 e 58 (SARKAR *et al.*, 1992; CUPP *et al.*, 1995).

Em 1966 Jackson propôs um sistema de estadiamento baseado em parâmetros anatômicos (JACKSON, 1966):

I - tumor limitado à glândula e/ou prepúcio

II - tumor invadindo os corpos cavernosos

III - tumor com metástases para linfonodos inguinais

IV- tumor invadindo estruturas adjacentes ou com linfonodos inoperáveis, ou metástases à distância

O estágio TNM de 1978 leva em consideração o tamanho em centímetros (cm) da lesão no pênis, além do tradicional status linfonodal e presença ou não de metástases à distância. Atualmente o estágio mais usado é o da União Internacional Contra o Câncer (UICC): o TNM 2004, em que o tamanho tumoral (T) depende da profundidade de invasão e os componentes (N) e (M) representam a presença de metástases em linfonodos regionais e à distância, respectivamente. O grande problema é que o TNM 2004 é essencialmente um

estádio patológico, uma vez que é impossível determinar clinicamente e com grande acurácia o nível de invasão tumoral e o real status linfonodal. A nova classificação atualizada TNM 2009 para o câncer do pênis inclui uma mudança para a categoria T1 (SOBIN *et al.*, 2009). Esta classificação precisa de uma nova atualização para a definição da categoria T2. Uma publicação recente mostrou que o prognóstico para a invasão do corpo esponjoso é melhor do que quando há invasão dos corpos cavernosos (LEIJTE *et al.*, 2008).

A importância do tamanho tumoral no estadiamento do CP foi discutida em diversas publicações (McDOUGAL *et al.*, 1986; LOPES *et al.*, 1996; SLATON *et al.*, 2001; SOLSONA *et al.*, 2001; D'ANCONA *et al.*, 2004) e propuseram uma mudança no consenso onde tumores maiores que T2 têm risco de metástase que varia de 20 a 100% (HORENBLAS; VAN TINTEREN, 1994; SLATON *et al.*, 2001; SOLSONA *et al.*, 2001).

A graduação histológica mais comumente usada para o CP é a de Broders (LUCIA; MILLER, 1992). Este sistema se baseia fundamentalmente no grau de queratinização, número de mitoses e no pleomorfismo nuclear. Quatro graus são identificáveis, sendo o grau I referente às lesões bem diferenciadas e o IV aos tumores indiferenciados. Há variações da graduação de Broders em que apenas três graus são utilizados (LUCIA; MILLER, 1992). Geralmente a graduação histológica correlaciona-se com a profundidade do tumor bem como com o risco de metástase inguinal.

Vários autores (THEODORESCU *et al.*, 1996; SLATON *et al.*, 2001; SOLSONA *et al.*, 2001) encontraram associação entre lesões de alto grau ao maior risco de comprometimento de linfonodos inguinais e ao maior risco de óbito pela doença. Solsona *et al.* (2001), estudando 103 pacientes, correlacionaram tumores grau I e grau III com metástases inguinais em 15 e 75% dos casos, respectivamente. Slaton *et al.* (1997) observaram que apenas 15% dos pacientes com menos de 50% de lesão indiferenciada apresentaram metástases, percentual que atinge 61% dos portadores de tumor com mais de 50% de lesão indiferenciada.

Em algumas séries foi observado um maior número de metástases inguinais entre pacientes com tumores mais espessos (McDOUGAL *et al.*, 1986; HORENBLAS; VAN TINTEREN, 1994; LOPES *et al.*, 1996). A preocupação com o comprometimento inguinal é justificada pelo grande impacto no prognóstico. O acometimento de mais de dois linfonodos inguinais reflete um maior risco de recidiva e morte por doença (FRALEY *et al.*, 1989; LOPES *et al.*, 1996; RAVI, 1993; HORENBLAS; VAN TINTEREN, 1994; THEODORESCU *et al.*, 1996). Outros fatores preditivos para metástase inguinal foram estudados por diversos autores, incluindo as embolizações linfática e venosa. Estes dois achados histológicos foram

associados ao maior risco de metástase linfonodal no carcinoma de pênis, sendo sugerido que fossem usados no estadiamento e planejamento terapêutico (FRALEY *et al.*, 1989; LOPES *et al.*, 1996).

As opções de tratamento dependem do estágio do tumor. Em pacientes com doença clinicamente e linfonodos negativos, o estadiamento preciso é indispensável. A linfadenectomia inguinal desnecessária é associada com significativas morbidades, tais como hemorragia, infecção, trombose venosa profunda e linfedema (BEVAN-THOMAS *et al.*, 2002).

Em pacientes de risco moderado a alto (T1G2 ou tumor superior), aproximadamente 20% daqueles que são clinicamente linfonodos negativos têm metástases ocultas (ABI-AAD; DEKERNION, 1992), portanto 80% não têm metástase, não exigindo dissecação dos linfonodos. Este grupo que leva ao dilema da questão. As opções para a avaliação do status nodal do paciente incluem o exame clínico, ultra-som com ou sem citologia aspirativa por agulha fina (FNAC) e a biópsia do linfonodo sentinela radioguiada durante a cirurgia (SNB).

A ultra-sonografia tem sido utilizada como uma técnica de preparo para uma ampla variedade de malignidades. As aparições de linfonodos contendo as metástases podem ter sobreposição com linfonodos infectados ou reativos. É bem conhecido que a presença de micrometastáticas dentro de linfonodos não podem ser precisamente identificadas apenas com o ultra-som. A alta taxa de falso-positivos à ultra-sonografia pode ser resultado da elevada incidência de linfadenopatia secundária à infecção coexistente (CRAWSHAW *et al.*, 2009).

A principal vantagem da ultra-sonografia é identificar os linfonodos que estão infiltrados com tumor, mas são ignorados tanto pelo nanocolóide como pelo corante azul patente durante a biópsia do linfonodo sentinela. Crawshaw *et al.* (2009) apresentou em seu estudo dois pacientes que inicialmente não mostraram nenhum tumor no linfonodo sentinela pela linfocintilografia; no entanto, a ultra-sonografia e a punção foram positivas. Estes foram, provavelmente, exemplos de reencaminhamento linfático como consequência da obstrução da drenagem por um linfonodo sentinela não-funcionante que tinha sido completamente substituído pelo tumor metastático, resultando assim em uma captação negativa na linfocintilografia (CRAWSHAW *et al.*, 2009). Esse fenômeno tem sido descrito em câncer de mama, onde o envolvimento nodal extenso de tumor tem sido apontado como causa negativa de linfonodo sentinela, obstruindo o fluxo dos vasos linfáticos e desviando o fluxo para os linfonodos normais (DE KANTER *et al.*, 2006). Kroon *et al.* (2005)

introduziram a ultra-sonografia antes da BLS para reduzir o número de resultados falso-negativos no câncer de pênis.

O uso da TC baseia-se principalmente em medir o tamanho dos gânglios linfáticos. No câncer de pênis somente o tamanho não é um sinal confiável, com grande proporção de linfonodos reativos estando presente em câncer de pênis. No carcinoma vulvar, Land *et al* mostraram que a ultra-sonografia com a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) foi superior à TC para avaliar linfonodos na virilha, com uma sensibilidade de 58% vs 87% para a ultra-sonografia (LAND *et al.*, 2006). Quando a TC é combinado com emissão de pósitron CT (SPECT), há uma correlação anatômica melhor, o que pode auxiliar na localização do linfonodo sentinela (EVEN-SAPIR *et al.*, 2003; KIZU *et al.*, 2005).

A linfadenectomia terapêutica com intuito de ressecar metástases linfonodais regionais, pode ser curativa em até 80% dos casos de micro metástases (McDOUGAL *et al.*, 1986). Diante de adenomegalia inguinal suspeita está indicado o uso da punção aspirativa por agulha fina (PAAF). Quando a PAAF é positiva, deve-se proceder à linfadenectomia inguinal radical bilateral. Nos indivíduos clinicamente N0 (sem adenomegalia inguinal suspeita), apesar dos avanços na técnica de linfonodo sentinela e do emprego de linfadenectomia inguinal seletiva, o risco de falso-negativo permanece consideravelmente alto, na ordem de 20% (LOPES *et al.*, 1996; TANIS *et al.*, 2002). Algumas séries, todas com mais de 80 participantes, revelam taxas de falso-positivo e falso-negativo variando de 26 a 51% e 29 a 41%, respectivamente (HORENBLAS; VAN TINTEREN, 1994; LOPES *et al.*, 1996; TANIS *et al.*, 2002).

Tanis *et al.* (2002) demonstraram que a biópsia do linfonodo sentinela em pacientes com carcinoma de pênis apresenta taxas de sobrevivência de 98% para os pacientes com linfonodos sentinela negativos e 71% para aqueles com linfonodos positivos em três anos; o correspondente valor em cinco anos são 96% e 66%, respectivamente (KROON *et al.*, 2005).

Devido ao pequeno número de publicações e aos trabalhos com número reduzido de participantes, não é possível indicar a melhor abordagem para os pacientes N0. A falta de fatores preditivos seguros que estabeleçam o risco de metástase inguinal, resulta em dúvidas quanto à indicação de linfadenectomia inguinal profilática.

Como os portadores de câncer de pênis geralmente são de baixo nível econômico, social, cultural e higiênico, normalmente estão associados à infecção secundária aumentando o risco de linfonodos falsos positivos e levando a um difícil seguimento (DROLLER, 1980; LOPES *et al.*, 1996; BEZERRA, *et al.*, 2001). Alguns especialistas recomendam o uso de

antibiótico por 4 a 6 semanas após o tratamento da lesão primária, com o intuito de tratar lesões inflamatórias, seguido de reavaliação.

Ao exame físico, aproximadamente 50% dos linfonodos palpáveis não apresentam comprometimento neoplásico, por outro lado, cerca de 20% dos pacientes sem acometimento linfonodal detectável à palpação apresentam metástases.

As características do tumor primário (grau tumoral, embolização venosa/linfática, variante histológica, profundidade tumoral) podem sugerir um risco aumentado de metástase inguinal oculta variando de 0 a 20%. Entretanto, até 80% dos pacientes N0 podem ser operados "desnecessariamente", ou seja, apresentam ausência de metástases nos linfonodos ressecados (pN0) (WALKER *et al.*, 1989; GIRARDI *et al.*, 1992; ROSE *et al.*, 1992). Diante de metástase inguinal unilateral, o risco de metástase contra-lateral é de 60% (ou seja, 40% dos pacientes se submeterão à linfadenectomia contra-lateral "desnecessária") (EKSTROM; EDSMYR, 1958). Existe uma tendência à indicação rotineira de linfadenectomia inguinal bilateral profilática para os pacientes clinicamente N0 com CP maiores que pT1 e grau de diferenciação tumoral maior ou igual a II. Esta conduta baseia-se em cinco estudos retrospectivos, dos quais três têm menos de 70 participantes (JOHNSON; LO, 1984; McDOUGAL *et al.*, 1986; FRALEY *et al.*, 1989; RAVI, 1993; ORNELLAS *et al.* 1994).

Não existe, até o momento, evidência científica suficiente para se afirmar que a cirurgia de resgate perante falha inguinal precoce seja pior do que a linfadenectomia inguinal profilática. Aplicando-se as regras da medicina baseada em evidência, pode-se constatar que os dados referentes ao CP publicados até o momento alcançam apenas o Grau de Recomendação "C" e Nível "3", ou seja, recomendações a partir de práticas clínicas oriundas de séries de casos ou opiniões de especialistas (EBELL *et al.*, 2004). Outros cinco artigos de revisão sobre carcinoma peniano também concluem que a tendência em indicar a linfadenectomia inguinal profilática para pacientes clinicamente N0 baseia-se em poucos artigos retrospectivos de relevância, além de sugerirem a realização de estudos prospectivos, multi-institucionais e com grande casuística para elucidar as dúvidas pendentes (MOBILIO; FICARRA, 2001; SANCHEZ-ORTIZ; PETTAWAY, 2003; SINGH; KHAITAN, 2003; KROON *et al.*, 2005; SIOW; CHENG, 2005).

Segundo Ravi (1993), autor de uma das maiores séries de pacientes com CP, a alta morbidade da linfadenectomia inguinal torna quase proibitiva sua indicação rotineira a todos os portadores de carcinoma peniano, pois inclui complicações precoces como flebite, infecção de sítio cirúrgico, sepse, deiscência de ferida, necrose de retalho, trombose venosa profunda, embolia pulmonar, ruptura de vasos femorais e morte. As taxas de morbidade associadas à

linfadenectomia inguinal variam de 14 a 68%, exigindo reflexão e bom senso do cirurgião diante do paciente com CP (EKSTROM; EDSMYR, 1958; JOHNSON; LO, 1984; ORNELLAS *et al.*, 1991; BEVAN-THOMAS *et al.*, 2002).

O efeito psicológico associado à desfiguração genital tem incentivado o desenvolvimento de técnicas de preservação de órgãos. Carcinoma *in situ* tem sido tratada com sucesso com a terapia fotodinâmica e agentes tópicos. Em uma série de dez pacientes, três dos quais possuíam papulose bowenóide, foi realizada terapia fotodinâmica com regressão total da lesão (PAOLI *et al.*, 2006). O 5-fluorouracil e mais recentemente o imunomodulador imiquimod creme a 5% vêm sendo utilizados com comprovada erradicação da lesão (COOK-BOLDEN; WEINBERG, 2002; SCHROEDER; SENNELMANN, 2002). A criocirurgia com nitrogênio líquido tem sido relatada em lesões superficiais de tumores de baixo grau (MICHELMAN *et al.*, 2002).

A microcirurgia de Mohs tem tido bons resultados nos tumores T1 N0 que não envolvem o meato uretral (SHINDEL *et al.*, 2007). A radiação, tanto por braquiterapia quanto por radioterapia externa, preserva a função e estabelece o controle do câncer em pacientes selecionados (OZSAHIN *et al.*, 2006; MISTRY *et al.*, 2007; CROOK *et al.*, 2009).

A quimioterapia neoadjuvante usando bleomicina, vincristina e metotrexate com pênisscopia em conjunto com laser de CO2 tem sido relatado com resultados favoráveis (SLATON *et al.*, 2001; BANDIERAMONTE *et al.*, 2008). A identificação de pacientes com metástases ocultas é importante, porque tem sido demonstrado que a linfadenectomia imediata confere uma vantagem na sobrevida sobre a cirurgia adiada até que a doença se torne palpável (KROON *et al.*, 2005; McDOUGAL 2005).

Vários fatores de risco para metástases têm sido identificados e podem ser usados para direcionar intervenção cirúrgica. Há uma correlação direta entre o grau do tumor e a probabilidade de metástases inguinal (HORENBLAS *et al.*, 1993). Em um estudo onde linfadenectomias profiláticas foram realizadas em virilhas clinicamente negativas com tumores grau 1 ou 2 sem invasão ou com mínima invasão, não apresentaram câncer. Enquanto tumores que invadiram o corpo ou que microscopicamente eram pouco diferenciados tinham câncer em 78% dos linfonodos (McDOUGAL 2005). Mais recentemente, foi desenvolvido um nomograma que incorpora o grau, a espessura do tumor, o padrão de crescimento histológico, a embolização linfática/vascular e o status clínico do linfonodo, a fim de calcular a probabilidade de a região inguinal ser positiva (FICARRA *et al.*, 2006). Uma abordagem precoce com menos morbidade, envolve o estadiamento das virilhas pela primeira amostragem do linfonodo sentinela. Embora haja variação entre os grupos de cirurgiões da

técnica exata, normalmente é injetado uma substância radiomarcadora um dia antes da cirurgia programada e no dia da cirurgia associado ao corante azul patente. O linfonodo sentinela é localizado visualmente e com uma sonda (probe). Isto foi conseguido através de uma técnica aberta de retalhos cutâneos (SPIESS *et al.*, 2007) pela primeira marcação na pele sobrejacente após a detecção de radioatividade (HORENBLAS *et al.*, 2000; KROON *et al.*, 2005; CRAWSHAW *et al.*, 2009). A crítica á pesquisa dinâmica do linfonodo sentinela é que a taxa de falso-negativos é um número relativamente alta (15-16%) (KROON *et al.*, 2005; KROON *et al.*, 2005) com uma baixa sensibilidade. Consequentemente alguns autores consideram a técnica insuficiente (SPIESS *et al.*, 2007). Isto é verdadeiro nos casos em que os linfonodos são palpáveis (HEYNS; THERON, 2008).

Alternativamente pode ser usada uma biópsia com agulha fina guiada por ultrassom de alta resolução dos nódulos suspeitos para identificar metástases ocultas e quais são os pacientes que necessitam de linfadenectomia completa. Critérios para linfonodos suspeitos, incluem uma relação comprimento/largura inferior a dois, um córtex largo e uma ausência de hilo estreito. A PAAF guiada por US comparada com pesquisa dinâmica de linfonodo sentinela no seguimento médio de 18 meses, mostrou sensibilidade por virilha de apenas 39% com uma especificidade de 100% (KROON *et al.*, 2005). Os autores concluíram que a técnica é útil na seleção de pacientes, evitando a pesquisa de linfonodo sentinela quando o aspirado é positivo para o câncer (KROON *et al.*, 2005). Essas duas modalidades foram usadas de maneira complementar em um trabalho mais recente. Os critérios ultra-sonográficos incluem o aumento do tamanho, a forma anormal, a ausência de ecogenicidade no hilo, a hipocogenicidade do nódulo, a necrose e a vascularização anormal (CRAWSHAW *et al.*, 2009). Em um seguimento médio de 11 meses, a sensibilidade e especificidade para os PAAF-US em relação à pesquisa dinâmica do LS foram 74 e 77%, respectivamente. Curiosamente, a PAF-US identificou dois pacientes com metástase que eram originalmente considerados negativos pela pesquisa dinâmica do LS (CRAWSHAW *et al.*, 2009).

A modificação da linfadenectomia inguinal tradicional popularizada através do trabalho de Catalona é usada para diminuir a sua morbidade (CATALONA, 1988; COLBERG *et al.*, 1997). A modificação de Catalona consiste na preservação da veia safena e do tecido subcutâneo superficial da fáscia de Scarpa, menor número de linfonodos removidos e uma incisão menor. Os limites cirúrgicos são a aponeurose do oblíquo externa e o cordão espermático (superior), a fáscia lata distal da fossa oval (inferior), o músculo adutor (medial) e da artéria femoral (lateral) (COLBERG *et al.*, 1997). D'Ancona *et al.* (2004) propuseram limites diferentes: adutor longo (medial), a superfície medial do fêmur e veias safenas

(lateral), e arcada inguinal (superior), formando um triângulo. A possibilidade de não identificar a doença tem diminuído o entusiasmo dos procedimentos modificados. Remover todos os linfonodos inguinais superficiais do tecido para o diagnóstico, fornece uma avaliação mais completa para a plataforma, mas tem sido tradicionalmente associada à elevada morbidade (BEVAN-THOMAS *et al.*, 2002; SPIESS *et al.*, 2009). A antibioticoterapia profilática, a utilização adequada de drenos, a deambulação precoce e as modificações na técnica cirúrgica, dentre outros, englobam algumas das mudanças que têm sido aplicadas com sucesso para minimizar a morbidade (BEVAN-THOMAS *et al.*, 2002; SPIESS *et al.*, 2009).

Existem restrições em relação ao uso da biópsia do linfonodo sentinela pelo fato de que os melhores resultados são de poucas instituições e os demais trabalhos mostram altas taxas de falso-negativos (FICARRA; GALFANO, 2007). As instituições que adotaram um protocolo modificado diminuíram a taxa de falso-negativos de 22% para 4,8%. Dentre as modificações, encontram-se o uso de ultrassonografia pré-operatória para diminuir a chance de perder um linfonodo metastático; o uso do gamma probe associado ao azul patente; a palpação intra-operatória em todos os pacientes e a análise histopatológica acompanhada de imunohistoquímica para evitar perder micrometástase (LEIJTE *et al.*, 2009). Um estudo recente compara dois centros de referência de tratamento de câncer de pênis. Em ambos os centros, a biópsia do linfonodo sentinela é realizada em virilhas N0 de pacientes com carcinoma de células escamosas do pênis estadiado como T1G2 ou superior (BRODERS, 1921; SOBIN *et al.*, 1988). Como mais de 95% das neoplasias do pênis são carcinomas espinocelulares, os paciente com outros tipos de tumores malignos foram excluídos do estudo. Ambos os institutos usam essencialmente o mesmo protocolo, com exceção de algumas pequenas diferenças. Em uma das instituições, o ultra-som pré-operatório é realizado imediatamente antes da cirurgia de linfonodo sentinela, enquanto que na outra, é realizado duas semanas antes da cirurgia. Além disso, na primeira instituição, a cintilografia pré-operatória é realizada no mesmo dia da cirurgia do linfonodo sentinela enquanto na outra instituição a cintilografia é realizada no dia anterior (LEIJTE *et al.*, 2009).

O estudo conclui que a biópsia do linfonodo sentinela é um procedimento adequado para identificar pacientes com metástase inguinal oculta. Nesta grande série de pacientes tratados de acordo com um protocolo padronizado, uma sensibilidade de 93% foi encontrada. A taxa de complicações foi baixa e quase todas as complicações foram transitórias e puderam ser manejadas de forma conservadora. Os resultados deste estudo contrastam com vários outros estudos que foram publicados recentemente (GONZAGA-SILVA *et al.*, 2007; HERNANDEZ-TORIS *et al.*, 2007; SPIESS *et al.*, 2007). Spiess *et*

al relataram sua experiência com biópsia do linfonodo sentinela em 31 pacientes, todos submetidos à dissecação inguinal após a biópsia do linfonodo sentinela. Eles encontraram uma taxa de falso-negativo de 29%. Em sua série de 27 pacientes, Gonzaga-Silva *et al.* (2007) relataram uma taxa de falso-negativo de até 75% quando se utiliza uma técnica de sonda gama isolada para identificar o linfonodo sentinela. Pacientes submetidos à técnica do linfonodo sentinela e que apresentam falso negativo podem deixar de receber terapias adjuvantes. A magnitude desse erro é maior em pacientes com tumores pequenos, população de pacientes considerados candidatas ideais para a realização do procedimento. Um índice aceitável de falsos negativos é de menos de 5%. Para isso, cada cirurgião deverá ter realizado uma curva de aprendizado. As razões para estas eventuais diferenças poderiam ser pela realização de uma técnica deficiente, por exemplo, sem a avaliação do ultra-som pré-operatório da virilha ou linfocintilografia (HORENBLAS, 2007; HEGARTY; MINHAS, 2008).

Um problema emergente para o qual muitos autores iniciaram pesquisas sofisticadas de técnicas de anatomopatologia e biologia é representado pelo método a ser adotado para o estudo histopatológico do linfonodo biopsado. O exame histopatológico convencional, de fato, não garante a exatidão necessária para decidir de modo extemporâneo que se realize ou não uma dissecação completa. Em alguns centros estão sendo usadas técnicas de imunohistoquímica que empregam um coquetel de diversos anticorpos ou a reação em cadeia da polimerase (polimerase chain reaction – PCR), para não haver dúvidas em diagnosticar focos de micrometastases que poderiam estar correlacionados com um pior prognóstico. Dos trabalhos publicados na literatura no último período vê-se claramente como o exame histopatológico do linfonodo sentinela desperta o maior interesse de todo o procedimento, além do método de identificação e marcação (TURNER *et al.*, 1997; JANNINK *et al.*, 1998).

Conclui-se, assim, que o carcinoma de pênis, por ser uma neoplasia rara nos países desenvolvidos, é uma neoplasia pouco estudada e sem tratamento adequado bem definido principalmente a respeito das metástases linfonodais. A linfadenectomia inguinal profilática, apesar de poder curar até 80% dos pacientes, tem uma alta morbidade, além dos distúrbios psicológicos e incapacidade funcional que pode levar. Assim, o estudo e o treinamento em linfonodo sentinela podem ganhar importância, podendo selecionar com mais segurança os pacientes que realmente tem comprometimento linfonodal e necessitam de linfadenectomia e possuindo maior habilidade para obter menores taxas de falso-negativos.

1.1 Linfonodo Sentinela

Bartholin foi o primeiro a notar a existência de uma cadeia linfática em 1653. Virchow, no século XIX, formulou a teoria de que os gânglios linfáticos exercem o papel de filtro de partículas da linfa. Hasteld, no fim do século XIX, introduziu a mastectomia radical baseado neste conceito (apud HALSTED, 1894).

Para determinar a real função dos linfonodos, muitos estudos foram realizados com injeção de partículas inanimadas em modelos animais. Gilchrist viu em um estudo em mesentério de cães e coelhos que suspensões carbonadas não atravessavam os linfonodos, mesmo com várias pressões (GILCHRIST, 1940). Zeidman e Buss (1954) injetaram carcinoma de células V2 em vasos linfáticos aferentes dos gânglios poplíteos em coelhos e descobriram que os êmbolos de células tumorais são imediatamente presos no seio subcapsular, não se espalhando para o próximo linfonodo, nas primeiras três semanas.

Em 1960 a hipótese do câncer como doença sistêmica foi reintroduzida mostrando que o envolvimento linfonodal é um marcador da doença à distância (HELLMAN, 1994). O envolvimento dos gânglios linfáticos e do número de linfonodos abrigando metástases ao diagnóstico primário tem uma relação inversa com o prognóstico da doença, o que significa que os pacientes com linfonodos livres de metástases têm um resultado melhor (FISHER *et al.*, 1983).

Fisher e Fisher (1974) descobriram que menos de 40% de carcinomas de células V2 marcados foram mantidas no linfonodo da poplítea do coelho. Esta constatação foi explicada pela presença de vias linfático-venosas nos gânglios linfáticos, embora seja controversa a existência de uma comunicação livre entre o sistema venoso e linfático. A ineficácia da barreira do linfonodo de linfa não está em consonância com o melhor prognóstico dos pacientes com câncer, sem envolvimento ganglionar. Teorias alternativas foram consideradas. As células tumorais que atravessam gânglios linfáticos podem ser destruídas mais rapidamente ou são menos aptas a desenvolver metástases à distância. As células tumorais que continuam nos linfonodos podem gerar os tumores secundários (FISHER; FISHER, 1967; BLAYNEY *et al.*, 1983).

Um linfonodo aparentemente normal na veia facial posterior foi enviado para a investigação de congelação durante a parotidectomia total em 1951. Na descrição de Gould, o relatório da patologia foi “nódulos linfáticos com tumor metastático”. O exame intra-operatório deste linfonodo, em sua localização anatômica, norteou a decisão de realizar uma dissecação radical da garganta durante as parotireoidectomias seguintes (GOULD *et al.*, 1960).

Cabanas desenvolveu um trabalho envolvendo 250 linfografias, realizadas entre 1965 e 1968, com vários tipos de tumores, incluindo pênis, testículo, mama, melanoma, ânus,

reto e linfomas. Entretanto, foi principalmente nos casos de câncer de pênis, onde observou que quando o corante era injetado no dorso do pênis, opacificava uma cadeia limitada de linfonodos localizada superficialmente na região inguinal. Representou, dessa forma, a evidência de um centro primário específico de drenagem linfática que foi por ele denominado como linfonodo sentinela. Ele observou que todos os pacientes com metástases haviam comprometimento do linfonodo sentinela. Considerou assim que o linfonodo sentinela é o primeiro filtro da drenagem linfática do pênis. Com isso, recomendou que fosse realizada a biópsia bilateral do mesmo na região inguinal e que apenas se houvesse comprometimento destes linfonodos por metástases, é que se deveria prosseguir com o esvaziamento inguinal radical. Estudos de linfangiografia elucidaram sua localização precisa e sua relação com a veia epigástrica superficial (CABANAS, 1977). Este estudo foi primeiramente apresentado em 1969, como tese de graduação, na Universidad Nacional de Asunción Facultad de Ciencias Médicas, no Paraguai. Posteriormente, em 1976, teve destaque na reunião da Society of Surgical Oncology, em Nova York e, no ano seguinte, seus resultados foram publicados na revista Cancer. O seu maior mérito, contudo, foi descrever os princípios para o entendimento desse conceito em cirurgia oncológica e estabelecer uma base racional para o seu futuro emprego na prática.

A técnica envolvia uma incisão de 5cm paralela ao ligamento inguinal centralizada. O linfonodo sentinela foi identificado introduzindo o dedo sob a aba superior em direção ao tubérculo púbico, localizado a 1cm da veia epigástrica superficial em todos os casos. Na série de 46 pacientes que fizeram biópsia, 15 continha metástases na avaliação histológica. Dentre os 15, 12 não tinham metástases além do linfonodo sentinela. Metástases não eram encontradas em outros linfonodos quando o linfonodo sentinela era negativo (CABANAS, 1977).

Apesar dos dados de Cabanas serem bastante precisos, eles não eram reproduzíveis. A grande dificuldade era na localização do linfonodo sentinela e sua seleção de casos era diferente da atual, pois 96% dos seus pacientes tinham linfonodos palpáveis. Hoje a pesquisa de linfonodos sentinelas é indicada para aqueles pacientes com linfonodos não palpáveis (N0). Trabalhos posteriores com abordagem puramente anatômica mostraram recorrência de casos em um ano nos pacientes com linfonodo sentinela negativos. Estes trabalhos relatam a grande dificuldade de identificar os linfonodos sentinelas em métodos puramente anatômicos.

Estudar a drenagem linfática do câncer testicular também revelou a existência de um linfonodo sentinela. Chiappa *et al.* (1996) postulou a drenagem linfática testicular primária utilizando estudos de linfangiografia.

Weissbach e Boedefeld (1987) fizeram uma dissecação linfonodal retroperitoneal em áreas onde haviam metástases solitárias. Nestas áreas chamaram os linfonodos sentinela. Eles afirmaram que uma abordagem limitada com proposta de estadiamento histopatológico sem comprometimento da acurácia diagnóstica, pode ser baseada no conhecimento das vias de disseminação linfática e particularmente sobre o primeiro sitio de envolvimento linfonodal.

A administração de contraste nos gânglios linfáticos da mama foi realizada e estes visualizados com a adição de azul patente por Kett *et al.* (1970). Eles observaram um fluxo de linfa isolado em um linfonodo, chamado de linfonodo “Sorgius” e escoamento posterior através de muitos vasos linfáticos e linfonodos do sistema de coleta em torno da veia axilar. Usando linfocintilografia mamária em 1980, Christensen *et al.* observaram drenagem dos linfonodos primários (CHRISTENSEN *et al.*, 1980).

Haagensen estudou a via de metástases através do linfonodo axilar e afirmou que os linfonodos do grupo central não são apenas mais freqüentemente acometidos, como na maioria das vezes são exclusivamente envolvidos (apud HAAGENSEN; STOUT, 1943).

Um dado interessante é que ele usou o termo linfonodo sentinela para os gânglios linfáticos específicos do grupo cervical profundo, por causa de sua estreita relação com a confluência jugular-subclávia.

Apesar de todos estes trabalhos, apenas em 1992 Morton *et al.* usaram linfocintilografia cutânea com ouro coloidal para identificar o padrão de drenagem linfática do melanoma localizados em sítios ambíguos (MORTON *et al.*, 1992). Eles desenvolveram uma técnica para mapear e remover seletivamente os linfonodos de drenagem do melanoma durante o transoperatorio. Este linfonodo sentinela foi considerado o primeiro local de doença metastática. O grupo iniciou um dos mais interessantes estudos na área de oncologia cirúrgica do Instituto John Wayne Cancer.

O conceito de biópsia de linfonodo sentinela é baseado em dois princípios básicos: a existência de um padrão de drenagem linfática ordenado e previsível para um linfonodo regional e o funcionamento de um primeiro linfonodo como um filtro eficaz para as células tumorais. Com a utilização generalizada da biópsia do linfonodo sentinela, foram fornecido dados suficientes para provar que a disseminação linfática sequencial e aprisionamento de células tumorais nos primeiros linfonodos de drenagem ocorrem (REINTGEN *et al.*, 1994; KAPTEIJN *et al.*, 1998).

O espectro de hipóteses de doença sistêmica, no entanto, sugerem que o envolvimento de linfonodos pode ser um indicador de doença distante, portanto, a biópsia do linfonodo sentinela é também uma ferramenta de estadiamento para selecionar pacientes para o tratamento sistêmico adjuvante.

As abordagens para biópsia do linfonodo sentinela aplicadas a partir de meados do século XX não produziram qualquer entusiasmo, provavelmente pela dificuldade de reprodução, já que se baseavam em padrões anatômicos, não levando em conta a variabilidade interindividual da drenagem linfática. A introdução do corante azul para mapeamento por Morton foi o ponto chave na aceitação da biópsia do linfonodo sentinela. Após um estudo de viabilidade em um modelo de felinos, eles injetaram azul patente ou isosulfan azul intradérmica no local do tumor primário em pacientes com melanoma. Uma incisão foi feita posteriormente sobre o local da drenagem linfática esperada e o canal linfático foi visualmente identificado. Este canal foi seguido até o primeiro linfonodo de drenagem através da dissecação meticulosa. Esta técnica de mapeamento linfático foi apresentado na II Conferencia Internacional da Organização Mundial de Saúde sobre Melanoma em 1989.

O desenvolvimento da biópsia do linfonodo sentinela no câncer de mama também começou a John Wayne Cancer Institute, em 1991. O primeiro artigo de mapeamento do corante azul no cancer da mama foi de Giuliano et al que foi publicado em 1994 (GIULIANO *et al.*, 1994).

A injeção de colóides radiomarcados com detecção intra-operatória do linfonodo sentinela usando uma sonda de detecção de raios gama foi introduzido um pouco mais tarde (Krag *et al.*, 1993). A linfocintilografia foi adicionado para uma melhor especificação do local e número de linfonodos sentinelas. Diferentes metodologias baseadas sobre estas duas técnicas de mapeamento linfático são hoje aplicada em todo o mundo.

Na linfocintilografia injeta-se partículas radioativas em volta da região a ser estudada para identificar os linfonodos que tem drenagem aferente daquele tumor. A linfocintilografia pré-operatória (LPO) identifica as bases linfonodais de risco para doença metastática onde deve ser feita a pesquisa do linfonodo sentinela, notadamente para os tumores de drenagem ambígua, como os de linha média. Além disto, a LPO identifica metástases “em trânsito”, que ocorre em cerca de 5% desta população de pacientes. A LPO tem se mostrado indispensável em predizer as regiões linfáticas de risco para micrometástase em pacientes portadores de melanoma cutâneo (NORMAN *et al.*, 1991; KRAG *et al.*, 1995; JANSEN *et al.*, 2000).

A LPO serve como um mapa para o planejamento do cirurgião. Ela identifica todas as regiões linfáticas de risco para doença metastática; identifica metástase em trânsito que passa a ser linfonodo sentinela; identifica a localização e o número de LS envolvidos naquela drenagem e, portanto, devem ser retirados. O radiofármaco mais utilizado é o Tecnécio-^{99m}Tc, de uso rotineiro na maior parte dos procedimentos de medicina nuclear, por apresentar energia ideal para a detecção através de câmeras de cintilação (140 KeV). Apresenta meia vida física curta (6 horas) que resulta em baixas doses de exposição para os pacientes e é de fácil disponibilidade e de baixo custo. Não se têm reações adversas descritas consequentes ao seu uso. É fornecido comercialmente na forma estéril e apirogênica pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares -São Paulo (IPEN-SP) para uso médico.

Outro fármaco que vem sendo usado em nosso meio com bons resultados é o fitato. Aparentemente ele fica mais tempo retido no LS. Técnica - Uma dose de 250 µCi do radiofármaco é administrada intradérmicamente em 4 regiões, seguindo-se a orientação dos quatro pontos cardeais, bem próximo da lesão ou da cicatriz nos casos biopsiados, num volume total de 1 ml. As imagens de sua biodistribuição são realizadas em câmera de cintilação, numa fase dinâmica que dura de 5 a 10 minutos. Esta fase dinâmica é de extrema importância, pois define o número de canais linfáticos que saem do tumor e que devem ser seguidos até o linfonodo sentinela. Após a realização destas imagens é verificada a migração do radioindicador. A projeção dos mesmos é marcada na superfície da pele do paciente e imagens tardias de cerca de 2 horas são realizadas para certificar a não migração para outra região linfática, notadamente para os melanomas de tronco e de cabeça e pescoço. A qualidade do filme final registrador do exame depende das câmaras de cintilação e equipamentos de processamento computadorizados utilizados (BOXEN *et al.*, 1999).

Desde que o Tecnécio-99m (^{99m}Tc) foi introduzido nos procedimentos de diagnóstico em medicina nuclear, tem sido o radionuclídeo mais utilizado. O ^{99m}Tc é conveniente para a rotina médica na marcação de vários radiofármacos devido as suas características favoráveis (SILVA; CALDEIRA-DE-ARAÚJO; BERNADO FILHO, 2002).

O Tecnécio-99m (^{99m}Tc) é, sem dúvida, o radioisótopo que reúne as melhores características físicas para a obtenção de imagens em câmaras Anger (câmaras de cintilação). Pode estar prontamente disponível, de forma conveniente, através de um gerador de molibdênio-99 a um custo reduzido, tem meia-vida física de apenas 6 horas, e a emissão energética predominante no seu processo de decaimento é de 140 eV (88%) (RADIOTRAÇADORES, 2006).

O radiofármaco Fitato ^{99m}Tc é utilizado somente com finalidade diagnóstica em:

- Cintilografias de fígado, de baço ou de medula óssea;
- Linfocintilografias para avaliação do trajeto linfático em pacientes com linfedema ou para a detecção dos linfonodos sentinelas;
- Cistografia radioisotópica direta;
- Detecção de refluxo gastroesofágico e aspiração pulmonar em crianças;
- Localização de sangramento digestivo ativo;
- Ventilação pulmonar na forma de aerossóis.

Tecnécio-99m (^{99m}Tc) pode ser utilizado para marcar uma grande variedade de moléculas com o objetivo de obter imagens das mais diversas estruturas ou órgãos, o que lhe confere um papel de destaque na medicina nuclear. Especificamente em cardiologia, sempre houve grande interesse no desenvolvimento de agentes marcados com Tecnécio-99m (^{99m}Tc) para o estudo da perfusão miocárdica (RADIOTRAÇADORES, 2006).

As técnicas de administração do radioindicador são as mesmas descritas para o procedimento de linfocintilografia pré-operatória. Durante o ato cirúrgico se utiliza um detector portátil de radiação gama. Através das leituras das escalas numéricas e orientação sonora, o operador é guiado até a posição dos linfonodos concentrantes, localizando-os para a exérese. Após a retirada dos linfonodos corados e/ou concentrantes (quentes), os mesmos são aferidos pelo detector portátil de radiação. O leito operatório é novamente rastreado pelo detector em busca de mais linfonodos concentrantes. Só então a ferida operatória é fechada procedendo-se ao tratamento do sítio primário (HOFFMAN *et al.*, 1999). A detecção gama intra-operatória permite melhor localização do LS com menos dissecação, tornando possível a realização do procedimento sob anestesia local, como paciente externo. A biópsia do LS propriamente dita é realizada utilizando-se o mapeamento linfático com corante vital e/ou a detecção gama intra-operatória. Os dois procedimentos são complementares e devem ser usados sempre que possível para aumentar as chances de encontro do LS (PIJPERS *et al.*, 2000). A detecção gama intra-operatória permite melhor localização, menos dissecação, e aumenta as chances de se encontrar o LS. Além disto, a relação da medida da captação do LS com a do leito confirma ou não o diagnóstico do mesmo (OLIVEIRA FILHO, 1997). Após a retirada do LS, realiza-se a leitura do leito operatório, devendo-se encontrar queda acentuada da captação pela sonda. Se houver captação acima de 50% do LS retirado, deve-se prosseguir a dissecação à procura de outro LS. Após lavagem com soro fisiológico e fechamento do local onde foi retirado o LS (na maioria das vezes não é necessário drenagem), procede-se ao tratamento definitivo da lesão primária. Quando a lesão primária se localiza na mesma direção da leitura da região onde se encontra o linfonodo sentinela, deve ser realizado o tratamento da lesão primária antes, com a finalidade de diminuir a atividade radioativa e, assim, facilitar a

identificação do linfonodo sentinela. Outra manobra que deve ser utilizada nestes casos, é a mudança de decúbito do paciente, para tirar o sítio primário da direção de leitura da sonda de detecção gama.

A radiação a que se expõem pacientes, cirurgiões, equipe cirúrgica, patologista devido ao uso do radiofármacos é extremamente baixa, e mulheres que são potencial ou atualmente grávidas não são expostas ao risco. Não há necessidade de dosímetro de segurança para avaliar a exposição da radiação por parte da equipe cirúrgica e de patologistas (FILIPPAKIS; ZOGRAFOS, 2007).

Cada procedimento resulta em um nível de exposição pessoal que é uma fração muito pequena da dose máxima anual. A exposição à radiação para o paciente usando 0,5 μ Ci do colóide radioativo é a mesma da gerada por quatro exposições à mamografia.

A segurança com o uso de radiocolóides na BLS é um dos pontos fortes da técnica. A exposição à radiação é muito pequena, portanto não há necessidade de isolamento, precauções ou monitoramento especial, com relação à equipe e pacientes, com a utilização desses marcadores (VERONESI *et al.*, 1999; WADDINGTON *et al.*, 2000). Contaminação radioativa da sala de operação e materiais é mínima e não requerem manejo e procedimento especiais (FILIPPAKIS; ZOGRAFOS, 2007).

O emprego das técnicas combinadas, corante e radiofarmaco, para identificação do LS melhorou a taxa de identificação e diminuiu a taxa de falsos negativos na biopsia do LS (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 radiocolóide ou técnicas combinadas de biopsia de LS (CODY *et al.* 2001).

Trabalhos têm mostrado 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 (MORROW *et al.*, 1999; BLESSING *et al.*, 2002; VARGHESE *et al.* 2007). Técnicas combinadas, segundo Cody e colaboradores (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 permite identificar localizações não-usuais do LS e diminui a curva de aprendizado nos centros de treinamentos. Atualmente é a técnica preferida pelos cirurgiões na

pesquisa de LS (GIULIANO *et al.*, 1994; McMASTERS *et al.*, 2000; DEROSSIS *et al.*, 2001; McMASTERS *et al.* 2001; DE CICCIO *et al.*, 2002).

A utilização da Detecção Gama Intra-operatória (DGI) já está bem estabelecida para a identificação de Linfonodos Sentinela (LS) em melanoma (ALEX; KRAG, 1993; KRAG *et al.*, 1995; KAPTEIJN *et al.*, 1997) e em câncer de mama (KRAG *et al.*, 1993; KAPTEIJN *et al.* 1998). Atualmente, é considerada essencial e indispensável para o procedimento de biópsia do linfonodo sentinela (BLS). Além da alta sensibilidade para detecção dos linfonodos, a DGI torna o procedimento de BLS menos invasivo.

O azul patente apesar de ser extremamente usado possui efeitos colaterais e alto custo, por isso pesquisa-se também substâncias para substituí-los como o azul de metileno e atualmente a hemossiderina. Foram utilizadas seis cadelas sem raça definida. Injetou-se 0,2ml de tecnécio foi realizada em ambas as mamas superiores. Após 10 minutos, uma solução de 2,5ml de sangue hemolizado (hemossiderina) do próprio animal foi injetado no plexo linfático subpapilar da mama esquerda e 2,5ml de azul patente da mama contralateral concomitantemente e igualmente. Após mais 10 minutos incisões axilares foram realizadas para a procura, pela coloração e com uma gama probe, dos linfonodos sentinela. Como resultado, sete linfonodos sentinela castanhos e radiomarcados foram identificados na axila esquerda. Seis linfonodos sentinelas azuis e radiomarcados foram identificados na axila direita. Foi apresentado estudos preliminares de um potencial novo marcador para identificação do linfonodo sentinela. Este poderá mudar o uso de corantes vitais e de seus efeitos adversos em pacientes submetidos à biópsia do linfonodo sentinela (PINHEIRO *et al.*, 2009).

1.2 O cão como modelo

O cão foi escolhido para este modelo pela semelhança anatômica da drenagem linfática e uma boa distância entre o local de injeção e o local de pesquisa do linfonodo; algo que não seria possível com animais menores. Os linfonodos inguinais superficiais no cão são chamados linfonodos mamários por drenar a área dos pares mamários caudais. Eles estão localizados aproximadamente 3 a 4 cm cranialmente ao osso púbico na face dorsolateral das glândulas mamárias. Geralmente há dois linfonodos presentes, embora algumas vezes três ou quatro possam ser localizados. Seu tamanho varia de 0,5 a 2 cm de comprimento. Vasos linfáticos aferentes da pele e tecido conjuntivo subcutâneo das áreas abdominal e pélvica e membro posterior correspondem àqueles descritos para o macho.

Outro fato interessante que motivou a escolha do cão como modelo é a existência de um tumor de pênis que pode ser adquirido por transmissão sexual. Este tumor é chamado de Sarcoma de Sticker (figura 1). Tem sido também demonstrado transplante experimental (PALKER; YANG, 1981).

Pinheiro *et al.* (2003), já demonstraram em um estudo experimental na região subareolar de mama de cadelas, utilizando corante azul patente (AP), Tecnécio^{99m}Tc ou associação de ambas as técnicas e comparando-as quanto a sua sensibilidade na detecção do linfonodo sentinela, que o corante azul patente (AP) e Tecnécio^{99m}Tc, ligado ao fitato isolados ou associados é eficiente na identificação do linfonodo sentinela em cães.

Deste modo pareceu pertinente um estudo, em animais de experimentação para avaliar a drenagem linfática inguinal em cães.



FIGURA 1 - Sarcoma de Sticker

Fonte: <http://veterinaria-online.blogspot.com>

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Desenvolver um modelo experimental para identificação de linfonodo sentinela (LS) do pênis do cão com azul patente associado ao uso do Tecnécio 99m.

2.2 Específicos

- Criar um modelo que possa servir para treinamento de profissionais da área para identificação de linfonodos sentinelas da cadeia de drenagem do pênis.

3 MÉTODO

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo experimental descritivo.

3.2 Local do estudo

Este estudo foi desenvolvido no laboratório de cirurgia experimental Prof. Saul Goldenberg, do grupo de estudos oncológico (GEEON), extensão do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará (UFC) após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) em cães cedidos pelo Centro de Controle de Zoonose da Prefeitura Municipal de Fortaleza.

3.3 Universo e amostra

A amostra é composta por 19 cães machos, adultos sem raça definida da espécie *Canis familiaris*.

3.4 Critérios de inclusão

Para realização do trabalho proposto, foram elegíveis os cães conforme os critérios de inclusão adiante delineados:

- Clinicamente saudáveis;
- Cedidas pelo Centro de Controle de Zoonose da Prefeitura Municipal de Fortaleza;

3.5 Critérios de exclusão

- Cães com menos de seis meses de idade;
- Cães com menos de 5 Kg
- Cães com mais de 20 Kg

3.6 Aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa

Foi apresentado requerimento para aprovação da presente pesquisa junto ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) sob protocolo 06/08 (ANEXO 1)

3.7 Período de Estudo

Os experimentos da pesquisa foram iniciados em novembro de 2008 e concluídos em novembro de 2010. Foi disponibilizado um turno semanal para realização do

procedimento cirúrgico, perfazendo um total de 23 cães, um animal por experimento, sendo 4 destes utilizados para projeto piloto.

3.8 Material

Os equipamentos utilizados foram 2 unidades de detectores de radiação portátil, cujos modelos foram NuclearLab- DGC-8 e Navegador-GPS.

O radiofármaco utilizado foi o colóide fitato, marcado com Tecnécio 99, fornecido pela Clínica de Radiologia Omnimagem. O material era preparado no dia do procedimento, utilizando doses de 0,5mCi em 0,2ml de solução fisiológica.

O corante utilizado foi o azul patente 2,5% Guerbet V usado sem diluição.

Outras substâncias: atropina 0,25mg/ml na dosagem de 0,05mg/Kg SC; cloridrato de Cetamina 50mg/ml, Cloridrato de Xilaziana 2%- 20mg/ml, cloreto de potássio 10%.

O Laboratório Experimental Professor Saul Goldenberg dispunha de Sala de Cirurgia experimental, com estrutura, material e instrumental cirúrgicos para procedimentos experimentais tais como: mesa cirúrgica com calha para imobilização do cão, foco cirúrgico, armário para acondicionamento de medicações, agulhas, seringas, soluções de hidratação venosa, gazes, ataduras, fios cirúrgicos, lâminas de bisturis cirúrgicos, bisturi elétrico cirúrgico, além de todos os materiais necessários para procedimentos de pequeno e médio porte.

3.9 Desenho do estudo

Inicialmente foi realizada uma revisão bibliográfica enfatizando aspectos relacionados ao tema. Foi realizada uma fase preliminar de procedimentos (projeto piloto), a fim de padronização de técnicas e materiais, familiaridade com anatomia do cão e com os equipamentos utilizados.

Com até três dias de antecedência, o Centro de Zoonose da Prefeitura Municipal de Fortaleza era contatado para o preparo, seleção e fornecimento do animal, que era higienizado e avaliado quanto ao aspecto sanitário. No mesmo intervalo de tempo, era solicitado a clínica de radiologia Omnimagem o fornecimento do material radioativo para o experimento. Os materiais cirúrgicos e anestésicos eram checados anteriormente a execução do experimento.

O projeto piloto foi feito com 4 cães para estudo da anatomia da drenagem linfática e identificação dos linfonodos buscando assim a identificação de um linfonodo

sentinela. Além de ser encontrado o linfonodo sentinela não foi observado a presença de linfonodos corados ou “quentes” em região pélvica.

Os experimentos foram realizados utilizando um animal por vez.

Foram utilizadas 19 cães pesando aproximadamente doze quilos, sem raça definida, cedidas pelo Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura de Fortaleza (Fortaleza – Ceará - Brasil). Uma exigência era que os cães terem sacrifício programado por esta entidade. Na manhã do experimento, o animal era recolhido e encaminhado em transporte adequado disponível no laboratório de cirurgia experimental e acomodado no canil do laboratório Saul Goldenberg, situado no GEEON.

Na manhã do experimento e ainda no biotério, o animal era criteriosamente avaliado quanto às condições sanitárias e ao preenchimento dos critérios de inclusão da pesquisa. Aqueles que não perfaziam todos os critérios, eram devolvidos ao Centro de Zoonose da Prefeitura Municipal de Fortaleza no mesmo dia.

Após imobilização com técnica apropriada, o animal era anestesiado; era injetada atropina 0,25mg/ml na dosagem de 0,05mg/Kg SC e após 15 minutos, aplicava-se via IM cloridrato de Cetamina 50mg/ml em solução injetável de 10 ml, sendo administrado na dose de 15 mg/Kg de peso, associado a Cloridrato de Xilaziana 2%- 20mg/ml na dosagem de 1,5mg/Kg IM antes do experimento (Figura 1) (MASSONE, 2003).



FIGURA 2 - Anestesia via intramuscular.

Levada para a sala de procedimento, o cão era imobilizado na mesa cirúrgica com ataduras em decúbito dorsal com as patas abduzidas em extensão. O nível de anestesia geral era monitorado continuamente através de parâmetros clínicos que podem indicar a superficialização anestésica, tais como: movimentação das narinas e outros grupos musculares, frequências respiratória e cardíaca. Medicação adicional era ofertada para complementação de plano anestésico ideal, bem como realizada administração de solução fisiológica por punção venosa em uma das patas superiores com scalp 19 ou 21 para manutenção do acesso venoso (figura 3).



FIGURA 3 - Punção de acesso venoso periférico.

Inicialmente, um membro da equipe era destacado para registrar todos os dados, horários e estágios, bem como observações inerentes ao procedimento. A partir daí, o cirurgião injetava 0,2 ml de fitato de Tecnécio-99-mCi, com injeção intradérmica, com agulha de insulina, na glândula do pênis (eixo de 12h) dos cães (figura 4). Após a injeção, era realizada contagem da captação da radiação com o uso do aparelho gama-probe nos sítio de injeção. A sonda do aparelho era previamente envolvida com uma luva cirúrgica (figura 5).

Cinco e dez minutos após a injeção na glândula, era realizado mapeamento inguinal bilateral com a sonda do gama-probe, sendo registrado a captação inerente a cada lado neste intervalo de tempo (figuras 6 e 7).



FIGURA 4 - Injeção de 0,2 ml de fitato de Tecnécio-99-mCi intradérmica, com agulha de insulina na glândula peniana dos cães. Tempo zero do experimento.



FIGURA 5- Contagem da captação da radiação com o uso do aparelho gama-probe no sítio de injeção, revelando captação máxima no sítio de injeção.



FIGURA 6 A e B- Contagem da captação da radiação com o uso do aparelho gama-probe em regiões inguinais direita.



FIGURA 7 A e B- Contagem da captação da radiação com o uso do aparelho gama-probe em regiões inguinais esquerda.

Com dez minutos era injetado, na mesma região da glândula peniana o azul patente (Figura 8). Após cinco minutos da injeção dos corantes, era feita nova contagem de captação da radiação na região inguinal bilateral. Imediatamente após esta última contagem, incisões de aproximadamente 3 cm eram realizadas nos sítios de maior captação inguinal, seguida de dissecação cuidadosa dos planos, sendo guiada pela visualização da coloração azulada da rede linfática aferente que direciona para a identificação do(s) linfonodo(s) sentinela(s), confirmados com auxílio da sonda do aparelho gama-probe (Figura 9). Identificado o LS, nova contagem da captação do LS era feita (in vivo) e este observado se estava corado ou não. Identificado o linfonodo, seja pelo corante ou pelo gama-probe, este era ressecado e feito nova contagem da captação (ex vivo) (Figura 10). Considerava-se significativa uma captação no mínimo cinco vezes superior à radioatividade residual da região inguinal ou “the background radioactivity”.



FIGURA 8 - Injeção de Azul patente na glândula peniana.

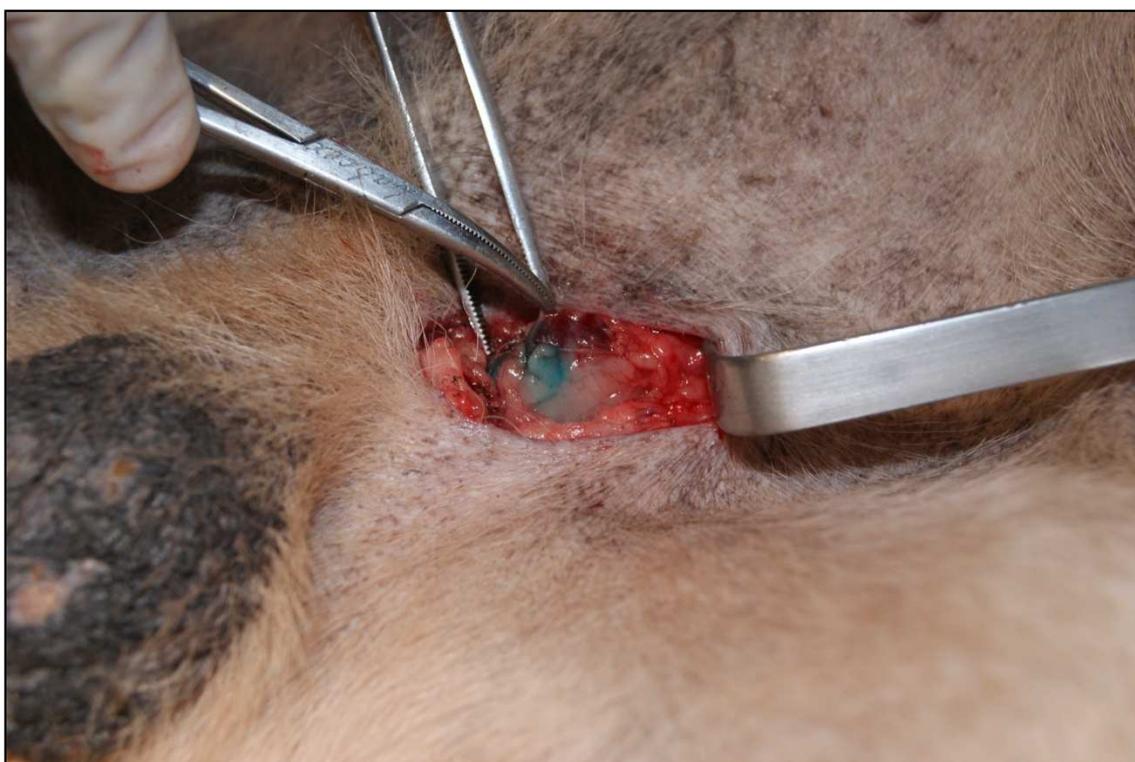


FIGURA 9- Incisão e localização do linfonodo com visualização do azul patente e auxílio do aparelho gama-probe em LS da região inguinal esquerda.

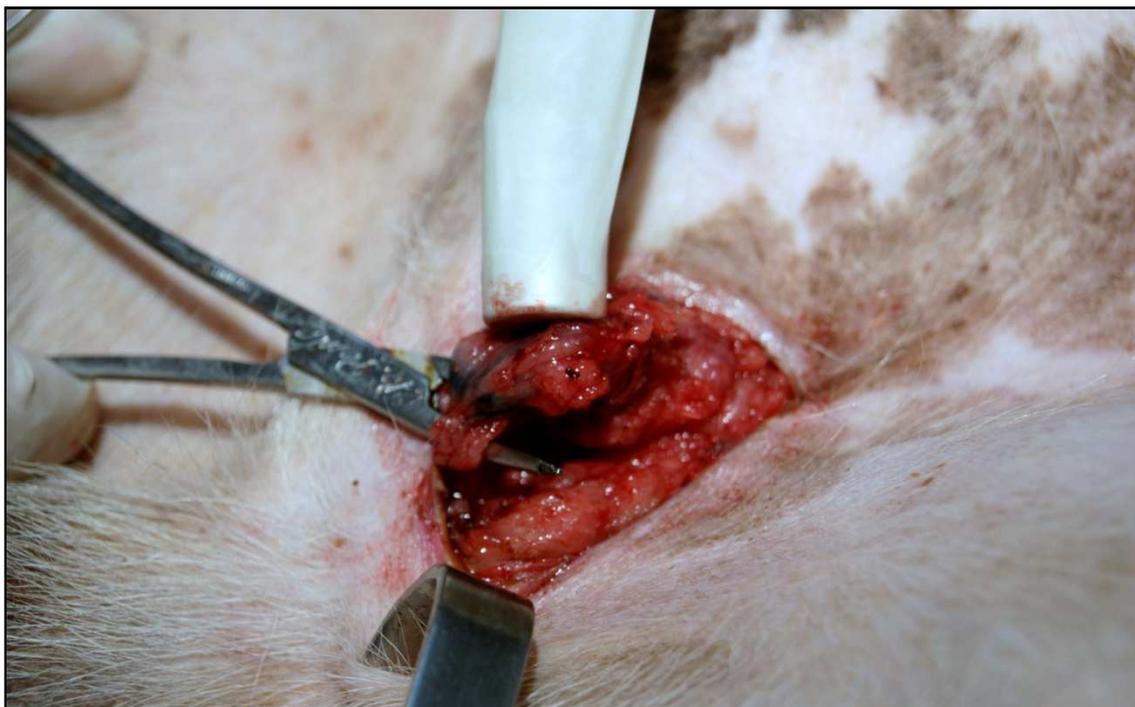


FIGURA 10- Incisão e localização do linfonodo com visualização do azul patente e auxílio do aparelho gama-probe em LS da região inguinal direita.

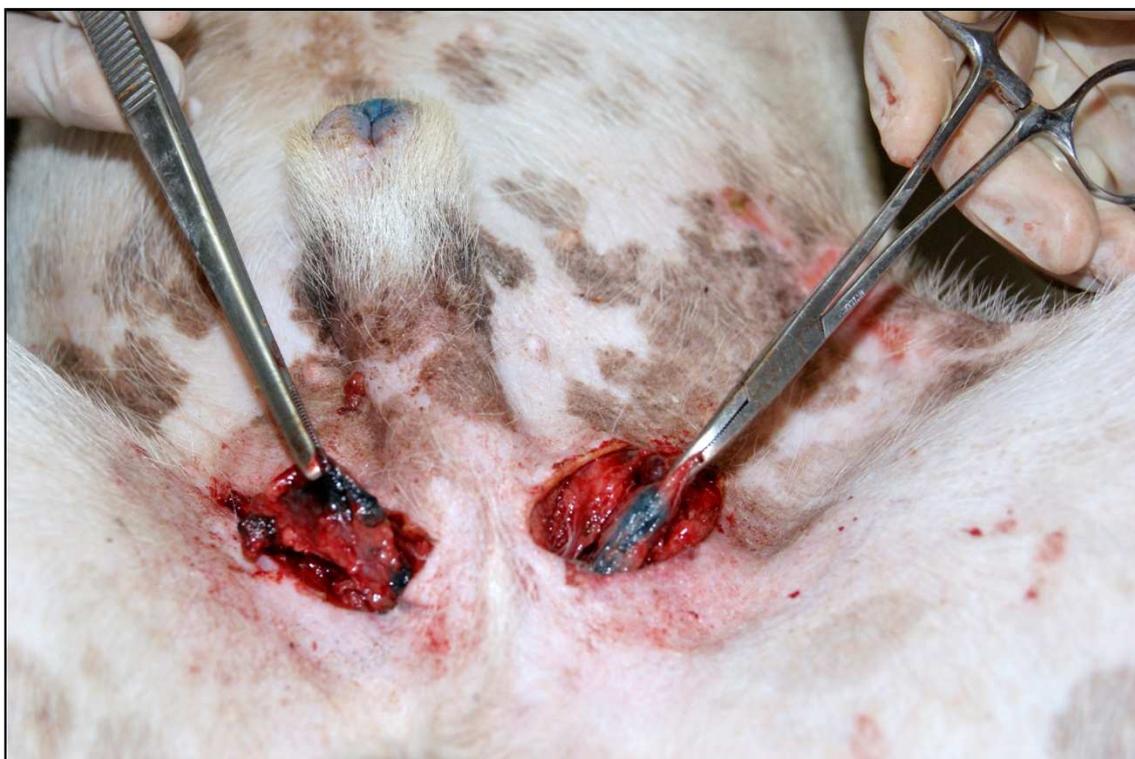


FIGURA 11 - Imagem de ambos os linfonodos com visualização do azul patente.



FIGURA 12 - Contagem da captação da radiação do LS corado com azul patente *ex vivo*.

A verificação da radioatividade do LS excisado fora do campo cirúrgico (contagem *ex vivo*) e comparação com a radiação do leito cirúrgico confirmam que foi realmente retirado o LS e que não existe outra fonte de radiação que possa justificar a continuação da pesquisa de outro LS. Foram registradas todas as taxas de radiação no sítio da injeção e na região inguinal antes da incisão e durante os três intervalos de tempo (a cada 5 minutos, totalizando 15 minutos), além da taxa de captação LS *in vivo* e *ex vivo* como também checado a radiação no leito da dissecação do LS para avaliar a possibilidade de outro(s) LS, sempre tendo como parâmetro “the background radioactivity”(radiação de controle).

Os dados tabulados quantificaram a intercessão entre as duas marcações e a concordância entre os métodos. Após realização da última contagem de radioatividade no leito inguinal e excluída a possibilidade de outro LS, hemostasia rigorosa era realizada. O procedimento cirúrgico era finalizado com síntese e sutura de ferida operatória.

Após o experimento, o animal era sacrificado na sala de cirurgia com injeção intravenosa em bolus de cloreto de potássio a 10%. Depois de confirmada a morte através da ausência de sinais vitais, o animal era armazenado em saco plástico adequado, colocado em refrigeração, por no mínimo duas horas, e enviado ao Centro de Zoonose.

Análise estatística

Foi utilizado o Programa SPSS (Statistical Package for the Social Science) versão 17.0. Os dados foram avaliados pelo teste de Mc Nemar e Coeficiente de Concordância de Kappa. O teste que avalia a concordância entre duas variáveis de acordo com a tabela 1:

TABELA 1- Valores de interpretação do teste Kappa

Valor de Kappa	Interpretação
<0	Não há concordância
0-0.19	Concordância pobre
0.20-0.39	Concordância distante
0.40-0.59	Concordância moderada
0.60-0.79	Concordância substancial
0.80-1.00	Concordância quase perfeita

FONTE: Landis JR, Koch GG.

4 RESULTADOS

Na tabela 2 mostra-se a variação dos valores de contagem após a injeção de tecnécio na glândula aos 5, 10 e 15 minutos mostrando crescimento com o tempo com um desvio padrão largo. Em relação à tabela 3, não houve diferença estatisticamente significativa entre os lados direito e esquerdo tanto na captação de tecnécio como na coloração com o azul patente ($p > 0,05$). Também não foi verificada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os lados direito e esquerdo, nas contagens *in vivo* e *ex vivo*, e no número de linfonodo corado com a azul patente. A intercessão dos métodos foi de 94,7% *in vivo* e 100% *ex vivo*.

TABELA 2 - Descrição das medidas de tendência central e de dispersão das contagens de tecnécios nos minutos 5, 10 e 15.

	Média	Máximo	Mínimo	Desvio padrão
Contagem aos 5 minutos	999	3180	250	846
Contagem aos 10 minutos	1294	4000	280	1095
Contagem aos 15 minutos	1611	4200	310	1203

O gráfico 1 mostra a intercessão entre a coloração com azul patente e a captação do tecnécio com 94,74.

Na tabela 4 utilizou-se o teste t de student pareado para analisar os dados de variáveis contínuas mostrando que não há diferença estatísticas entre os lados direito e esquerdo ($p > 0,05$).

Na tabela 5 foi usado o teste de McNemar que não mostrou diferença entre o lado direito e esquerdo. A tabela 6 evidencia correlação entre o lado direito *in-vivo* e *ex-vivo* com o aumento da contagem do probe; não mostrou correlação entre os lados direito e esquerdo *in vivo*. Os gráficos 5 e 6 mostram esta correlação linear à direita e esquerda respectivamente.

Para avaliar a correlação entre o azul patente e a captação do tecnécio usou-se o teste kappa. Usando o tecnécio como padrão mostra-se uma correlação não perfeita *in vivo* a direita enquanto vê-se uma correlação perfeita *ex vivo*. À esquerda o teste não é aplicável pois todos marcaram com tecnécio (tabela 7 a 10).

TABELA 3 - Comparação dos lados direito e esquerdo através de variáveis de coloração com azul patente e captação de radioatividade do tecnécio 99m, bem como a intercessão dos dois métodos

Variáveis	Direito		Esquerdo		c ²	P
	N	%	N	%		
Linfonodo sentinela						
<i>In vivo corado</i>						
Não	1	5,3	2	10,5	0,362	0,547
Sim	18	94,7	17	89,5		
Linfonodo sentinela						
<i>Ex vivo corado</i>						
Não	1	5,3	2	10,5	0,362	0,547
Sim	18	94,7	17	89,5		
Contagem <i>in vivo</i>						
0 a 500	1	5,3	2	10,5	0,49*	0,738
501 a 1000	6	31,6	6	31,6		
1001 a 2000	5	26,3	5	26,3		
2001 a 3000	3	15,8	2	10,5		
3001 a 4000	3	15,8	2	10,5		
> 4000	1	5,3	2	10,5		
Contagem <i>ex vivo</i>						
0 a 500	1	5,3	2	10,5	0,139*	0,331
501 a 1000	6	31,6	6	31,6		
1001 a 2000	3	15,8	6	31,6		
2001 a 3000	4	21,1	1	5,3		
3001 a 4000	0	0	2	10,5		
> 4000	5	26,3	2	10,5		
Intercessão dos métodos						
<i>In vivo</i>						
Não	1	5,3	1	5,3	0,0	1,0
Sim	18	94,7	18	94,7		
Intercessão dos métodos						
<i>ex vivo</i>						
Não	0	0	0	0	**	**
Sim	19	100	19	100		
Total	19	100.0	19	100.0		

* Aplicado Kendall's Tau B

**Não calculado, variável constante.

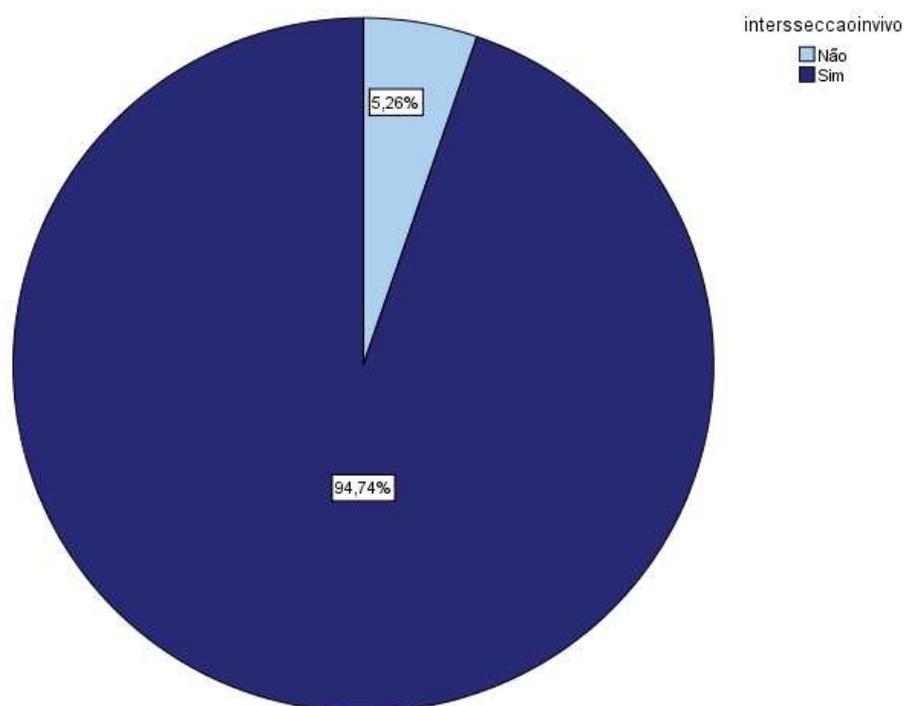


GRÁFICO 1- Interseção dos métodos (azul patente e radiação) *In vivo*

TABELA 4 - Teste *t* de *student* pareado comparando a captação de radioatividade encontrada à direita e esquerda *in vivo* e *ex vivo*

		N	Média	Desvio padrão	T	P
Contagem <i>in vivo</i>	Direito	19	1802,63	1200,8	0,603	0,551
	Esquerdo	18	2120,56	1905,856		
Contagem <i>ex vivo</i>	Direito	18	2838,89	2417,37	-1,094	0,282
	Esquerdo	17	2035,88	1909,42		

TABELA 5 - Relação entre o linfonodo esquerdo e direito corado pelo azul patente *in vivo* pelo teste de McNemar

		Linfonodo Esquerdo corado			p
		Não corou	Corou	Total	
Linfonodo Direito corado	Não corou	1	1	2	1,00
	Corou	0	17	17	
	Total	1	18	19	

TABELA 6- Correlação de Pearson da contagem de radiação encontrada a direita e esquerda nos linfonodos *in vivo* e *ex vivo*

	<i>In vivo</i> – Dir	<i>ex vivo</i> - Dir	<i>In vivo</i> - Esq	<i>ex vivo</i> - Esq
<i>In vivo</i> – Dir	-	0,919**	0,275	0,460*
<i>ex vivo</i> – Dir	0,919**	-	0,136	0,546*
<i>In vivo</i> – Esq	0,275	0,136	-	0,234
<i>ex vivo</i> – Esq	0,460*	0,546*	0,234	-

* Significa $p < 0,05$

** Significa $p < 0,01$

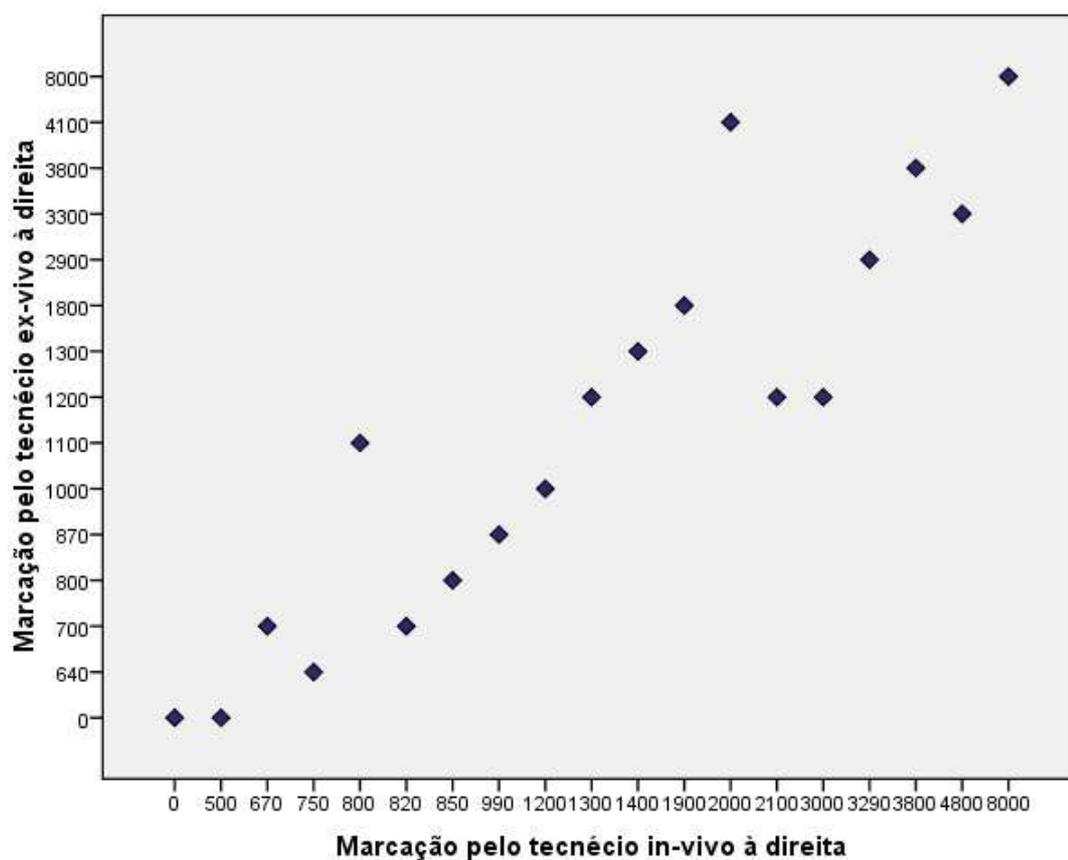


GRÁFICO 2- Relação entre as contagens de radiação pelo tecnécio no linfonodo *in vivo* e *ex vivo* – Lado direito

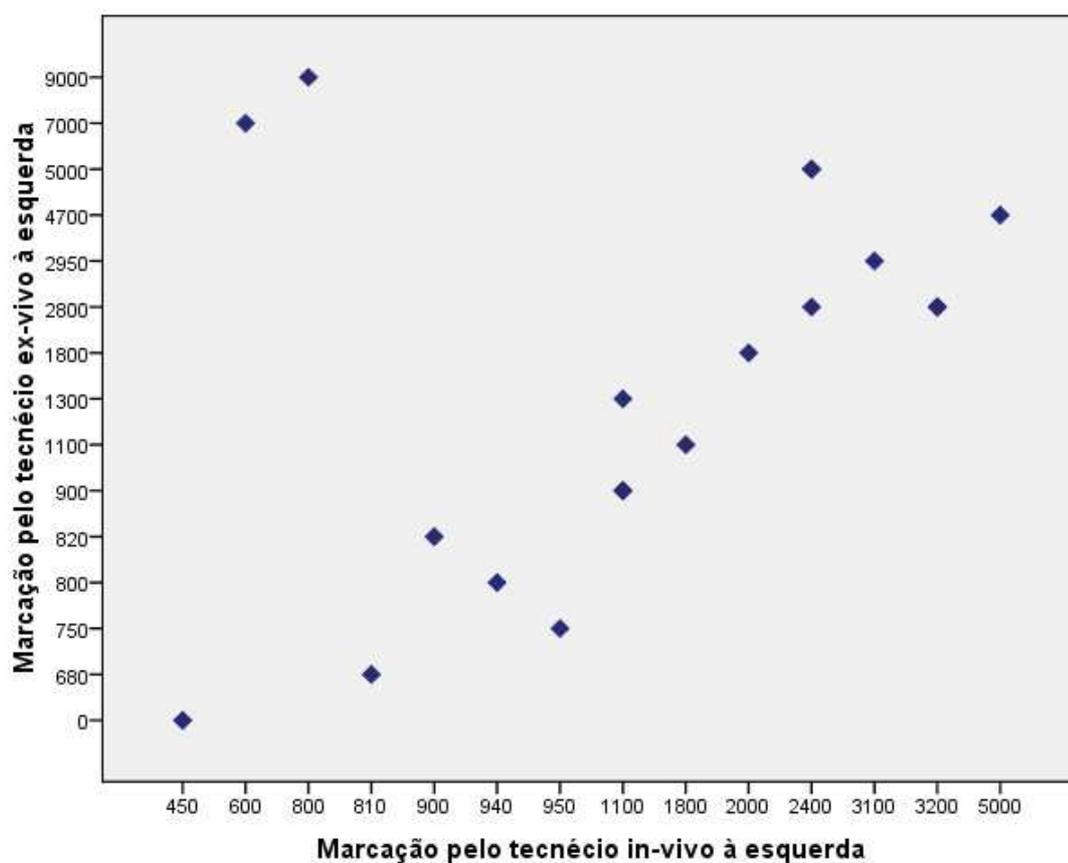


GRÁFICO 3- Relação entre as contagens de radiação pelo técnico no linfonodo *in vivo* e *ex vivo* – Lado esquerdo

TABELA 7- Concordância entre os métodos de captação do técnico e corado com azul patente *in vivo* a direita

		Marcado		Total	
		Não	Sim		
Corado	Não	N	1	1	2
		%	100,0%	5,6%	10,5%
	Sim	N	0	17	17
		%	,0%	94,4%	89,5%
Total		N	1	18	19
		%	100,0%	100,0%	100,0%

Kappa: 0,642

TABELA 8 - Concordância entre os métodos de captação do técnico e corado com azul patente *in vivo* à esquerda

			Marcado		Total
			Sim		
Corado	Não	N	1	1	
		%	5,3%	5,3%	
	Sim	N	18	18	
		%	94,7%	94,7%	
Total	N	19	19		
	%	100,0%	100,0%		

*Kappa não aplicável

TABELA 9 - Concordância entre os métodos de captação do técnico e corado com azul patente *ex vivo* a direita

			Marcado		Total
			Não	Sim	
Corado	Não	N	2	0	2
		%	100,0%	,0%	10,5%
	Sim	N	0	17	17
		%	,0%	100,0%	89,5%
Total	N	2	17	19	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

*Kappa: 1,00

TABELA 10 - Concordância entre os métodos de captação do técnico e corado com azul patente *ex vivo* a esquerda

			Marcado		Total
			Não	Sim	
Corado	Não	N	1	0	1
		%	100,0%	,0%	5,3%
	Sim	N	0	18	18
		%	,0%	100,0%	94,7%
Total	N	1	18	19	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

*Kappa: 1,00

5 DISCUSSÃO

Apesar de Cabanas (1977) ter sido o primeiro a definir o conceito de linfonodo sentinela, o papel da biópsia do LS no câncer de pênis é ainda controverso, principalmente pelas altas taxa de resultados falso-negativos. (PERINETTI *et al.*, 1980; WESPES *et al.*, 1986; PETTAWAY *et al.*, 1995).

A pesquisa do linfonodo sentinela (LS) encontra-se atualmente amplamente validada para o câncer de mama e para o melanoma cutâneo. O estado patológico do LS reflete a realidade de toda área de drenagem da lesão (SOHAIB *et al.*, 2003; PLATE *et al.*, 2004). Esta pesquisa aplicada ao câncer de pênis poderia beneficiar muitos pacientes com uma cirurgia mais precisa e com menos morbidades trans e pós-operatórias, melhorando assim a qualidade de vida.

Dentre as técnicas de mapeamento linfático e detecção do LS, a utilização de radiocolóides e o uso do gamma-probe (cirurgia radioguiada), associados ou não ao corante azul patente, têm demonstrado os melhores resultados (DE HULLU; VAN DER ZEE, 2003; PLATE; RENAUD; ROY, 2004). Van der Verr *et al.* (1994), Albertini *et al.* (1996), Veronesi *et al.* (1997) testaram microcolóides de albumina marcada com Tecnécio^{99m}Tc, que permitiu evidenciar o LS por meio de uma linfocintilografia e de uma sonda para cirurgia radioguiada, retirando-o por meio de uma pequena incisão. A linfocintilografia pré-operatória foi então adicionada com o objetivo de especificar a localização e o número de LS.

Para o câncer de pênis, a drenagem linfática é muito mais previsível do que para o melanoma, com apenas duas bacias de drenagem em potencial. A incidência de metástases em pacientes com melanoma é cerca de 1% enquanto a do câncer de pênis é menor, de acordo com a literatura (MORTON *et al.*, 1992; REINTGEN *et al.*, 1994). PERDONA *et al.* (2005) compararam dissecação bilateral com biópsia do linfonodo sentinela em carcinoma de pênis e encontraram taxas similares de metástases (39% vs 36%), mas a SNB foi associado significativamente menor morbidade pós-operatória. Além disso, numa revisão recente Kroon *et al.* (2005) afirmam que quando os pacientes têm apenas micro-metástases (2 mm ou menos) presentes no linfonodo sentinela, todos os outros linfonodos inguinais parecem estar livres de tumor, e podem portanto, ser poupados de outras disseções linfonodais.

Pinheiro et al (2003), demonstraram em um estudo experimental na região subareolar de mama de cadelas, utilizando corante azul patente (AP), Tecnécio (^{99m}Tc) ou associação de ambas as técnicas e comparando-as quanto a sua sensibilidade na detecção do linfonodo sentinela e concluiu ser o corante azul patente (AP) e o Tecnécio(^{99m}Tc) ligado à fitato isolados ou associados eficientes na identificação do linfonodo sentinela.

Através deste modelo, os residentes de mastologia fazem treinamento para adquirir mais aptidão na pesquisa do linfonodo sentinela em câncer de mama.

Melo et al., (2010), seguindo a mesma linha de pesquisa, apresentou um modelo experimental, em caninos, para pesquisa do linfonodo sentinela em estômago.

Baseado nestes estudos, evidenciou-se que um modelo experimental para a pesquisa de linfonodo sentinela da região do pênis do cão poderia ser factível, bem como ter uma importância relevante para treinamento de cirurgiões da área. O presente estudo trata-se, então, da validação de um modelo com o objetivo de estudar a pesquisa de linfonodo sentinela no pênis do cão.

Na revisão da literatura baseada no Pubmed/Medline, Scielo e Lilacs (na data de 20 de outubro de 2010) cruzando os unitermos câncer de pênis, metástase linfática, biópsia de linfonodo sentinela e modelo experimental não foi encontrado nenhum trabalho que correspondesse a pesquisa de linfonodo sentinela no pênis do cão.

Foi encontrado um modelo de pesquisa de linfonodo sentinela com azul patente e Tc^{99} em ovelhas nos membros inferiores com apenas quatro animais (TSOPELA *et al.*, 2006). Outro modelo encontrado foi o da pesquisa de linfonodo sentinela para câncer de bexiga usando cães de laboratório, cães com neoplasia de bexiga de origem natural e porcos (KNAPP *et al.*, 2008).

O trabalho se destaca pela importância no aprofundamento do estudo do linfonodo sentinela para pênis, seguindo um caminho semelhante à pesquisa do LS para o câncer de mama anos atrás.

No estudo observa-se em 94,76% dos casos a identificação do linfonodo sentinela não havendo diferença estatística na sua identificação entre os lados direito e esquerdo ($P > 0,05$).

Foi observado nas tabelas 6 a 9 uma boa correlação entre os métodos de coloração pelo azul patente e de marcação com tecnécio ($\text{kappa}: 0,642$) à direita e correlação perfeita entre os métodos à esquerda ($\text{kappa}: 1$) indicando uma boa constância nos procedimentos.

A utilização do ^{99m}Tc -Fitato na detecção do linfonodo sentinela LNS em pacientes com melanoma maligno, revisando as indicações e informações fornecidas por sua biópsia, foi realizada por meio da linfocintilografia em 92 pacientes com melanoma. A linfocintilografia permitiu a identificação do LNS em todos os estudos, havendo detecção intra-operatória em 98,8% dos casos (SAPIENZA *et al.*, 2003). Valor aproximado foi

encontrado por Pinheiro et al. (2003) e neste trabalho, mostrando consistência na pesquisa comparando os resultados em humanos e em animais.

Não foi observado nenhuma diferença estatística significativa ($p > 0,05$) nas contagem de radiação dos lados direito e esquerdo.

A validação deste modelo pode trazer inúmeros benefícios aos pacientes com câncer de pênis. A diminuição da curva de aprendizado pelo treinamento neste modelo pode ajudar a diminuir as taxas de falso-negativos na BLS. Pode servir também para implementar outras pesquisas inclusive com o implante de células tumorais do Sarcoma de Sticker no pênis do cão estudando a metastatização e busca do linfonodo metastático. (SANTOS et al., 2008)

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que a pesquisa no linfonodo sentinela no pênis do cão é exequível.

Tanto o Azul patente quanto o Tecnécio ^{99m}Tc se mostraram eficientes na identificação do linfonodo sentinela, possuindo uma boa correlação comparando os dois métodos.

O modelo pode ser usado para testar outros métodos de identificação do linfonodo sentinela trazendo prováveis benefícios para a prática clínica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABI-AAD, A. S.; DEKERNION, J. B. Controversies in ilioinguinal lymphadenectomy for cancer of the p enis. **Urol Clin North Am**, v. 19, n.2, p 319-324, 1992.

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

ALEX, J. C.; KRAG, D. N. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. **Surg Oncol**, v. 2, n.3, p. 137-143, 1993.

BANDIERAMONTE, G.; M. COLECCHIA, *et al.* P eniscopically controlled CO2 laser excision for conservative treatment of in situ and T1 penile carcinoma: report on 224 patients. **Eur Urol**, v. 54, n.4, p. 875-882, 2008.

BEGGS, J. H.; SPRATT JR, J. S. Epidermoid Carcinoma of the P enis. **J Urol**, v.91, p. 166-172, 1964.

BEVAN-THOMAS, R.; SLATON, J. W. *et al.* Contemporary morbidity from lymphadenectomy for penile squamous cell carcinoma: the M.D. Anderson Cancer Center Experience. **J Urol**, v.167, n.4, p. 1638-1642, 2002.

BEZERRA, A. L.; LOPES, A. *et al.* Human papillomavirus as a prognostic factor in carcinoma of the p enis: analysis of 82 patients treated with amputation and bilateral lymphadenectomy. **Cancer**, v. 91, n.12, p. 2315-2321, 2001.

BLAYNEY, D. W.; JAFFE, E. S. *et al.* The human T-cell leukemia/lymphoma virus, lymphoma, lytic bone lesions, and hypercalcemia. **Ann Intern Med**, v. 98, n. 2, p. 144-151, 1983.

BLESSING, W. D.; STOLIER, A. J. *et al.* A comparison of methylene blue and lymphazurin in breast cancer sentinel node mapping. **Am J Surg**, v. 184, n. 4, p. 341-345, 2002.

BOSHART, M.; GISSMANN, L. *et al.* A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. **EMBO J**, v. 3, n. 5, p. 1151-1157, 1984.

BOXEN, I.; MCCREADY, D. *et al.* Sentinel node detection and definition may depend on the imaging agent and timing. **Clin Nucl Med**, v. 24, n. 6, p. 390-394, 1999.

BRODERS, A. C. Squamous-Cell Epithelioma of the Skin: A Study of 256 Cases. **Ann Surg**, v. 73, n. 2, p. 141-160, 1921.

BURGERS, J. K.; BADALAMENT, R. A. *et al.* Penile cancer. Clinical presentation, diagnosis, and staging. **Urol Clin North Am**, v.19, n.2, p. 247-256, 1992.

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

CATALONA, W. J. Modified inguinal lymphadenectomy for carcinoma of the pênis with preservation of saphenous veins: technique and preliminary results. **J Urol**, v. 140, n.2, p. 306-310, 1988.

CHIAPPA, S.; USLENGHI, C. *et al.* Combined testicular and foot lymphangiography in testicular carcinomas. **Surg Gynecol Obstet**, v. 123, n. 1, p. 10-14, 1966.

CHRISTENSEN, B.; BLICHERT-TOFT, M. *et al.* Reliability of axillary lymph node scintiphotography in suspected carcinoma of the breast. **Br J Surg**, v. 67, n. 9, p. 667-668, 1980.

COBLENTZ, T. R.; THEODORESCU, D. Morbidity of modified prophylactic inguinal lymphadenectomy for squamous cell carcinoma of the pênis. **J Urol**, v. 168, n. 4, p. 1386-1389, 2002.

CODY, H. S. 3rd.; FEY, J. *et al.* Complementarity of blue dye and isotope in sentinel node localization for breast cancer: univariate and multivariate analysis of 966 procedures. **Ann Surg Oncol**, v. 8, n. 1, p. 13-19, 2001.

COLBERG, J. W.; ANDRIOLE, G. L. *et al.* Long-term follow-up of men undergoing modified inguinal lymphadenectomy for carcinoma of the pênis. **Br J Urol**, v. 79, n. 1, p. 54-57, 1997.

COOK-BOLDEN, F.; WEINBERG, J. M. Topical imiquimod 5% cream in the treatment of Bowen's disease of the pênis. **J Am Acad Dermatol**, v. 46, n. 1, p. 146-147, 2002.

CRAWSHAW, J. W.; ADWAY, P. H. *et al.* Sentinel lymph node biopsy using dynamic lymphoscintigraphy combined with ultrasound-guided fine needle aspiration in penile carcinoma. **Br J Radiol**, v. 82, n. 973, p. 41-48, 2009.

CROOK, J.; MA, C. *et al.* Radiation therapy in the management of the primary penile tumor: an update. **World J Urol**, v. 27, n. 2, p. 189-196, 2009.

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

CUBILLA, A. L.; REUTER, V. *et al.* Histologic classification of penile carcinoma and its relation to outcome in 61 patients with primary resection. **Int J Surg Pathol**, v.9, n.2, p.111-120, 2001.

CULKIN, D. J.; BEER, T. M. Advanced penile carcinoma. **J Urol**, v. 170, n. 2, Pt 1, p. 359-365, 2003.

CUPP, M. R.; MALEK, R. S. *et al.* The detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid in intraepithelial, in situ, verrucous and invasive carcinoma of the p enis. **J Urol**, v. 154, n. 3, p. 1024-1029, 1995.

D'ANCONA, C. A.; LUCENA, R. G. de *et al.* Long-term followup of penile carcinoma treated with penectomy and bilateral modified inguinal lymphadenectomy. **J Urol**, v. 172, n. 2, p. 498-501, discussion 501, 2004.

D'EREDITA, G.; SERIO, 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 J Surg**, v. 26, n. 5, p. 588-590, discussion 590-581, 2002.

DE CICCO, C.; PIZZAMIGLIO, M. *et al.* Radioguided occult lesion localisation (ROLL) and surgical biopsy in breast cancer. Technical aspects. **Q J Nucl Med**, v. 46, n. 2, p.145-151, 2002.

DE KANTER, A. Y.; MENKE-PLUIJMERS, M. B. *et al.* Reasons for failure to identify positive sentinel nodes in breast cancer patients with significant nodal involvement. **Eur J Surg Oncol**, v. 32, n. 5, p. 498-501, 2006.

DEROSSIS, A. M.; FEY, J. *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. **J Am Coll Surg**, v. 193, n. 5, p.473-478, 2001.

DERRICK JR, F. C.; LYNCH JR, K. M. *et al.* Epidermoid carcinoma of the p enis: computer analysis of 87 cases. **J Urol**, v. 110, n. 3, p. 303-305, 1973.

DILLNER, J.; VON KROGH, G. *et al.* Etiology of squamous cell carcinoma of the p enis. **Scand J Urol Nephrol Suppl**, v. 205, p. 189-193, 2000.

DROLLER, M. J. Carcinoma of the p enis; an overview. **Urol Clin North Am**, v. 7, n. 3, p. 783-784, 1980.

EAST, J. M.; VALENTINE, C. S. *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 Surg**, v. 9, n. 2, 2009.

EBELL, M. H.; SIWEK, J. *et al.* Strength of recommendation taxonomy (SORT): a patient-centered approach to grading evidence in the medical literature. **J Am Board Fam Pract**, v. 17, n. 1, p. 59-67, 2004.

EKSTROM, T.; EDSMYR, F. Cancer of the p enis; a clinical study of 229 cases. **Acta Chir Scand**, v. 115, n.1-2, p.25-45, 1958.

EMERSON, R. E.; ULBRIGHT, T. M. *et al.* Predicting cancer progression in patients with penile squamous cell carcinoma: the importance of depth of invasion and vascular invasion. **Mod Pathol**, v. 14, n.10, p. 963-968, 2001.

EVEN-SAPIR, E.; LERMAN, H. *et al.* Lymphoscintigraphy for sentinel node mapping using a hybrid SPECT/CT system. **J Nucl Med**, v. 44, n. 9, p. 1413-1420, 2003.

FAVORITO, L.A.; NARDI, A.C. *et al.* Epidemiologic study on penile cancer in Brazil. **Inte Braz. J. Urol**, v. 34, n.35, p. 585-593, 2008.

FICARRA, V.; GALFANO, A. Should the dynamic sentinel node biopsy (DSNB) be considered the gold standard in the evaluation of lymph node status in patients with penile carcinoma? **Eur Urol**, v. 52, n.1, p. 17-19, discussion 20-11, 2007.

FICARRA, V.; MARTIGNONI, G. *et al.* Predictive pathological factors of lymph nodes involvement in the squamous cell carcinoma of the p enis. **Int Urol Nephrol**, v. 34, n. 2, p. 245-250, 2002.

FICARRA, V.; ZATTONI, F. *et al.* Nomogram predictive of pathological inguinal lymph node involvement in patients with squamous cell carcinoma of the p enis. **J Urol**, v. 175, n.5, p.1700-1704, discussion 1704-1705, 2006.

FILIPPAKIS, G. M.; ZOGRAFOS, G. Contraindications of sentinel lymph node biopsy: are there any really? **World J Surg Oncol**, v. 5, n. 10, 2007.

FISHER, B.; BAUER, M. *et al.* Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP update. **Cancer**, v. 52, n. 9, p. 1551-1557, 1983.

FISHER, B.; FISHER, E. R. Barrier function of lymph node to tumor cells and erythrocytes. II. Effect of x-ray, inflammation, sensitization and tumor growth. **Cancer**, v. 20, n. 11, p. 1914-1919, 1967.

FRALEY, E. E.; ZHANG, G. *et al.* The role of ilioinguinal lymphadenectomy and significance of histological differentiation in treatment of carcinoma of the pênis. **J Urol**, v. 142, n. 6, p. 1478-1482, 1989.

GILCHRIST, R. K. Fundamental Factors Governing Lymphatic Spread of Carcinoma. **Ann Surg**, v. 111, n. 4, p. 630-639, 1940.

GIRARDI, F.; FUCHS, P. *et al.* Prognostic importance of human papillomavirus type 16 DNA in cervical cancer. **Cancer**, v. 69, n. 10, p. 2502-2504, 1992.

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

GONZAGA-SILVA, L. F.; TAVARES, J. M. *et al.* The isolated gamma probe technique for sentinel node penile carcinoma detection is unreliable. **Int Braz J Urol**, v. 33, n. 1, p. 58-63, discussion 64-57, 2007.

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

GOYAL, A.; NEWCOMBE, R. G. *et al.* Actors affecting failed localisation and false-negative rates of sentinel node biopsy in breast cancer--results of the ALMANAC validation phase. **Breast Cancer Res Treat**, v. 99, n. 2, p. 203-208, 2006.

GREGOIRE, L.; CUBILLA, A. L. *et al.* Preferential association of human papillomavirus with high-grade histologic variants of penile-invasive squamous cell carcinoma. **J Natl Cancer Inst**, v. 87, n. 22, p. 1705-1709, 1995.

HAAGENSEN, C. D.; LANE, N. *et al.* Neoplastic proliferation of the epithelium of the mammary lobules: adenosis, lobular neoplasia, and small cell carcinoma. **Surg Clin North Am**, v. 52, n. 2, p. 497-524, 1972.

HAAGENSEN, C. D.; STOUT, A. P. Carcinoma of the Breast. II-Criteria of Operability. **Ann Surg**, v. 118, n. 6, p. 1032-1051, 1943.

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, 1894.

HEGARTY, P. K.; MINHAS, S. Re: Evaluation of dynamic lymphoscintigraphy and sentinel lymph-node biopsy for detecting occult metastases in patients with penile squamous cell carcinoma. **BJU Int**, v. 101, p.6, p. 781, author reply p. 781-782, 2008.

HELLBERG, D.; VALENTIN, J. *et al.* Penile cancer: is there an epidemiological role for smoking and sexual behaviour? **Br Med J (Clin Res Ed)**, v. 295, n. 6609, p. 1306-1308, 1987.

HELLMAN, S. Karnofsky Memorial Lecture. Natural history of small breast cancers. **J Clin Oncol**, v. 12, n. 10, p. 2229-2234, 1994.

HERNANDEZ-TORIS, N.; QUINTERO-BECERRA, J. *et al.* Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in pênis cancer. Feasibility study and preliminary report. **Cir Cir**, v. 75, n. 2, p. 87-91, 2007.

HEYNS, C. F.; THERON, P. D. Evaluation of dynamic sentinel lymph node biopsy in patients with squamous cell carcinoma of the pênis and palpable inguinal nodes. **BJU Int**, v. 102, n.3, p. 305-309, 2008.

HOFFMAN, E. J.; TORNAL, M. P. *et al.* Intraoperative probes and imaging probes. **Eur J Nucl Med**, v. 26, n. 8, p. 913-935, 1999.

HORENBLAS, S. Lymphadenectomy for squamous cell carcinoma of the pênis. Part 2: the role and technique of lymph node dissection. **BJU Int**, v. 88, n. 5, p. 473-483, 2001.

HORENBLAS, S. Words of wisdom. Re: Preoperative lymphoscintigraphy and dynamic sentinel node biopsy for staging penile cancer: results with pathological correlation. **Eur Urol**, v. 52, n. 4, p. 1261, 2007.

HORENBLAS, S.; JANSEN, L. *et al.* Detection of occult metastasis in squamous cell carcinoma of the p enis using a dynamic sentinel node procedure. **J Urol**, v. 163, n. 1, p. 100-104, 2000.

HORENBLAS, S.; VAN TINTEREN, H. Squamous cell carcinoma of the p enis. IV. Prognostic factors of survival: analysis of tumor, nodes and metastasis classification system. **J Urol**, v. 151, n. 5, p. 1239-1243, 1994.

HORENBLAS, S.; VAN TINTEREN, H. *et al.* Squamous cell carcinoma of the p enis. III. Treatment of regional lymph nodes. **J Urol**, v. 149, n. 3, p. 492-497, 1993.

JANNINK, I.; FAN, M. *et al.* Serial sectioning of sentinel nodes in patients with breast cancer: a pilot study. **Ann Surg Oncol**, v. 5, n. 4, p. 310-314, 1998.

JANSEN, L.; NIEWEG, O. E. *et al.* Reliability of lymphoscintigraphy in indicating the number of sentinel nodes in melanoma patients. **Ann Surg Oncol**, v. 7, n. 8, p. 624-630, 2000.

JOHNSON, D. E.; LO, R. K. Complications of groin dissection in penile cancer. Experience with 101 lymphadenectomies. **Urology**, v. 24, n. 4, p. 312-314, 1984.

KAPTEIJN, B. A.; NIEWEG, O. E. *et al.* Localizing the sentinel node in cutaneous melanoma: gamma probe detection versus blue dye. **Ann Surg Oncol**, v. 4, n. 2, p. 156-160, 1997.

KAPTEIJN, B. A.; NIEWEG, O. E. *et al.* Identification and biopsy of the sentinel lymph node in breast cancer. **Eur J Surg Oncol**, v. 24, n. 5, p. 427-430, 1998.

KIZU, H.; TAKAYAMA, T. *et al.* Fusion of SPECT and multidetector CT images for accurate localization of pelvic sentinel lymph nodes in prostate cancer patients. **J Nucl Med Technol**, v. 33, n. 2, p. 78-82, 2005.

KRAG, D. N.; MEIJER, S. J. *et al.* Minimal-access surgery for staging of malignant melanoma. **Arch Surg**, v.130, n. 6, p. 654-658; discussion 659-660, 1995.

KRAG, D. N.; WEAVER, D. L. *et al.* Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. **Surg Oncol**, v. 2, n. 6, p. 335-339; discussion 340, 1993.

KROON, B. K.; HORENBLAS, S. *et al.* Ultrasonography-guided fine-needle aspiration cytology before sentinel node biopsy in patients with penile carcinoma. **BJU Int**, v. 95, n. 4, p. 517-521, 2005.

KROON, B. K., S. HORENBLAS, *et al.* Dynamic sentinel node biopsy in penile carcinoma: evaluation of 10 years experience. **Eur Urol**, v. 47, n. 5, p. 601-606; discussion 606, 2005.

KROON, B. K.; HORENBLAS, S. *et al.* Contemporary management of penile squamous cell carcinoma. **J Surg Oncol**, v. 89, n. 1, p. 43-50, 2005.

KROON, B. K.; LONT, A. P. *et al.* Morbidity of dynamic sentinel node biopsy in penile carcinoma. **J Urol**, v. 173, n. 3, p. 813-815, 2005.

LAND, R.; HEROD, J. *et al.* Routine computerized tomography scanning, groin ultrasound with or without fine needle aspiration cytology in the surgical management of primary squamous cell carcinoma of the vulva. **Int J Gynecol Cancer**, v. 16, n. 1, p. 312-317, 2006.

LEIJTE, J. A.; HUGHES, B. *et al.* Two-center evaluation of dynamic sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the pênis. **J Clin Oncol**, v. 27, n. 20, p. 3325-3329, 2009.

LICKLIDER, S. Jewish penile carcinoma. **J Urol**, v. 86, p. 98, 1961.

LOPES, A.; BEZERRA, A. L. *et al.* Iliac nodal metastases from carcinoma of the pênis treated surgically. **BJU Int**, v. 86, n. 6, p. 690-693, 2000.

LOPES, A.; HIDALGO, G. S. *et al.* Prognostic factors in carcinoma of the pênis: multivariate analysis of 145 patients treated with amputation and lymphadenectomy. **J Urol**, v. 156, n. 5, p. 1637-1642, 1996.

LOPES, A.; ROSSI, B. M. *et al.* Unreliability of modified inguinal lymphadenectomy for clinical staging of penile carcinoma. **Cancer**, v. 77, n. 10, p. 2099-2102, 1996.

LUCIA, M. S.; MILLER, G. J. Histopathology of malignant lesions of the pênis. **Urol Clin North Am**, v. 19, n. 2, p. 227-246, 1992.

MAICHE, A. G.; PYRHONEN, S. *et al.* Histological grading of squamous cell carcinoma of the pênis: a new scoring system. **Br J Urol**, v. 67, n. 5, p. 522-526, 1991.

MASSONE, F. **Anestesiologia Veterinária - Farmacologia e Técnicas**. 4ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, 326p.

MCCANCE, D. J.; KALACHE, A. *et al.* Human papillomavirus types 16 and 18 in carcinomas of the pênis from Brazil. **Int J Cancer**, v. 37, n. 1, p. 55-59, 1986.

MCDOUGAL, W. S. Carcinoma of the pênis: improved survival by early regional lymphadenectomy based on the histological grade and depth of invasion of the primary lesion. **J Urol**, v. 154, n. 4, p. 1364-1366, 1995.

MCDOUGAL, W. S. Advances in the treatment of carcinoma of the pênis. **Urology**, v. 66, n. 5 Suppl, p. 114-117, 2005.

MCDOUGAL, W. S. Preemptive lymphadenectomy markedly improves survival in patients with cancer of the pênis who harbor occult metastases. **J Urol**, v. 173, n. 3, p. 681, 2005.

MCDOUGAL, W. S.; KIRCHNER, F. K. JR., *et al.* Treatment of carcinoma of the pênis: the case for primary lymphadenectomy. **J Urol**, v. 136, n. 1, p. 38-41, 1986.

MCMASTERS, K. M.; REINTGEN, D. S. *et al.* Sentinel lymph node biopsy for melanoma: controversy despite widespread agreement. **J Clin Oncol**, v. 19, n. 11, p. 2851-2855, 2001.

MCMASTERS, K. M.; WONG, S. L. *et al.* Preoperative lymphoscintigraphy for breast cancer does not improve the ability to identify axillary sentinel lymph nodes. **Ann Surg**, v. 231, n. 5, p. 724-731, 2000.

MICHELMAN, F. A.; FILHO, A. C. *et al.* Verrucous carcinoma of the pênis treated with cryosurgery. **J Urol**, v. 168, n. 3, p. 1096-1097, 2002.

MISTRY, T.; JONES, R. W. *et al.* A 10-year retrospective audit of penile cancer management in the UK. **BJU Int**, v. 100, n. 6, p. 1277-1281, 2007.

MOBILIO, G.; FICARRA, V. Genital treatment of penile carcinoma. **Curr Opin Urol**, v. 11, n. 3, p. 299-304, 2001.

MORROW, M.; RADEMAKER, A. W. *et al.* Learning sentinel node biopsy: results of a prospective randomized trial of two techniques. **Surgery**, v. 126, n.4, p. 714-720; discussion 720-712, 1999.

MORTON, D. L.; COCHRAN, A. J. *et al.* Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial. **Ann Surg**, v. 242, n. 3, p. 302-311; discussion 311-303, 2005.

MORTON, D. L.; WEN, D. R. *et al.* Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. **Arch Surg**, v. 127, n. 4, p. 392-399, 1992.

MUIR, C. S.; NECTOUX, J. Epidemiology of cancer of the testis and pênis. **Natl Cancer Inst Monogr**, v. 53, p. 157-164, 1979.

ORNELLAS, A. A.; SEIXAS, A. L. *et al.* Analyses of 200 lymphadenectomies in patients with penile carcinoma. **J Urol**, v.146, n. 2, p. 330-332,1991.

ORNELLAS, A. A.; SEIXAS, A. L. *et al.* Surgical treatment of invasive squamous cell carcinoma of the pênis: retrospective analysis of 350 cases. **J Urol**, v. 151, n. 5, p. 1244-1249, 1994.

OZSAHIN, M.; JICHLINSKI, P. *et al.* Treatment of penile carcinoma: to cut or not to cut? **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 66, n. 3, p. 674-679, 2006.

PAOLI, J.; TERNESTEN BRATEL, A. *et al.* Penile intraepithelial neoplasia: results of photodynamic therapy. **Acta Derm Venereol**, v. 86, n. 5, p. 418-421, 2006.

PALKER T.J.; YANG, T.J. Identification and phycochemical characterization of a tumor-associated antigen from canine transmissible venereal sarcoma. **J Natl Cancer Inst**, v. 66, p. 779-87, 1981.

PERDONA, S.; AUTORINO, R. *et al.* Dynamic sentinel node biopsy in clinically node-negative penile cancer versus radical inguinal lymphadenectomy: a comparative study. **Urology**, v. 66, n. 6, p. 1282-1286, 2005.

PERINETTI, E.; CRANE, D. B. *et al.* Unreliability of sentinel lymph node biopsy for staging penile carcinoma. **J Urol**, v. 124, n. 5, p. 734-735, 1980.

PETTAWAY, C. A.; PISTERS, L. L. *et al.* Sentinel lymph node dissection for penile carcinoma: the M. D. Anderson Cancer Center experience. **J Urol**, v. 154, n. 6, p. 1999-2003, 1995.

PIJPERS, R.; BORGSTEIN, P. J. *et al.* Vital dye and radiolabelled colloids complement or alternative? **Recent Results Cancer Res**, v. 157, p. 130-137, 2000.

PINHEIRO, L. G. P. *et al.* Estudo experimental de linfonodo sentinela na mama da cadela com azul patente e Tecnécio Tc99m. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 18, n. 6, p. 514-516, 2003.

PINHEIRO, L. G. P. *et al.* Hemosiderin. A new marker for sentinel lymph node identification. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 24, n. 6, p. 432-436, 2009.

PIZZOCARO, G.; PIVA, L. *et al.* Up-to-date management of carcinoma of the pênis. **Eur Urol** v. 32, n. 1, p. 5-15, 1997.

PIZZOCARO, G.; PIVA, L. *et al.* Treatment of lymphatic metastasis of squamous cell carcinoma of the pênis: experience at the National Tumor Institute of Milan. **Arch Ital Urol Androl**, v. 68, n. 3, p. 169-172, 1996.

PLAUT, A.; KOHN-SPEYER, A. C. The Carcinogenic Action of Smegma. **Science**, v. 105, n. 2728, p. 391-392, 1947.

RAVI, R. Correlation between the extent of nodal involvement and survival following groin dissection for carcinoma of the pênis. **Br J Urol**, v. 72, n. 5 Pt 2, p 817-819, 1993.

RAVI, R. Morbidity following groin dissection for penile carcinoma. **Br J Urol**, v. 72, n. 6, p. 941-945, 1993.

REINTGEN, D.; CRUSE, C. W. *et al.* The orderly progression of melanoma nodal metastases. **Ann Surg**, v. 220, n.6, p. 759-767, 1994.

ROSE, B. R.; THOMPSON, C. H. *et al.* Prevalence and distribution of human papillomavirus type-16 DNA in pelvic lymph nodes of patients with cervical cancer and in women with no history of cervical abnormality. **Int J Cancer**, v. 52, n.2, p. 225-228, 1992.

SANCHEZ-ORTIZ, R. F.; PETTAWAY, C. A. Natural history, management, and surveillance of recurrent squamous cell penile carcinoma: a risk-based approach. **Urol Clin North Am**, v. 30, n. 4, p. 853-867, 2003.

SANTOS, D. E.; SILVA, D. T.; TOLEDO-PINTO, E. A.; LOT, R. F. E. Tumor Venéreo Transmissível (TVT): Revisão de Literatura. **Rev Cien Elet de Med Vet - ISSN**, Ano 4. n. 10, 2008.

SARKAR, F. H.; MILES, B. J. *et al.* Detection of human papillomavirus in squamous neoplasm of the pênis. **J Urol**, v. 147, n. 2, p. 389-392, 1992.

SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DA BAHIA (SESAB). Disponível em: <http://www.saude.ba.gov.br/portalsesab/index.php?option=com_content&view=article&id=169&catid=3&Itemid=18>. Acesso em: 02 nov. 2010.

SCHROEDER, T. L.; SENNELMANN, R. D. Squamous cell carcinoma in situ of the pênis successfully treated with imiquimod 5% cream. **J Am Acad Dermatol**, v. 46, n. 4, p. 545-548, 2002.

SHINDEL, A. W.; MANN, M. W. *et al.* Mohs micrographic surgery for penile cancer: management and long-term followup. **J Urol**, v. 178, n. 5, p. 1980-1985, 2007.

SINGH, I.; KHAITAN, A. Current trends in the management of carcinoma pênis a review. **Int Urol Nephrol**, v. 35, n. 2, p. 215-225, 2003.

SIOW, W. Y.; CHENG, C. Penile cancer: current challenges. **Can J Urol**, v. 12 Suppl 1, p. 18-23; discussion 97-18, 2005.

SLATON, J. W.; MORGENSTERN, N. *et al.* Tumor stage, vascular invasion and the percentage of poorly differentiated cancer: independent prognosticators for inguinal lymph node metastasis in penile squamous cancer. **J Urol**, v. 165, n. 4, p. 1138-1142, 2001.

SOBIN, L. H.; HERMANEK, P. *et al.* TNM classification of malignant tumors. A comparison between the new (1987) and the old editions. **Cancer**, v. 61, n. 11, p. 2310-2314, 1988.

SOLSONA, E.; IBORRA, I. *et al.* Prospective validation of the association of local tumor stage and grade as a predictive factor for occult lymph node micrometastasis in patients with penile carcinoma and clinically negative inguinal lymph nodes. **J Urol**, v. 165, n. 5, p. 1506-1509, 2001.

SPIESS, P. E.; HERNANDEZ, M. S. *et al.* Contemporary inguinal lymph node dissection: minimizing complications. **World J Urol**, v. 27, n. 2, p. 205-212, 2009.

SPIESS, P. E.; IZAWA, J. I. *et al.* Preoperative lymphoscintigraphy and dynamic sentinel node biopsy for staging penile cancer: results with pathological correlation. **J Urol**, v. 177, n. 6, p. 2157-2161, 2007.

TANIS, P. J.; LONT, A. P. *et al.* Dynamic sentinel node biopsy for penile cancer: reliability of a staging technique. **J Urol**, v. 168, n. 1, p. 76-80, 2002.

THEODORESCU, D.; RUSSO, P. *et al.* Outcomes of initial surveillance of invasive squamous cell carcinoma of the pênis and negative nodes. **J Urol**, v. 155, n. 5, p. 1626-1631, 1996.

TURNER, R. R.; OLLILA, D. W. *et al.* Histopathologic validation of the sentinel lymph node hypothesis for breast carcinoma. **Ann Surg**, v. 226, n. 3, p. 271-276; discussion 276-278, 1997.

VARGHESE, P.; MOSTAFA, A. *et al.* Methylene blue dye versus combined dye-radioactive tracer technique for sentinel lymph node localisation in early breast cancer. **Eur J Surg Oncol**, v. 33, n. 2, p. 147-152, 2007.

VERONESI, U.; PAGANELLI, G. *et al.* Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series. **J Natl Cancer Inst**, v. 91, n. 4, p. 368-373, 1999.

WADDINGTON, W. A.; KESHTGAR, M. R. *et al.* Radiation safety of the sentinel lymph node technique in breast cancer. **Eur J Nucl Med**, v. 27, n. 4, p. 377-391, 2000.

WALKER, J.; BLOSS, J. D. *et al.* Human papillomavirus genotype as a prognostic indicator in carcinoma of the uterine cervix. **Obstet Gynecol**, v. 74, n. 5, p. 781-785, 1989.

WESPES, E.; SIMON, J. *et al.* Cabanas approach: is sentinel node biopsy reliable for staging penile carcinoma? **Urology**, v. 28, n. 4, p. 278-279, 1986.

ZEIDMAN, I.; BUSS, J. M. Experimental studies on the spread of cancer in the lymphatic system. I. Effectiveness of the lymph node as a barrier to the passage of embolic tumor cells. **Cancer Res**, v. 14, n. 5, p. 403-405, 1954.

