



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

JOSÉ ULCIJARA AQUINO

**DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL PARA ESTUDO DO
LINFONODO SENTINELA DA VULVA DA CADELA**

Fortaleza
2011

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

A669d Aquino, José Ulcijara
Desenvolvimento de um modelo experimental para estudo do linfonodo sentinela da vulva da cadela / José Ulcijara Aquino. – 2011.
107 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde,
Departamento de Cirurgia, Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Fortaleza, 2011.
Área de Concentração: Comportamento Biocelular em Neoplasias
Orientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro

1. Lac Caninum. 2. Biópsia de Linfonodo Sentinela 3. Técnica de Diluição de Corante I. Título.

CDD 616.9943

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

JOSÉ ULCIJARA AQUINO

**DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL PARA ESTUDO DO
LINFONODO SENTINELA DA VULVA DA CADELA**

Tese submetida a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Cirúrgica da Universidade Federal do Ceará (UFC) como pré-requisito para obtenção do grau de Doutor em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Luíz Gonzaga Porto Pinheiro

Fortaleza

2011

JOSÉ ULCIJARA AQUINO

**DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL PARA ESTUDO DO
LINFONODO SENTINELA DA VULVA DA CADELA**

Tese submetida a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Cirúrgica da Universidade Federal do Ceará (UFC) como pré-requisito para obtenção do grau de Doutor em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Luíz Gonzaga Porto Pinheiro

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Orlando Jorge Martins Torres
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Gutemberg Fernandes de Araújo
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Sergio Botelho Guimarães
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Francisco das Chagas Medeiros
Universidade Federal do Ceará - UFC

DEDICATÓRIA

A minha mulher Norma Calvet Aquino pelo seu amor, carinho, amizade, paciência e seu incentivo constante neste experimento.

Aos meus filhos Lawrence Calvet Aquino, Candyce Calvet Aquino, Felipe Costa Nunes pelos seus incentivos e carinho.

A minha mãe pela suas orações.

Na vida...

Quando começamos a perceber que a nossa alma tem
pressa, precisamos colocar o foco no essencial:
a saúde integral, o dom divino maior.

e, firmemente, não perdermos tempo com as “franjas”
porque...

“O bom mesmo é ir a luta com determinação.

Abraçar a vida e viver com paixão, perder com classe e
vencer com ousadia. Porque o mundo pertence a quem
se atreve e a vida é muito para ser insignificante.”

Adaptação livre do pensamento de Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Gonzaga Porto Pinheiro meu orientador pela sua paciência, amizade, entusiasmo, inteligência, seu espírito de pesquisador e investigador do estudo da medicina, na cirurgia radioguiada para o linfonodo sentinela, minha eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos, coordenador do programa de Pós-Graduação em Cirurgia meus sinceros agradecimentos e pelos seus ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Francisco Sergio Pinheiro Regadas meus agradecimentos pelos seus ensinamentos.

Ao Prof^a. Dra. Lucia Libanez Bessa Campelo meus agradecimentos pela importante contribuição na qualificação desta tese.

Ao Prof. Dr. Sergio Botelho Guimarães pela importante contribuição na qualificação desta tese.

Ao Prof. Dr. Manuel Odorico de Moraes meus agradecimentos pelos seus ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Ronaldo A. Ribeiro meus agradecimentos pelos seus ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Luzmar Veras Rodrigues meus agradecimentos pelos seus ensinamentos.

A Bibliotecária Rosane Maria Costa, da Universidade Federal do Ceará, pela adequada normatização deste trabalho.

Aos companheiros de mestrado e tese no laboratório experimental Dr. Ricardo Torres de Melo e Dr. Paulo Henrique Valter de Aguiar pela convivência harmoniosa e companheirismo.

Aos funcionários do Grupo de Educação e Estudos Oncológicos (GEEON), Sra. Maria Rocilda Fonseca de Alencar (secretária), Sra. Maria Célia de Castro Araujo (secretária), Sra. Karine Bessa Porto Pinheiro Vasques (diretora financeiro do GEEON na época da pesquisa) e Prof^a do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCe), ao Sr. A. Aguiar e Silva (diretor tesoureiro).

Ao Prof. Dr. Silvio Gomes Monteiro meus agradecimentos pela orientação

das análise dos dados estatísticos da pesquisa.

Aos amigos Lidiane Farias de Oliveira Serra, Carlos Palhano Serra Neto e Joseana Antonia Souza pela presteza, orientação na normatização desta tese.

Aos veterinários Dra. Raissa Vasconcelos e Dr. Hugo Enrique Orsini Beserra pela avaliação do estado sanitário das cadelas e pela orientação dos procedimentos anestésicos.

Aos diretores e funcionários do Centro de Zoonose de Fortaleza pela disponibilização dos animais da nossa pesquisa.

Ao Dr. Julio Marcos Sousa Correa da Clinica Sonimagem de Fortaleza pela orientação e manipulação do material radioativo.

À secretaria do programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará Sra. Maria Luciene Vieira de Oliveira e a Sra. Magda Maria Gomes Fontenele (secretária de recepção) pela disponibilidade e empenho

DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL PARA ESTUDO DO LINFONODO SENTINELA DA VULVA DA CADELA

RESUMO

O câncer de vulva corresponde a aproximadamente 1% das neoplasias malignas da mulher e de 3% a 5% de tumores genitais femininos. 90% destes são carcinomas espinho-celulares, curáveis quando diagnosticado precocemente. O tratamento radical inclui o esvaziamento inguinal bilateral na maioria dos casos. Aproximadamente 30% das pacientes operáveis têm disseminação linfonodal, as 70% restantes têm mutilação desnecessária. A possibilidade de aplicar o conceito de linfonodo sentinela, na conservação dos linfonodos regionais da vulva, ainda não é consenso. O modelo experimental na vulva da cadela é um passo importante no reconhecimento das peculiaridades da drenagem linfática deste órgão pela similaridade com a drenagem em humanos. Este trabalho experimental, em modelo canino tem como objetivo apresentar o modelo para a pesquisa do linfonodo sentinela na vulva da cadela usando o Azul Patente e Fitato de Tecnécio; avaliar o Azul Patente como marcador do linfonodo sentinela da vulva da cadela; avaliar o Fitato de Tecnécio como marcador do linfonodo sentinela na vulva da cadela, comparar os métodos obtidos pelas duas técnicas. Foram utilizados nos procedimentos 25 cadelas, adultas, sadias, com peso variando entre 10 e 12kg. Injeção de 5 μ Cl de Tecnécio na região vulvar, com espera de 30'. Rastreamento com *probe* das regiões de drenagem vulvar, injeção de 0,5mL de azul patente na região vulvar, com espera de 15'. Definidos os pontos "quentes" com o *probe*, por incisões inguinais abordou-se o linfonodo, avaliando-se com o *probe* o linfonodo sentinela *in-vivo* e *ex-vivo*, anotando-se os valores; registrados os linfonodos corados e não corados com azul patente; comparados os dois métodos. Em 88% dos linfonodos houve presença da lateralidade, tal diferença foi significativa ($\chi^2 = 28.88$ e $p < 0,0001$). Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os lados direito e esquerdo, quanto à intercessão dos dois métodos. Os níveis de radiação detectados foram idênticos em ambos os lados ($p > 0,05$), também não foi verificada diferença significativa ($p > 0,05$) em ambos os lados, nas contagens *in vivo* e *ex vivo*, e no número de linfonodo corado com azul patente. O modelo experimental apresentado foi capaz de definir o linfonodo sentinela utilizando o Azul Patente e Tecnécio(^{99m}Tc). A identificação do linfonodo sentinela é exequível com Azul Patente no mapeamento da cadeia linfática; o mapeamento linfático com Tecnécio(^{99m}Tc), permite identificar com detalhes o sistema de drenagem linfática; não houve diferença significativa entre os dois métodos ($p = 1,0$), Azul Patente e Tecnécio(^{99m}Tc).

Palavras-chave: Cadela. Linfonodo Sentinela. Azul Patente, Tecnécio.

DEVELOPMENT OF AN EXPERIMENTAL MODEL FOR STUDING THE SENTINEL LYMPH NODE ON DOG'S FEMALE VULVA

ABSTRACT

Vulvar cancer responds almost to 1% of all malignant tumors of women, and also from 3 to 5% of female genital tumors. Most cases are curable when an early diagnose is done. The radical treatment includes removing the inguinal lymph nodes in both sides on the majority of the cases. Almost 30% of operable patients have it disseminated in lymph nodes. The other 70% of the patients will be unnecessarily mutilated. The possibility of applying the concepts of sentinel lymph node to maintain the vulva regional lymph nodes is not of general consensus yet. The experimental model of evaluation of sentinel lymph node in the vulva of dog females is an important step on knowing the characteristic of lymphatic drainage in humans. This experimental study, in canine model, has as the main objective to define an experimental model for searching the sentinel lymph node on the vulva of this animal using blue dye (azul patente) and Technetium phylate. Evaluate blue dye (azul patente) and Technetium phylate as the markers of sentinel lymph node on dog female y. Compare the two methods by both techniques. The procedures were applied in 25 adult, healthy and weighing between 10 and 12 kg dog females. Injection of Technetium (5uCi) in vulvae region and a waiting time of 30 minutes. Search with the *probe* the drainage vulvae regions, an injection of 0,5 ml of dye blue in vulvae region waiting for 15 minutes. The "hot" points were defined with the probe, them iguinal incisions to the lymph nodes, evaluating the sentinel lymph node in-vivo and ex-vivo, taking note of the values. Registered the colored and not colored lymph nodes with blue dye and comparing both methods. It was observed that 88% of sentinel lymph node were present considering the side and there was a significant difference (x^2 28.88 $p < 0,0001$). It was not observed any significant difference ($p > 0,05$) comparing right or left sides according to the intersection of booth methods, the level of detected radiation were the same in booth sides ($p > 0,05$), there was also not significant difference on booth sides ($p > 0,05$) counting in-vivo and e ex-vivo, and the numbers of lymph nodes colored in blue dye. The experimental model adopted in the sentinel lymph node in the dog's female vulvae is feasible, making it advantageous when combined Dye Blue and Technetium (^{99m}Tc). The identification of the sentinel lymph node is feasible mapping with Patent Blue in the vulvae of the dog's female; the lymphatic mapping with technetium (^{99m}Tc), identifies in detail the lymphatic drainage system.

There was no significant difference between the methods ($p = 1, 0$), Blue Dye. Technetium (^{99m}Tc).

Keywords: Dog Females. Sentinel lymph node. Blue Dye. Technetium.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição de frequência da radiação na transição cutânea mucosa da comissura vulvar da cadela após a injeção de Tecnécio	59
Tabela 2. Teste do qui-quadrado comparando os lados direito e esquerdo após a injeção de Tecnécio na transição cutânea mucosa da comissura vulvar da cadela	60
Tabela 3. Teste <i>t</i> de <i>student</i> pareado para comparação das médias da radiação na incisão inguinal, na contagem dos linfonodos <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i>	62
Tabela 4. Relação entre as técnicas da radiação do Tecnécio e o Azul Patente	62
Tabela 5. Correlação de Pearson das variáveis numéricas, radiações, regiões inguinais <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i>	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Posição da cadela imobilizada e anestesiada na calha cirúrgica	50
Figura 2 – Injeção de Tecnécio na comissura anterior transição cutânea mucosa da vulva da cadela.....	51
Figura 3 – Rastreamento com Probe da radiação na comissura da região vulvar	52
Figura 4 – Rastreamento com Probe dos sítios inguinais	52
Figura 5 – Injeção de Azul Patente na transição cutânea mucosa da comissura anterior da vulva da cadela.....	53
Figura 6 – Migração do Azul Patente e marcação do linfonodo	53
Figura 7 – Migração do Azul Patente, marcação e detecção do infonodo	54
Figura 8 – Incisão paralela na dobra do flanco das regiões inguinais.....	55
Figura 9 – Identificação do linfonodo corado com Azul Patente	55
Figura 10 – Identificação com Probe do linfonodo corado com o Azul Patente <i>in-vivo</i>	56
Figura 11 – Avaliação do linfonodo <i>ex-vivo</i> com Probe, identificação dos linfonodos corados ou não com Azul Patente e comparação entre os dois métodos	56
Figura 12 – Distribuição de frequência da radiação na transição cutânea mucosa da comissura vulvar da cadela após a injeção de Tecnécio	59
Figura 13 – Presença e ausência de linfonodo sentinela nas cadelas operadas	61
Figura 14 – Intercessão dos métodos Azul Patente e da radiação de Tecnécio nas regiões inguinais das cadelas	61
Figura 15 – Frequencia da intercessão dos métodos radiação do Tecnécio e Azul Patente.....	63

Figura 16 – Relação entre o peso das cadelas e a radiação na transição cutânea mucosa da comissura vulvar	64
Figura 17 – Relação entre as contagens <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i> – Lado direito	65
Figura 18 – Relação entre as contagens <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i> – Lado esquerdo	65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Fatores de risco e vias patogénicas para o carcinoma vulvar	17
1.2 Tratamento cirúrgico do câncer na vulva	18
1.3 Linfadenectomia inguinal e viabilidade	20
1.4 Indicações de biópsia de linfonodo sentinela em câncer vulvar	21
1.5 Disseminação linfática do carcinoma da vulva humana	21
1.6 Drenagem linfática da vulva da cadela	24
1.7 Linfonodo sentinela	24
1.8 Biópsia do linfonodo sentinela	28
1.9 Vantagens da técnica da biópsia do linfonodo sentinela	30
1.10 Linfocintilografia preoperatória	30
1.11 Detecção gama intraoperatória	33
1.12 Taxa de detecção do linfonodo sentinela	36
1.13 Mapeamento linfático com corante vital	37
1.13.1 Azul de Metileno	38
1.13.2 Azul Patente	39
1.14 Hemossiderina	40
1.15 Exame do linfonodo sentinela	41
2 OBJETIVO	45
2.1 Geral	45
2.2 Específicos	45
3 MÉTODO	47
4 RESULTADOS	59
5 DISCUSSÃO	67
6 CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS	77
APÊNDICE	90
ANEXO	105

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O câncer de vulva corresponde a menos de 1% das neoplasias malignas da mulher e a 3% a 5% dos tumores genitais femininos (COLEMAN; SANTOSO; 2000; VERDIANI; JULIATO; DERCHAIN, 1997). No entanto, os serviços capazes de compilar número substancial de casos, tornam o seu estudo, tratamento e evolução tarefas difíceis. A pequena casuística também faz com que a capacitação de pessoal, para lidar com esta neoplasia seja exígua e restrita a centros de oncologia ginecológica de grande porte. No caso de sobrevida, esta é dependente do estado patológico dos linfonodos da região inguinal.

O câncer de vulva possui alta taxa de curabilidade, quando diagnosticado em estado inicial. O principal fator de prognóstico é o *status* linfonodal, que vai influenciar significativamente na sobrevida das pacientes (HOMESLEY et al., 1991). O diagnóstico, na fase inicial, entretanto, ocorre em um percentual muito baixo das mulheres acometidas, pois, em geral elas buscam os serviços médicos tardiamente e os profissionais demoram em realizar os diagnósticos (DISAIA et al., 1989). Sobre a ausência de comprometimento e lesões não maiores que 2 cm estas tiveram uma sobrevida de 5 anos de 98%, enquanto as que apresentavam qualquer tamanho, e com 3 ou mais linfonodos unilaterais ou 2 ou mais bilaterais, tiveram uma taxa de sobrevida de 5 anos de 29%.

Green (1978), assinalava uma elevação de 8% do câncer de vulva e atribuía esse fato ao aumento da expectativa de vida da mulher. Na literatura, sua incidência varia entre 1 a 3 por 100.000 mulheres (DISAIA et al., 1993; RHODES, 1998).

Pesquisas realizadas nos Estados Unidos chegaram as seguintes estimativas: 3,9 mil mulheres tinham diagnóstico e provavelmente 920 morreriam de câncer em 2010. Entre 2003-2007, a idade mediana ao diagnóstico de câncer da vulva foi de 68 anos de idade, aproximadamente 0,2% foram diagnosticadas com idade inferior a 20 anos; 2,2% entre 20 e 34 anos; 8,0% entre 35 e 44 anos; 16,2% entre 45 e 54 anos; 17,8% entre 55 e 64 anos; 17,4% entre 65 e 74 anos; 24,0% entre 75 e 84 anos; 14,3% entre 85 anos. A taxa de mortalidade, ajustada pela idade, foi de 0,5 por 100.000 mulheres, por ano. Estes índices são baseados em pacientes que morreram no período de 2003-2007 no EUA, de acordo com o

Instituto Nacional do Câncer (NCI); Sistema Eletrônico de Edição de Revista (SEER); (STINCHCOMB, 2010).

Os tipos histológicos dos tumores da vulva estão reunidos em quatro grupos: tumores de origem epitelial, carcinomas que constituem mais de 90% de todos os tumores malignos da vulva; tumores de origem conjuntiva, sarcomas, tumores mistos, extremamente raros e tumores metastáticos, que podem se originar em várias partes do corpo, sendo que as mais encontradas são as do colo uterino, vagina, endométrio, melanomas da pele e coriocarcinomas (CALANDRA; SARMATINO, 1959). O melanoma de vulva aparece em cerca de 3% a 10% dos tumores malignos da vulva e sua ocorrência é maior em mulheres brancas, na quinta década, podendo crescer em áreas previamente pigmentadas ou não. No caso do melanoma ele é o segundo tipo mais comum de câncer vulvar, sendo geralmente encontrado nos pequenos lábios ou no clitóris.

Outro estudo multicêntrico seguido prospectivamente com pacientes acometidas de carcinomas epidermóide de vulva foi distribuído em 4 estádios. No estádios I 30%, II 30%, III 28% e IV 10%. Aquelas que não foram tratadas inicialmente por cirurgias, observou-se que a probabilidade de recorrência tumoral foi maior nos estádios III e IV (45% e 44%, respectivamente) em detrimento dos estádios menos avançado (HOPKINS et al., 1990).

Em estudo retrospectivo com mulheres na faixa etária média de 72 anos, acometidas de carcinoma epidermóide de vulva, distribuídas de acordo com o estadiamento da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) em IA 12%, IB 27%, II 34%, III 18%, IVA 9%, mas tratadas inicialmente por excisão ampla da lesão com margem de 1,0 cm, a taxa de recorrência da doença permaneceu em torno de 35%, o que demonstra concordância com os dados da literatura, onde se observa variação de 15 a 35% (PODRATZ et al., 1982; WOOLDERINK et al., 2006).

O nível da invasão e a espessura do tumor, convém ressaltar, são elementos essenciais para se determinar a evolução do melanoma. De igual modo a biópsia e a avaliação dos níveis de Clark, Breslow, confirmam o diagnóstico. Após a confirmação histopatológica da neoplasia deve-se estadiar o tumor de acordo com a FIGO que adota como critérios o tamanho do tumor, invasão das estruturas perineais, comprometimento linfonodal e metástase a distância (TNM) (PECORELLI, 2009). O prognóstico do melanoma de vulva é geralmente ruim, porém, CHUNG et al. (1975) referiram sobrevida a cinco anos de 100% no nível II, 40% no nível III e

20% no nível IV. Atualmente, o estadiamento dos tumores malignos da vulva é baseado mais na cirurgia do que nos aspectos clínicos.

A forma invasora da doença costuma ocorrer em mulheres após a menopausa, com idade acima de 50 anos, sendo que 50% se apresentam com 70 anos ou mais, no momento do diagnóstico (CANAVAN e COHEN, 2002). Entretanto, essa neoplasia pode acometer pacientes mais jovens, sendo descritas séries com 12% a 15% dos casos antes dos 45 anos (DISAIA et al., 1989). A disseminação da neoplasia invasora pode ocorrer nos tecidos adjacentes ao tumor primário, por embolização para linfonodos regionais, usualmente inguinais superficiais, profundos, eventualmente pélvicos e raramente pela via hematológica, atingindo pulmões, fígado e ossos (COLEMAN; SANTOSO, 2000; DE HULLU et. al., 2002).

1.1 Fatores de risco e vias patogênicas para o carcinoma vulvar

O risco de desenvolvimento do câncer vulvar relaciona-se aos aspectos comportamentais, reprodutivos, hormonais e genéticos. Fatores que aumentam este risco incluem outros carcinomas genitais, doenças inflamatórias crônicas vulvares, fumo, verrugas genitais e carcinomas vulvares incipientes, atualmente denominadas neoplasias intraepiteliais vulvares (NIV) (CRAMER et al., 1978; GOSLING et al., 1961; HENSON et al., 1990; PETERS et al., 1984; SEPPANEN et al., 2000; ZAINO et al., 1987). Dados obtidos durante os últimos vinte anos corroboram o conceito de que o carcinoma escamoso da vulva, ao contrário do cervical, origina-se a partir de pelo menos duas vias patogênicas (CRUM, 1992), uma consiste na infecção pelo papilomavírus humano, originando uma lesão precursora do carcinoma vulvar, a neoplasia intraepitelial vulvar, que em uma proporção de mulheres progride para o carcinoma invasivo. Na segunda os fatores de risco associados com o processo carcinogênico neste grupo incluem fatores imunológicos, idade e consumo de cigarros. Nitrosaminas específicas foram identificadas no muco do trato genital feminino há décadas. O outro caminho é menos conhecido, mas provavelmente requer o desenvolvimento de alterações em genes do hospedeiro, que se acumulam no epitélio escamoso vulvar. Nestes cenários estão as doenças inflamatórias vulvares como o líquen escleroso ou a hiperplasia epitelial, processo de envelhecimento e desenvolvimento de atipia citológica. Aproximadamente 30% dos carcinomas vulvares estão associados ao papilomavírus humano e às formas

clássicas de neoplasia intraepitelial vulvar. Outro terço de carcinomas vulvares desenvolve-se na ausência de lesões precursoras aparentes (LEIBOWITCH et al., 1990).

O papilomavírus (HPV) é considerado atualmente como um dos principais fatores de risco. As verrugas vulvares, conhecidas desde a antiguidade, chamadas de condiloma acuminado, cuja incidência vem aumentando rapidamente, são originadas pelo HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35. O HPV 6 e 11 são considerados de baixo grau ou não oncogênicos e responsáveis por mínima transformação maligna, já os demais HPV's citados, e principalmente o 16 e 18 são considerados de alto grau ou oncogênicos e responsáveis pela maioria das transformações malignas na vulva (ELCHALAL et al., 1995).

1.2 Tratamento cirúrgico do câncer na vulva

O tratamento do câncer da vulva é essencialmente cirúrgico. Segundo Di Saia; Creasman, (1989), no início do século as mulheres eram submetidas apenas à ressecção local. Taussing (1958), Way (1978) e Green (1978) foram responsáveis pela divulgação das técnicas cirúrgicas em monobloco, com retirada da vulva com amplas margens cirúrgicas além do tumor e das regiões inguinais, utilizando incisão única, com melhora de sobrevida de 20% para 80%.

Hoje, alguns autores contestam a necessidade da ressecção de toda a vulva e regiões inguinais (COLEMAN; SANTOSO, 2000; DISAIA; CREASMAN, 1989; MICHELETTI et al., 2002; DE HULLU; VAN DER ZEE, 2003). Assim, outros autores tentam descrever técnicas menos agressivas para a realização da dissecação linfonodal; Micheletti et al. (2002) recomendaram não estender a ressecção lateral além da espinha ilíaca anterior superior. Rouzier et al. (2003) sugeriram a preservação da fáscia lata e veia safena, enquanto De Hullu; Van Der Zee (2003) advogam pela retirada e congelação do linfonodo sentinela como técnica promissora de estadiamento.

O tratamento padrão instituído para o câncer de vulva, em estágio inicial, é o cirúrgico, constituído por excisão radical do tumor associado à linfadenectomia inguinofemoral (PODRATZ et al., 1983). Tal abordagem, apesar de se encontrar relacionada à significativa morbidade, demonstra bons resultados em termos de recorrência inguinal (as taxas de recorrência podem variar de 1% a 10%) (HACKER

et al., 1981; DE HULLU et al., 2002). Entretanto, somente um pequeno número de pacientes se beneficiará com a realização da linfadenectomia inguinfemoral, uma vez que apenas 25% a 35% apresentarão metástases para linfonodos (KATZ et al., 2003; BELL et al., 2000). Desta maneira, mais de 75% das pacientes estarão sendo desnecessariamente submetidas a procedimentos correlacionados a significativa morbidade, tais como linfedema de membros inferiores, infecção e erisipela (ROUZIER et al., 2003). Por conseguinte, técnicas não invasivas ou minimamente invasivas são desejáveis, com o intuito de acessar a possibilidade de metástases para linfonodos.

Revisando os diferentes aspectos do procedimento do linfonodo sentinela em câncer vulvar inicial, constataram que o tratamento padrão deve considerar a realização de uma ampla excisão local do tumor primário e linfadenectomia inguinfemoral, uma vez que a morbidade do tratamento é alta. Assim o procedimento do linfonodo sentinela favorece uma técnica para determinar o estado dos linfonodos regionais, com menor morbidade relacionada ao tratamento. Recentemente, um grande estudo multicêntrico observacional forneceu evidências indicando que, parece seguro omitir a linfadenectomia inguinfemoral, no caso de linfonodo sentinela negativo. Esta revisão foca os diferentes aspectos do linfonodo sentinela em câncer vulvar Oonk et al. (2010).

Na atualidade o tratamento preferencial da lesão primária não é mais a vulvectomy radical clássica e sim a cirurgia por duas ou três incisões (resseção do tumor primário com vulvectomy ou ressecção ampla associada a linfadenectomia realizada por outras incisões inguinais), pois apresenta menor morbidade da deiscência inguinal e melhor efeito estético e funcional. A vulvectomy radical (“asa de borboleta” e “long horn”) é baseada em princípios “Halstedianos” e tem altos índices de complicações (deiscência 50%, linfedema de 15%). Mas as pacientes submetidas a linfadenectomia inguinfemoral apresentam maior intervalo livre de doença e sobrevida. A pesquisa do linfonodo sentinela pela associação do Azul Patente e Tecnécio (^{99m}Tc), tem sensibilidade de 91 a 100% e especificidade de 98 a 100%, com grande acurácia como método de avaliação do estado linfonodal da respectiva cadeia, nos estádios Ec Ib e II, cujas lesões unifocais são menores que 4 cm. (Manual de condutas do Hospital A. C. Camargo, Departamento de Ginecologia, 2010).

Para Woelber et al. (2011) a cirurgia do tumor primário e inguinal

permanece sendo a pedra angular do tratamento do câncer vulvar, com uma forte tendência para uma abordagem menos radical na doença em estágio inicial. A vulvectomy completa foi substituída por excisão local radical com reconstrução e a técnica do linfonodo sentinela foi implementada, para evitar morbidade da dissecação inguinal completa, em pacientes com linfonodos negativos. As pacientes que apresentavam doença avançada, por enquanto as decisões de tratamento ainda são um desafio. Critérios não estão totalmente estabelecidos quanto à indicação e realização de quimioterapia, radioterapia, e ainda variam em diferentes países, e instituições, devido ao baixo nível de evidência. Estudos clínicos realizados por vários grupos de estudos em nível internacional são urgentemente necessários, para melhorar ainda mais a terapia.

1.3 Linfadenectomia inguinal e viabilidade

Douay-Hauser et al. (2008) avaliaram e revisaram a literatura, que trata da viabilidade e morbidade da biópsia do linfonodo sentinela em câncer de vulva. A linfadenectomia inguinal superficial e profunda do câncer vulvar é hoje reconhecida e a topografia do tumor vulvar irá determinar a necessidade de linfadenectomia unilateral ou bilateral, nos estádios T1-T2. Se o tumor é lateral de 1cm da linha média uma exploração unilateral é suficiente, pois os tumores têm um lado ipsilateral de drenagem (DE HULLU, 2006). Assim, com o seguimento médio de 5 anos em 84 pacientes com tumores laterais T1-T2 (ANDREWS et al., 1994), não encontraram metástases contralateral em pacientes que se submeteram a linfadenectomia inguinal bilateral e nenhum caso de recidiva de linfonodo contra lateral em 28 pacientes que se submeteram a linfadenectomia unilateral. No estudo de Van Der Velden, (1996) apenas 3,9% das pacientes tiveram uma metástase contralateral. No subgrupo de pacientes com lesões menores de 2 cm a porcentagem de metástases contralateral foi de 0,19%, já no estudo prospectivo de Stehman et al. (1992) a taxa subiu para 2,8%. Complicações da linfadenectomia inguinal foram, no seu início, reduzidas significativamente desde o abandono da técnica cirúrgica em monobloco, sendo substituída por incisões separadas para a vulvectomy.

Convém ressaltar que complicações da linfadenectomia inguinal são comuns, e muitas vezes até incapacitantes (DE HULLU, 2006; ANSINK et al., 1999; GOULD et al., 2001).

Para reduzir a morbidade da linfadenectomia alguns autores, como Di Saia et al. (1989) propõem reduzir a extensão da dissecação, sugerindo limitar a dissecação dos linfonodos inguinais superficiais, enquanto que os linfonodos femorais não seriam alcançados se os linfonodos superficiais estivessem livres. Kirby et al. (2005) encontraram uma taxa de recorrência de 4,6% inguinal e vulvares de 17% para dissecação superficial, mas com diminuição de linfedemas em 50%.

1.4 Indicações de biópsia de linfonodo sentinela em câncer vulvar

De Hullu e Van Der Zee, (2006) sugerem quatro critérios de elegibilidade para pesquisa do linfonodo sentinela: Carcinoma de células escamosas; T1B menor que 4cm (a fim de alcançar uma injeção peritumoral); não fixação dos linfonodos na região inguinal, este tipo de linfonodo pode, muitas vezes, não absorver o Tecnécio ou aumentar o risco de resultado falso negativo, que é o principal fator limitante na difusão desta técnica na rotina do câncer vulvar. Critérios radiológicos: ausência de linfadenopatia inguinal na tomografia computadorizada ou ressonância magnética antes da cirurgia.

Há autores que simplesmente restringem o processo do linfonodo sentinela predominantemente nos estágios T1 e T2 (LEVENBACK et al., 1994; SLIUTZ et al., 2002; DECESARE et al., 1997; CARCOPINO et al., 2005). No entanto, alguns deles têm aplicado este procedimento para estágios mais avançados. No estudo realizado por Moore et al. (2003), nove de vinte e um pacientes foram classificadas T3–T4 e Carcopino et al. (2005) apresentam uma série em que mais de 53% pacientes apresentaram estágio T3.

1.5 Disseminação linfática do carcinoma da vulva humana

O conhecimento da drenagem linfática desse órgão é fundamental para se compreender o tipo de cirurgia adequada para cada caso, uma vez que a vulva tem características de drenagem linfática peculiares. Diversos autores estudaram essas peculiaridades e encontraram um emaranhado de canais de drenagem linfática que cruzam a linha média, passando pelo monte de Vênus e fúrcula vaginal, atingindo linfonodos ínguinfemorais superficiais, profundos e pélvicos (DISAIA; CREASMAN., 1993; MONAGHAN, 1990; TAUSSIG, 1958; WAY, 1978). Portanto,

um tumor localizado na pele da vulva pode atingir qualquer um dos pontos de drenagem linfática citados anteriormente. A compreensão destes caminhos é de capital importância para o planejamento cirúrgico.

Segundo Hacker et al. (1998) o câncer vulvar dissemina-se pelas seguintes rotas:

1. Extensão direta, envolvendo estruturas adjacentes, como vagina, uretra e ânus;
2. Embolização linfática para os nódulos linfáticos;
3. Disseminação hematogênica distante como pulmão, fígado e ossos.

Metástases linfáticas podem ocorrer de forma precoce, mas no processo inicial a disseminação é frequente para os nódulos inguinais, que estão localizados entre a Fascia de Camper e Fascia Lata, da região inguinal para os nódulos femurais que seguem ao longo dos vasos femurais. O nódulo de Cloquet, situado abaixo do ligamento inguinal é o mais próximo do grupo femural. Metástases para os nódulos femurais, sem envolvimento dos nódulos inguinais também têm sido descritos (ANEXO A).

Da região ínguido-femural, o câncer dissemina-se para os nódulos da pelve, particularmente o grupo ilíaco-external. Estudos descrevem uma disseminação direta do clitóris e da glândula de Bartholin para os nódulos pélvicos, rotas que estão sendo clinicamente significantes.

Metástases dos nódulos pélvicos ocorrem em 9% dos casos, 20% das pacientes com nódulos positivos da virilha, tem também nódulos positivos na pelve. Com relação à metástase hematogênica, ela ocorre tardiamente, no curso do câncer vulvar.

De forma prática, para o planejamento cirúrgico a vulva é dividida em região central e lateral. A região central consiste em: clitóris, ligamento suspensor do clitóris, intróito vaginal e fúrcula vaginal. A região lateral em: pequenos e grandes lábios. Em se tratando de tumores localizados na região central eles podem drenar para região inguinal bilateralmente, enquanto que os laterais, drenam preferencialmente, para o lado onde está localizado o tumor. Nesse caso, dificilmente os linfonodos ínguiofemurais estarão comprometidos no lado contralateral ao tumor sem que o lado ipsilateral esteja comprometido. Diversos autores confirmaram esses dados, avaliando pacientes com tumores T1 e T2. Já os tumores localizados no clitóris ou fúrcula vaginal podem drenar para a região pélvica,

sem antes passar pela região inguinal. Isso gera um problema, quanto à realização ou não de se fazer linfadenectomia pélvica quando os tumores estão localizados nessa região. Porém, dificilmente são encontrados linfonodos pélvicos comprometidos, sem que linfonodos inguinais sejam positivos para carcinoma (MONAGHAN, 1990).

O câncer de vulva pode se disseminar a partir do sítio inicial por meio da invasão local de tecido adjacente ao tumor primário, por meio da embolização para linfonodos regionais, usualmente inguinais superficiais e profundos e eventualmente pélvicos e por via hematogênica, muito raramente, atingindo pulmões, fígado e ossos (DISAIA, 1989). A mais importante via de disseminação é a linfática, realizada por meio da embolização, sendo portanto fundamental o estudo histopatológico dos linfonodos regionais nos casos de tumores invasores. (ONNIS et al., 1992; ROSE, 1999). A região vulvar apresenta-se como principal local de recorrência para o câncer de vulva, apesar das recorrências inguinais se apresentarem mais precocemente e com pior prognóstico, quando comparadas às primeiras (HOPKINS et al., 1990).

Metástases linfáticas sempre foram foco de interesse para os cirurgiões, pois são uma das rotas, em primeiro lugar, de propagação de muitos tumores e, porque mostram o nível de propagação. A condição das rotas linfáticas tem vital importância para o planejamento e a gestão de tratamento de muitos cânceres (AYHAN et al., 2008).

A disseminação linfática para a região inguinal é frequentemente acometida em 10-26% das pacientes com carcinoma confinado à vulva. Entretanto, a avaliação clínica e métodos de imagem para pesquisa de comprometimento linfonodal apresentam baixo valor preditivo; somando-se ao fato de que a linfadenectomia é acompanhada de altos índices de morbidade e que mais de 70% das pacientes com estágio I são submetidas desnecessariamente ao procedimento. Desse modo, tem-se consolidado o emprego do linfonodo sentinela, determinando com acurácia o estado linfonodal e triando as pacientes que devam ser submetidas à linfadenectomia, diminuindo a morbidade do tratamento do câncer da vulva. Puig-Tintoré et al. (2003), relatando a experiência da Universidade de Barcelona com uso do linfonodo sentinela em 26 pacientes portadoras de carcinoma vulvar relatam 30% de metástase linfonodal, obtendo valor preditivo negativo de 100%.

1.6 Drenagem linfática da vulva da cadela

Os linfonodos inguinais superficiais na cadela são chamados linfonodos mamários por drenar a área dos pares mamários caudais (ANEXO B). 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, pois seus tamanhos variam de 0,5 a 2 cm. Os vasos linfáticos aferentes da pele e tecido conjuntivo subcutâneo das áreas abdominal e pélvica e membro posterior correspondem àqueles descritos para o macho. Na fêmea, entretanto, os vasos linfáticos são também da vulva, do clitóris e das últimas (caudais) três (até cinco) glândulas mamárias. Eferentes seguem os vasos pudendos externos e terminam nos linfonodos ilíacos mediais. (GETTY, 1975).

1.7 Linfonodo sentinela

O primeiro registro que descreve a existência dos linfáticos é de Bartholin em 1653. Posteriormente, muitos outros investigadores tentaram elucidar o complexo sistema linfático. Virchow (apud HASLTED, 1894), no século XIX, formulou a teoria de que os linfonodos funcionam como filtro das partículas sólidas presentes na linfa. Esse importante conceito levantou a possibilidade de que um câncer poderia ser tratado em seu estado inicial e fez com que Haslted (1894), no final do século XIX, planejasse a mastectomia radical.

Contudo, o modelo de Haslted, ou seja, o tratamento cirúrgico radical em bloco, como princípio fundamental do tratamento oncológico, perdeu força, em 1960, quando foi reintroduzida a teoria sistêmica. O envolvimento linfonodal tornava a ser encarado como um fator prognóstico para doenças sistêmicas, e não mais como um fator terapêutico (HELLMAN, 1994).

Filogeneticamente, os vasos linfáticos são veias modificadas. Histologicamente, os capilares linfáticos são altamente permeáveis às macromoléculas. A principal função dos vasos linfáticos parece ser a remoção destas macromoléculas. Os linfáticos maiores possuem paredes com músculo liso e válvulas endoteliais que permitem que o fluxo siga somente em uma direção central. Os linfonodos estão interpostos no trajeto dos vasos linfáticos maiores e exercem

uma função filtrativa, fagocítica e imunológica. O fluxo linfático total que penetra nas veias subclávias dos humanos, diariamente é de 2 a 4 litros e contém 75 a 200g de proteína. A obstrução venosa, a vasodilatação, o exercício muscular e o aumento da permeabilidade capilar, todos esses fatores colaboraram com a taxa de fluxo linfático (GOLDSTONE, 1991).

Os capilares linfáticos formam um plexo superficial na superfície da derme, na sua porção profunda. E, nas extremidades, um plexo subfascial dentro dos compartimentos musculares. Normalmente, o líquido tissular coletado pelos linfáticos da derme drenam para os linfáticos subcutâneos que acompanham as veias superficiais e drenam para o interior dos gânglios linfáticos regionais. Os maiores canais linfáticos tendem a acompanhar os maiores vasos sanguíneos. Assim como as veias, a contração ativa ou passiva dos músculos esqueléticos exerce um importante papel no movimento da linfa, e as válvulas linfáticas determinam a direção do fluxo (GOLDSTONE, 1991).

A primeira descrição do linfonodo sentinela foi publicada por Gould em 1960. Em seu artigo relatava a descoberta de um nódulo de aparência normal visualizada na junção das fâscias posterior e anterior de uma veia, na realização de uma paratireoidectomia em 1951 (WINSHIPT et al., 1960). Esse nódulo foi enviado para exame histológico de congelação, sendo descrito como “linfonodo com tumor metastático”. Isso fez com que a equipe cirúrgica procedesse à dissecação cervical radical nesses tipos de cirurgia.

Fisher e Fisher (1967), demonstraram que apenas 40% das células carcinomatosas marcadas eram retidas pelos linfonodos das cobaias, sendo que o restante acabava passando para a circulação sistêmica. Esse fato foi explicado pela presença de uma comunicação entre a circulação linfática e a venosa, apesar de ainda ser controversa. A ineficácia da barreira linfonodal parece não ser concordante com o fato de que, quando se comparam pacientes com linfonodos regionais positivos com outros com linfonodos negativos, o prognóstico no primeiro grupo é muito pior. Para explicar isso, acredita-se que as células que atravessam os linfonodos sejam mais facilmente destruídas, enquanto aquelas que permanecem nos linfonodos têm um maior potencial em formar um novo tumor.

Morton et al. (1992) utilizaram um corante vital para identificar o trajeto linfático cujo estudo anatomopatológico era feito por congelação. A essa técnica foram sendo acrescentados refinamentos, tais como a aplicação da linfocintilografia

preoperatória, a aplicação do gamma-probe manual para aumentar a exatidão na identificação do linfonodo sentinela, marcado por cintilografia e a adequada análise anátomo-patológica do mesmo – com cortes semi-seriados à hematoxilina-eosina – e a complementação com técnicas imuno-histoquímicas, tais como S-100 e HMB-45, quando necessárias. Como toda técnica inovadora, é necessário cautela na sua condução e aplicabilidade, pois seu uso inadequado poderá levar a insucessos – tanto pelo aspecto falso negativo como pelo falso positivo.

O mapeamento dos linfonodos foi observado, de maneira fortuita, pela primeira vez, durante uma cirurgia feita por Braithwaite (apud KRAG, 1998). Este cirurgião, ao operar um paciente com apendicite aguda, encontrou os linfonodos íleo-cecais escurecidos e os canais linfáticos, provenientes destes, corados da mesma forma, permitindo a visualização direta da drenagem linfática, que se direcionava ao duodeno e à artéria mesentérica superior, até os linfonodos da grande curvatura do estômago e próximos ao piloro que também se encontravam escurecidos. Sua conclusão foi que o quadro infeccioso deveria seguir esta mesma trajetória traçada pelos canais linfáticos. Durante muitos anos, estimulado por estas observações preliminares, estudou a anatomia e a fisiologia da drenagem linfática. Injetou corante vital em gatos e, posteriormente, em seres humanos demonstrando, assim, os vários caminhos da circulação linfática. Definiu os linfonodos, no seu sítio de drenagem, como “glândulas sentinelas”.

Krag (1998) pesquisou, na década de 30, a anatomia e a fisiologia do sistema linfático, utilizando a linfografia indireta através da injeção de dióxido de tório coloidal em espécimes cirúrgicos frescos. Entre os resultados dos seus diversos estudos, particularmente relevantes para o conceito do linfonodo sentinela, foi observado que alguns linfonodos focais poderiam ser os primeiros e mais frequentes sítios de comprometimento linfonodal por metástases. Nas décadas de 50 e 60, diversos estudos linfáticos foram realizados em animais e em seres humanos, com a aplicação de corantes vitais e linfografias, isolados ou em combinação, em tumores gastrointestinais, pulmão, testículo, pênis e mama. Os seus resultados levaram a conclusões semelhantes de que a drenagem linfática tumoral se dirigia para um limitado número de linfonodos específicos, denominados primários ou secundários, conforme a relação de proximidade com os tumores. Houve um reconhecimento também da existência de variações individuais nesta circulação, que poderiam ter implicações práticas importantes na cirurgia oncológica, já que estas deveriam ser

bem evidenciadas e ressecadas na sua totalidade, na tentativa de diminuir as recorrências locais.

O valor prognóstico do estudo do linfonodo sentinela é ressaltado por Leong (1998); Ross (1997); Gershenwald et al. (1999). Em análise multivariada, o linfonodo sentinela foi considerado o mais importante fator prognóstico, influenciando a sobrevida livre de doença em portadores de melanoma estádios I e II com acompanhamento médio de 20 meses e taxa de falso negativo menor que um por cento. O mapeamento linfático e a biópsia de linfonodo sentinela são de alta eficiência para estadiar bases linfonodais de risco para metástases regionais e para identificar aqueles que podem beneficiar-se de linfadenectomia precoce. O estudo anátomo-patológico do linfonodo sentinela em pacientes com linfonodo clinicamente negativo é o fator prognóstico mais importante em relação à recorrência e é tido como critério para a seleção de pacientes para tratamento adjuvante, conforme Gershenwald et al. (1999).

Oliveira Filho et al. (2000) concluíram que a experiência corrobora os dados da literatura que informa ser a biópsia de linfonodo sentinela uma técnica reproduzível, e os resultados de encontro do linfonodo sentinela e de falso-negativo estão dentro do esperado, porém é preciso destacar que se trata de procedimento de natureza ainda investigativa. Os resultados a longo prazo, comparando a interferência desse procedimento na recorrência e sobrevida dos pacientes, não eram totalmente conhecidos.

Conceitua-se linfonodo sentinela aquele situado em uma cadeia linfática por onde é inicialmente drenado a linfa a partir do sítio anatômico primário. Supõe-se que esse linfonodo seja o primeiro a ser envolvido por metástases do tumor, admitindo-se que a disseminação das células tumorais, por intermédio dos linfonodos, ocorra de modo regular e progressivo; isto é, inicia-se nos linfonodos do primeiro nível, estendendo-se em direção aos níveis subsequentes, sendo raro o salto de nível (skip), que corresponde, segundo as casuísticas, a 2% dos casos (ZERWES, 2000). Apresentando a propriedade de predizer a situação do restante da cadeia linfática responsável pela drenagem do tecido ou órgão acometido, ou seja, caso o linfonodo sentinela não apresente células malignas, a chance do restante da cadeia linfática estar comprometida é quase nula, não sendo mais necessárias cirurgias de esvaziamento linfonodal, minimizando os riscos e complicações inerentes a maior complexidade do procedimento. Na situação inversa, caso o

primeiro linfonodo esteja comprometido por células cancerosas, a probabilidade do restante dos linfonodos estarem acometidos é significativa, devendo-se então proceder a uma cirurgia de esvaziamento linfodonal, e, na maioria das vezes, tratamento sistêmico.

Para Kanishka Karunaratne (2011) o linfonodo sentinela é atualmente a ferramenta de diagnóstico promissor para avaliação do estado linfodonal inguinal em câncer de vulva, e o radiomarcador colóide, em conjunto com corante, é usado para detecção do linfonodo sentinela. O objetivo da biópsia do Linfonodo Sentinela é estabelecer a presença de metástase inguinal, reduzindo a necessidade de linfadenectomia radical. *The Sentinel Internacional Sociedade* tem recomendado biópsia do linfonodo sentinela em apenas pacientes com tumores menores do que 4 cm, pois a biópsia do linfonodo sentinela deve ser adequadamente validada em ensaios clínicos prospectivos. O resultado do estudo do Grupo de Oncologia Ginecológica (GOG – 173), que estuda o mapeamento linfático intraoperatório em pacientes com carcinoma de células escamosas invasivo em câncer de vulva, trará informações mais condizentes.

1.8 Biópsia do linfonodo sentinela

A biópsia do primeiro linfonodo proveniente do tumor primário, como método diagnóstico de auxílio na decisão intraoperatória para prosseguimento do esvaziamento linfático radical em cirurgia oncológica foi aplicada, pela primeira vez, no Washington Hospital Center, por Gould et al. (1960). Estes autores propuseram a excisão de rotina deste linfonodo, já denominado por eles como sentinela, durante a parotidectomia total para tratamento do tumor misto, recorrente de parótida. Em seguida, definiram o local deste linfonodo na junção da veia facial anterior e posterior. O exame anatomopatológico de congelação serviria como parâmetro para decidir, durante o mesmo ato cirúrgico.

Cabanas (1977) em seu trabalho envolveu 250 linfografias, realizadas entre 1965 e 1968, com vários tipos de tumores, incluindo os de pênis, testículo, mama, melanoma, ânus, reto e linfomas. Entretanto, foi principalmente nos casos de câncer de pênis, onde observou que, quando o contraste 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 ele denominou como linfonodo sentinela. Com isso, recomendou que fosse realizada a biópsia das regiões inguinais e caso houvesse comprometimento destes linfonodos por metástases, é que se deveria prosseguir com o esvaziamento inguinal radical. 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 biópsia de linfonodo sentinela representa um dos mais importantes avanços da cirurgia oncológica, inscrevendo-se no conceito de diminuir a agressividade cirúrgica sem perder a curabilidade. Bem estabelecida para a abordagem do melanoma cutâneo localizado, certamente será aplicável para outros tumores de disseminação inicial preferencialmente por via linfática, como o carcinoma de mama e os carcinomas de cabeça e pescoço, pênis e vulva. (OLIVEIRA-FILHO et al., 1997).

A técnica de biópsia de linfonodo sentinela em câncer de vulva utilizando-se o ^{99m}Tc -fitato na cirurgia radio-guiada é factível. O ^{99m}Tc -fitato, assim como para o câncer de mama e o melanoma cutâneo, parece ser o radiotraçador de excelência para a biópsia de linfonodo sentinela no câncer de vulva. Para que se obtenha maior acurácia com a técnica é necessário uma equipe cirúrgica experiente no método, além do estudo do linfonodo sentinela quanto à presença de micrometástases pelo hematoxilinaeozina e imunohistoquímica, e ainda o uso do azul patente associado. Uma vez avaliado o conceito de linfonodo sentinela em cânceres de vulva, a abordagem cirúrgica menos agressiva poderá evitar a grande morbidade de dissecação linfonodal inguinofemoral (DE HULLU, 2000). O fator de crucial importância na realização do linfonodo sentinela é o índice de falsos-negativos (proporção de pacientes, com metástases que, incorretamente, têm linfonodo sentinela negativo).

1.9 Vantagens da técnica da biópsia do linfonodo sentinela

O uso adequado da técnica de biópsia de Linfonodo Sentinela, também chamada de Linfadenectomia seletiva, traz as seguintes vantagens:

- uma biópsia de linfonodo sentinela negativa reduzirá a extensão, custo e morbidade de uma possível linfadenectomia eletiva;
- a remoção de um linfonodo sentinela positivo, seguida de uma dissecação completa, proverá melhor controle loco-regional;
- poderão ser selecionados pacientes candidatos às terapias adjuvantes, com o encontro do Linfonodo Sentinela positivo;
- melhor estadiamento do paciente;
- considerável benefício psicológico será oferecido ao paciente com Linfonodo Sentinela negativo - visto que a chance de doença metastática loco-regional é reduzida. (MORTON, 1998)

1.10 Linfocintilografia preoperatória

Os corantes orgânicos injetados na pele são rapidamente capturados pelos linfáticos subdérmicos ou dérmicos superficiais, os quais então podem ser facilmente reconhecidos por sua cor. Isto permite a canulação dos linfáticos e a injeção dos meios de contraste radiopacos. As radiografias (linfangiogramas) revelam linfáticos normais como vasos delgados, de diâmetro uniforme que se ramificam à medida que avançam centralmente. A linfangiografia não é tão praticada quanto a arteriografia ou a venografia, pois a técnica é difícil e as complicações são relativamente frequentes. Todavia, ela é frequentemente útil para a identificação da causa do edema crônico da extremidade inferior, e pode diferenciar o linfedema primário do secundário. A linfangiografia também pode ser usada para detectar os nódulos linfáticos anormais no mediastino ou retroperitônio, na avaliação de pacientes com linfomas. Como o meio de contraste usado para a linfangiografia pode produzir uma barreira temporária de difusão, ao atingir os pulmões, é aconselhável fazer o teste preliminar da função pulmonar, de modo que a linfangiografia possa ser evitada em pacientes com insuficiência pulmonar significativa (WAY, 1978).

A linfocintilografia envolve a injeção de uma pequena quantidade de

colóide tiosulfato de antimônio marcado com Tecnécio(^{99m}Tc) no segundo espaço interdígital, obtendo-se então a imagem da extremidade através de uma câmera de raios gama, cujo o transporte normal e retardado da linfa podem ser determinados. A interpretação visual do padrão de imagem da anatomia linfática, juntamente com a estimativa do tempo de aparecimento do colóide nos nódulos linfáticos regionais, mostra se o sistema linfático está normal ou não. Pacientes com edema devido à insuficiência venosa crônica apresentam o transporte linfático normal ou aumentado, enquanto no linfedema os padrões estão anormais. Este método é simples, não possui efeitos colaterais adversos e pode ser realizado sem internação (WAY, 1978).

Na linfocintilografia são injetadas partículas radioativas em volta do tumor/cicatriz para identificar os linfonodos que têm drenagem aferente daquele tumor. A linfocintilografia preoperatória (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% da população de pacientes. A LPO tem se mostrado indispensável em prever as regiões linfáticas de risco para micrometástase em pacientes portadores de melanoma cutâneo. (NORMAN; CRUSE; EPINOSA, 1991; KRAG et al., 1995; JANSEN et al., 2000). A LPO serve como um mapa para o planejamento do cirurgião considerando que ele: identifica todas as regiões linfáticas de risco para doença metastática; identifica metástase em trânsito que passa a ser linfonodo sentinela; mostra a localização do linfonodo sentinela dentro da região linfática; indica o número de linfonodos sentinelas envolvidos naquela drenagem que devem ser retirados. Com relação ao radiofármaco, o isótopo 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, é de fácil disponibilidade e de baixo custo. Como fármaco, várias substâncias são utilizadas, como a albumina humana, enxofre coloidal, fitato e dextran. Em nosso meio o dextran 500, um políssacarídeo de alto peso molecular com diâmetro de 20 nm, é o mais utilizado. Não há reações adversas descritas consequentes ao seu uso, ele é fornecido comercialmente na forma estéril e apirogênica pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares -São Paulo (IPEN-SP) para uso médico.

Segundo Norman et al. (1991); Krag et. al. (1995); Jansen et al. (2000), outro fármaco que vem sendo usado em nosso meio com bons resultados é o fitato. Aparentemente, ele fica mais tempo retido no linfonodo sentinela. Quanto à técnica uma dose de 250 μ Ci do radiofármaco é administrada intradermicamente 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 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 e verificada a migração do radioindicador para os linfonodos, a projeção destes é marcada na superfície da pele do paciente e imagens tardias de cerca de 2 horas são realizadas para se certificar da não migração para outra região linfática, notadamente para os melanomas de tronco, cabeça e pescoço. A qualidade do filme final registrador do exame depende das câmaras de cintilação e equipamentos de processamento computadorizado utilizados (BOXEN; MACCREADY; BALLINGER, 1999).

Lima et al. (1999), em seus resumos sobre contribuição no estadiamento do melanoma de vulva concluíram que a medicina nuclear, através de métodos não invasivos e acessíveis, contribui para o estadiamento desse tipo de patologia ao diminuir a agressividade cirúrgica, contribuindo assim, para melhor qualidade de vida da paciente em todos os aspectos.

As glândulas mamárias de cadelas, de acordo com Pereira (2005), ainda são uns dos principais órgãos acometidos por neoplasias. A linfocintilografia foi utilizada para caracterização topológica e funcional *in vivo* da drenagem linfática de glândulas mamárias sadias de 30 fêmeas da espécie canina (*Canis familiares*), sem raça definida e peso aproximado de 10Kg. O radiofármaco [99m Tc]-dextran70 foi administrado por via intraparenquimatosa mamária em quatro pontos ao redor da papila (0,1ml cada), na dose de 18,5 MBq. As imagens foram obtidas em duas sequências de projeções laterais e ventrais, sendo uma logo após a administração do [99m Tc]-dextran70 e a outra após uma hora. O radiofármaco administrado nas glândulas mamárias torácicas craniais foi drenado pelos linfocentros torácico ventral e axilar, sendo que em duas destas 5 glândulas (40%) o radiofármaco também teve aplicação para o linfocentro cervical superficial. Este resultado foi semelhante para as glândulas torácicas caudais. Entretanto, em nenhuma das linfocintilografias

destas glândulas o linfocentro cervical superficial pôde ser identificado. A drenagem das glândulas abdominais craniais realizou-se exclusivamente pelo linfocentro axilar.

Para Pereira (2005) os linfocentros inguinais superficial e profundo drenaram as glândulas abdominais caudais e inguinais, porém, uma das glândulas abdominais caudais foi drenada também pelo linfocentro cervical superficial e outra pelo linfocentro mediastínico. A técnica linfocintilográfica utilizada possibilitou a identificação de comunicações linfáticas entre os linfonodos axilares próprio e acessório, entre o axilar próprio e o cervical superficial e entre os linfonodos inguinais superficial e profundo. O número de linfocentros e linfonodos, a taxa de drenagem dos linfocentros e seu funcionamento variaram entre as glândulas mamárias e entre os animais. Em conclusão, o protocolo de aquisição linfocintilográfica adotado foi simples, rápido e eficaz para a caracterização da drenagem linfática mamária. As informações topológicas e funcionais obtidas neste estudo poderão ser aplicadas nos procedimentos investigativos como a ultrasonografia e a biópsia dos linfonodos em pacientes acometidos por neoplasias, uma vez que os vasos linfáticos representam vias de disseminação para células neoplásicas.

Segundo Sinzinger et al. (2008) após a pesquisa do câncer de pênis, a imagem do linfonodo sentinela é cada vez mais aplicada nos diversos tipos de câncer. Após a fase de aprendizagem, 105 pacientes de câncer vulvar foram investigadas com a sonda portátil e durante o exame nenhum linfonodo sentinela falso negativo foi observado. A questão mais crítica é a aplicação do traçador, pois, se realizada por via intradérmica, o linfonodo surge imediatamente e o corante *isosulfan blue* não melhora os resultados, por isso seu uso foi abandonado. Contudo, não foram observados resultado falso negativos. Aparentemente, uma detecção de aproximadamente 100% é possível; mostrando claramente que a administração do traçador é um ponto chave para uma imagem com qualidade, mas se não for feita corretamente, o linfonodo pode aparecer tardiamente ou pode até ser perdido.

1.11 Detecção gama intraoperatória

As técnicas de administração do radioindicador são as mesmas descritas para o procedimento de linfocintilografia preoperatória. 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, eles são aferidos pelo detector portátil de radiação. O leito operatório é novamente rastreado pelo detector em busca de mais linfonodos concentrantes, e só então a ferida operatória é fechada, procedendo-se ao tratamento do sítio primário (HOFFMAN et. al., 1999).

A detecção gama intraoperatória permite melhor localização do linfonodo sentinela com menos dissecação, tornando possível a realização do procedimento sob anestesia local. A biópsia do linfonodo sentinela propriamente dita é realizada utilizando-se o mapeamento linfático com corante vital e/ou a detecção gama intraoperatória. Os dois procedimentos são complementares e devem ser usados, sempre que possível, para aumentar as chances de encontro do linfonodo sentinela (PIJPERS, 2000).

A detecção gama intraoperatória permite melhor localização, menos dissecação, e aumenta as chances de se encontrar o linfonodo sentinela. Além disto, a relação da medida da captação do linfonodo sentinela com a do fundo confirma ou não o diagnóstico deste. No protocolo, a leitura do linfonodo sentinela deve ser pelo menos 3 vezes maior do que a do fundo "*in vivo*" e pelo menos 10 vezes maior *ex vivo* (OLIVEIRA-FILHO, 1997). Após a retirada do linfonodo sentinela, realiza-se a leitura do leito operatório, devendo-se encontrar queda acentuada da captação pela sonda. Se houver captação acima de 50% do linfonodo sentinela retirado, deve-se prosseguir a dissecação à procura de outro linfonodo sentinela. Após lavagem com soro fisiológico e fechamento do local onde foi retirado o linfonodo sentinela (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 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.

No que diz respeito ao pessoal radioexposto, as misturas radioprotectoras são obrigatórias durante a injeção do radiofármaco e devem ser efetuadas nos locais reservados à Medicina Nuclear. Para os cirurgiões, a

linfocintilografia e a cirurgia radioguiada não comportam riscos: estima-se que para cada cem cirurgias a dose média absorvida pelas mãos do cirurgião equivale, no máximo, a 10% dos limites da dose anual recomendada pela Comissão Internacional pela Radioproteção (ICRP, 1991).

A segurança com o uso de radiocolóides na biópsia do linfonodo sentinela 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). Quanto à contaminação radioativa da sala de operação e materiais consideram-se mínimas e não requerem manejo e procedimentos especiais (FILIPPAKIS; ZOGRAFOS, 2007).

O emprego das técnicas combinadas, corante e radiofármaco, para identificação do linfonodo sentinela melhorou a taxa de identificação e diminuiu a taxa de falsos negativos na biópsia do linfonodo sentinela (CSERNI et al., 2002; GOYAL et al., 2006). Alguns autores usam as duas técnicas como complementares na biópsia do linfonodo sentinela (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 biópsia do linfonodo sentinela (CODY et al., 2001).

Há trabalhos que mostram a superioridade dos métodos combinados, quando utilizados a técnicas isoladas. A combinação das duas técnicas, comparadas ao corante isolado, permite um aumento nas taxas de identificação do linfonodo sentinela 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 linfonodo sentinela e diminui a curva de aprendizado nos centros de treinamentos. Atualmente é a técnica preferida pelos cirurgiões na pesquisa de linfonodo sentinela (GUILIANO et al., 2000; MCMASTERS et al., 2000; DEROSSIS et al., 2001; VERONESI et al., 2002).

A utilização da Detecção Gama Intra-operatória (DGI) já está bem estabelecida para a identificação de linfonodo sentinela em melanoma (ALEX; KRAG, 1993; KAPTEIJN et al., 1997; KRAG et al., 1995; MARIANI et al., 2002) e em câncer de mama (KAPTEIJN et al., 1998; KRAG et al., 1993; MARIANI et al., 2001). Ela também está sendo estudada em outros tumores, incluindo carcinomas de vulva (LEVENBACK et al., 2001; ALEX et al., 1993; BILCHIK et al., 1998), de cabeça e pescoço (ALEX; KRAG, 1996), sendo considerada atualmente, como essencial e indispensável para o procedimento de biópsia do linfonodo sentinela. Além da alta sensibilidade para detecção dos linfonodos, a Detecção Gama Intraoperatória torna o procedimento de biópsia do linfonodo sentinela menos invasivo.

1.12 Taxa de detecção do linfonodo sentinela

A alta detecção do linfonodo sentinela é um pré-requisito para recomendar esta técnica na prática clínica em câncer de vulva. Inicialmente a detecção da técnica do linfonodo sentinela foi feita por injeção peritumoral, com Azul Patente isolado. Esta técnica apresenta suas vantagens, como baixo custo, mas as taxas de detecção são baixas tanto que com, 56 a 75% dos linfonodos detectados na região inguinal (ANSINK et al., 1999; LEVENBACK et al., 2001), foi adicionado injeção preoperatória de Tecnécio(^{99m}Tc) associados à linfocintilografia preoperatória para aumentar as taxas de detecção. Quando combinada, essa técnica torna possível a obtenção de taxa de detecção de 88 a 100%.

Poucos estudos diferenciam a taxa de detecção, dependendo da localização do tumor a partir da linha média vulvar. Algumas equipes também só exploram a fixação inguinal na linfocintilografia, independente da localização do tumor em relação à linha média. Nestes casos, as taxas de detecção são elevadas (CARCOPINO et al., 2005, TERADA et al., 2006). Na prática, no entanto, a taxa de detecção completa é especialmente no contexto dos tumores vulvares perto da linha média. Ansink et al. (1999) encontraram apenas 35% dos pacientes com detecção completa. Levenback et al. (2001) encontraram uma taxa de detecção de 88% correspondendo o percentual de pacientes onde pelo menos um linfonodo unilateral foi detectado. Louis-Sylvestre et al. (2006) em seus estudos sobre a média de tumores próximos à linha de centro, encontraram uma taxa de detecção de 94,7%. No entanto, apenas 35% das pacientes tem realmente uma detecção

satisfatória com o linfonodo abrangente bilateral detectado (HAUSPY et al., 2007) em um estudo recente, levando em conta a localização do tumor, encontraram uma taxa de detecção global de 85%. Neste estudo, a taxa de detecção foi satisfatória para os tumores medial e lateral, 93% em comparação com apenas 46% dos casos de tumores perto da linha média (DOUAY-HAUSER et al., 2008).

Lucia et al. (2010) demonstram em seu artigo a detecção do linfonodo sentinela no intraoperatório utilizando a fluorescência de imagem em pacientes com câncer cervical e vulvar. Fluorescência de imagem é usada em conjunto com o procedimento padrão, que consiste em radiocolóide e um corante azul. No futuro, a fluorescência de imagens intraoperatória pode substituir o método atual e também é facilmente transferível para outras indicações, como câncer de mama e melanoma. A metodologia atual de padrão para detecção do linfonodo sentinela prescreve uma injeção peritumoral de radiocolóide, um dia antes da cirurgia, e um corante no intraoperatório. As desvantagens do procedimento no colo do útero e câncer vulvar se deve às múltiplas injeções na área genital, o que leva a um sofrimento psicológico para a paciente e ainda uso de substâncias radioativas. Quanto ao uso de imagens de fluorescência Multispectral esta é uma modalidade de imagem emergente que pode ser aplicada no intraoperatório sem a necessidade de injeção de radiocolóide. No caso do Intraoperatório de fluorescência de imagem, dois componentes são necessários: um agente fluorescente e um sistema óptico para quantificar a imagem intraoperatória; como um fluoróforo tem se usado indocianina verde (ICG), que é um medicamento inerte com perfil fármaco-biológico seguro, quando animado em torno de 750 nanômetros (nm), emite luz no espectro infravermelho próximo de 800 nm.

1.13 Mapeamento linfático com corante vital

O mapeamento linfático com corante vital mimetiza anatômica e funcionalmente o caminho linfático que a célula neoplásica poderia ter seguido para a região linfática a partir da lesão primária, e cora o linfonodo sentinela, permitindo sua identificação. O corante vital é injetado intradermicamente em volta da lesão primária ou da cicatriz de biópsia, em um volume variável de 1 a 2 ml. Recomenda-se evitar a injeção do corante dentro da cavidade de biópsia prévia e realizá-la no parênquima ao redor do sítio da biópsia. O corante também não deverá ser injetado dentro do tumor, pois os vasos linfáticos estão obliterados por células tumorais,

dificultando a migração do corante (MCMASTERS et al., 2000).

Morton et al. (1992) foram os pioneiros desta técnica, tendo-a realizado inicialmente em gatos, demonstrando dois corantes vitais mais efetivos: o Azul de Isosulfam (lymphazurim) e o Azul Patente (sal sódico de azul patente V), os quais passaram a ser usados clinicamente (MORTON et al., 1992). Cerca de 10 minutos após a injeção do corante vital, uma incisão de aproximadamente 2 cm é feita sobre o local marcado pela linfocintilografia preoperatória, corrigido pela linfocintilografia intraoperatória, de tal forma que a cicatriz possa ser incorporada numa posterior linfadenectomia completa, caso venha ser necessária. Procedem-se ao descolamento de retalhos de pele objetivando visualizar os vasos linfáticos aferentes, e em seguida através de dissecação cuidadosa, os linfáticos aferentes são identificados, dissecados e seguidos até se encontrar o linfonodo sentinela que apresenta coloração azul-esverdeada. Os vasos linfáticos devem ser ligados e não cauterizados, diminuindo assim as chances de seroma no pós-operatório, uma vez que todos os linfonodos corados são excisados. A localização intraoperatória do linfonodo sentinela resulta em insucesso em aproximadamente 20% das dissecações, devido algumas dificuldades técnicas. Um refinamento desta técnica surgiu com o uso da detecção gama intraoperatória, baseada nos métodos descritos por Krag et al. (1995) permitindo a biópsia do linfonodo sentinela em cerca de 98% dos casos. Vários trabalhos já avaliaram a acurácia da identificação do linfonodo sentinela com o corante vital e/ou sonda de detecção gama intraoperatória (PIJPERS et al., 2000; MORTON et al., 1992; MORTON et al., 1999). Oliveira-Filho et al. (1997) utilizaram inicialmente apenas o corante vital e depois introduziram a utilização da detecção gama intraoperatória. Contudo, após analisarem com a detecção gama intraoperatória separadamente as diferentes regiões linfáticas, encontraram 100% de linfonodo sentinela na região inguinal e também os linfonodos corados.

1.13.1 Azul de Metileno

O Azul de Metileno tem sido usado como uma alternativa ao Azul Patente nas biópsias do linfonodo sentinela de pacientes com câncer, mas esse corante possui várias propriedades que levam a efeitos tóxicos nos tecidos, uma vez que ele é rapidamente oxidado e, quantidades excessivas dos produtos de oxidação, particularmente nos tecidos pouco perfundidos, podem causar reação inflamatória

local e vasoespasmos. Foi realizado estudo retrospectivo com o objetivo de relatar as complicações do uso alternativo do Azul de Metileno para a realização da biópsia do linfonodo sentinela, das pacientes que o recebiam na forma intradérmica e peritumoral. Cinco das 24 pacientes selecionadas (21%) desenvolveram lesões no sítio da injeção, com aparecimento de ulcerações superficiais, lesões eritematosas intensas e lesões necróticas. Enquanto o Azul de Isosulfan pode ser usado no parênquima e na derme, o azul de metileno não deve ser usado na forma intradérmica. Devido aos efeitos tóxicos teciduais, o Azul de Metileno poderá ser usado apenas em planos profundos. Pacientes com uma história de tabagismo ou que recebem retalhos para reconstrução são de alto risco para desenvolver lesões de pele com azul de metileno (STRADLING et al., 2002).

1.13.2 Azul Patente

O Azul Patente, do qual deriva o Azul de Isosulfan, é comumente usado isoladamente ou em combinação com radiofármaco para auxiliar na identificação do linfonodo sentinela.

O Azul Patente é um corante da família do trifenilmetano e quimicamente corresponde ao sal sódico do bis (dietilamino-4-fenil)(hidroxi-5-dissulfo-2,4-fenil) metanol anidrido. O Azul Patente V é uma solução aquosa, estéril e tamponada à concentração de 2,5%, através do fosfato monossódico. Essa solução é tornada isotônica pela adição de cloreto de sódio.

Aproximadamente 25% das pacientes submetidas a biópsia do linfonodo sentinela têm complicações, comparativamente, muito menores do que aquelas que realizam o esvaziamento axilar, onde estes apresentam complicações em 75% dos casos (LUCCI et al., 2007). Dentre as complicações com a biópsia do linfonodo sentinela, a reação anafilática intraoperatória ocorre com o uso de corantes e radiocolóides em 2,7% dos pacientes (SCHERER et al., 2006). No caso de corante pode-se observar a tatuagem temporária da pele, mas com resolução espontânea em pouco tempo na maioria dos casos (VARGHESE et al., 2007). Muitos estudos afirmam que a biópsia do linfonodo sentinela reduz, mas não elimina completamente o risco de linfedema (ERICKSON et al., 2001; SENER et al., 2001; TEMPLE et al., 2002).

Conforme dados obtidos do Memorial Sloan-Ketterin Cancer Center no

período entre 12 de setembro de 1996 e 17 agosto de 2000, 1,6% das 2.392 pacientes tiveram reação alérgica durante o procedimento. A maior parte das reações (69%) produziu urticária, erupções generalizadas ou prurido e broncoespasmo. O comprometimento respiratório é incomum, bem como reações hipotensoras de 0,5% que se caracterizam pelo aparecimento de pápulas azuladas na pele, podendo ser visualizadas já durante a cirurgia. Reações adversas com o azul patente podem ocorrer durante o mapeamento do linfonodo sentinela. A real frequência das reações diversas é desconhecida; acredita-se que varie entre 0,6% a 2,5% (MONTGOMERY, 2002).

1.14 Hemossiderina

Pinheiro et al. (2009) avaliaram e apresentaram resultados preliminares de um novo marcador (hemossiderina) para a identificação de linfonodos sentinela mamários em um modelo experimental. Durante acompanhamento de dois casos de biópsias excisionais de tumores da mama, observou-se trajeto pigmentado no quadrante inferior externo dessas mamas, sugerindo ser marcação cutânea do ducto de drenagem linfática a partir da papila mamária em direção à axila homolateral. Levantou-se a hipótese de que um derivado sanguíneo (hemossiderina) foi capturado por macrófagos obtendo acesso aos ductos linfáticos em direção à axila. Seis cadelas sem raça definida foram estudadas, com injeção de 0,2ml de Tecnécio 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. Dez minutos depois, 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 e mais seis linfonodos sentinelas azuis e radiomarcados também foram identificados na axila direita. Para tanto, são apresentados estudos preliminares de um potencial novo marcador na identificação do linfonodo sentinela, que poderá mudar o uso de corantes vitais e de seus efeitos adversos em pacientes submetidas à biópsia do linfonodo sentinela.

1.15 Exame do linfonodo sentinela

No estudo anátomo – patológico a peça cirúrgica é submetida a cortes semisseriados em número adequado para aumentar a chance de se detectar micrometástases, sendo que o recomendável é que se façam cortes com intervalos a cada 2,0 mm, para o estudo clássico com hematoxilina-eosina (H-E). A relação custo/benefício de se fazer mais cortes em menor número de linfonodos é considerada favorável. Técnicas de imunohistoquímica são efetuadas de rotina, quando o resultado do H-E mostra-se negativo. Para tanto, costuma-se pesquisar o S-100 e HMB-45, com a finalidade de aumentar a chance de detecção de micrometástases e a consequente possibilidade da efetivação da linfadenectomia - o mais precoce possível. A pesquisa de focos microscópicos pela técnica molecular de Reação em Cadeia de Polimerase pela Técnica da Transcriptase Reversa – RT-PCR é realizada apenas em protocolos de grupos cooperativos, para avaliação de seu real valor como indicador de doença em fase mais avançada (WANG et al., 1994).

Ku (1999) defende que o exame de congelação não seja realizado, devido ao seu potencial de perda de micrometástases no criostato, artefatos de congelação e erros de amostragem. O método empregado por esse autor é o *imprint* citológico intraoperatório, corado com a técnica de Quickdift. Ele não encontrou, em 478 pacientes da sua série, nenhum caso de falso negativo no exame intraoperatório em linfonodos grosseiramente positivos ou suspeitos.

Outros marcadores já tem-se mostrado úteis na identificação de célula de melanoma metastático no linfonodo sentinela, como Melan-A/MART-1. Comparado com o exame histológico convencional, a imunohistoquímica aumenta em 10 vezes a sensibilidade para detecção de micrometástases, sendo capaz de identificar uma célula de melanoma em um fundo de 105 leucócitos. Novas metodologias capazes de detectar, com elevada sensibilidade, a presença de poucas células derivadas do melanoma, tanto nos linfonodos de drenagem, quanto na circulação sanguínea, estão sendo desenvolvidas. Entre elas, pode-se destacar a aplicação de “reverse transcriptase polimerase chain reaction” (RT-PCR), pesquisando a presença de RNA mensageiro da tirosinase e/ou MART-1 (COCHRAN et al., 2000; CHERPELIS et al., 2001).

Diversos estudos estão em andamento no que diz respeito à validade do

linfonodo sentinela na micrometástase (Trial 23-01 do IBCSG, ainda em andamento), em tumores multifocais, multicêntricos, em carcinoma mamário no homem, carcinoma na gestação, pacientes que já realizaram cirurgias prévias, após quimioterapia primária e cadeia mamária interna. Em um futuro próximo, esses questionamentos serão esclarecidos; assim se poderá ampliar o número de pacientes beneficiadas por essa técnica eficaz oncológica, minimamente invasiva e capaz de predizer o estado linfonodal com inúmeras vantagens à dissecação. (GENNARI, 2004; GALIMBERTI et al., 2002).

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 biopsiado. 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 reactin – PCR), sobretudo para não haver dúvidas em diagnosticar focos de micrometástases que poderiam estar correlacionados com um pior prognóstico. Por isso, é também importante realizar cortes múltiplos no linfonodo biopsiado. Os patologistas utilizam um método inovador que prevê o congelamento de modo rápido, em isopentano, da peça operatória. O linfonodo vem dividido em duas partes e cada uma é depois dividida em 15 cortes para coloração tradicional com hematoxilina-eosina ou *polimerase chain reactin* (PCR). 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).

Todavia, o significado prognóstico das micrometástases e das células tumorais isoladas no linfonodo sentinela ainda não é claro. Essa questão talvez poderá ser respondida com os resultados do Estudo IBCSG (International Breast Cancer Study Group) que compara a dissecação axilar com nenhum tratamento em pacientes com micrometástases no linfonodo sentinela (SOBIN, 2002). Muito já se sabe a respeito do linfonodo sentinela e mais descobertas ainda acontecerão para oferecer um tratamento cada vez melhor às pacientes.

Embora os resultados dessa técnica sejam encorajadores e muitos

protocolos e consensos já estejam estabelecidos, alguns pontos ainda carecem de esclarecimento por novos estudos tais como: técnica de injeção, uso de corantes, carreador, critérios de inclusão, cintilografia preoperatória e intervenção cirúrgica, viabilidade em hospitais gerais, curva de aprendizado e falso negativo, anatomopatologia transoperatória, dentre outros (PINHEIRO et al., 2003).

É de vital importância para as mulheres acometidas de câncer vulvar que seja bem validado o conceito de linfonodo sentinela, tornando-se uma abordagem cirúrgica menos agressiva, podendo evitar grandes morbidades como mutilações e complicações sérias. Os resultados de estudos nos grandes centros em todo o mundo são louváveis e mesmo que não pareçam substituir os métodos tradicionais, podem ser uma alternativa para o tratamento, contribuindo assim para a ciência e aplicação na prática clínica futura.

OBJETIVOO

2 OBJETIVO

2.1 Geral

Validar o modelo experimental para pesquisa do linfonodo sentinela na vulva da cadela usando o Azul Patente e o Fitato Tecnécio(^{99m}Tc).

2.2 Específicos

- Avaliar a exequibilidade do Azul Patente como marcador do linfonodo sentinela da vulva da cadela;
- Avaliar o FITATO Tecnécio(^{99m}Tc) como marcador do linfonodo sentinela na vulva da cadela;
- Comparar os resultados obtidos pela associação das duas técnicas.

MÉTODOS

3 MÉTODO

Este projeto foi apresentado e aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA), em reunião realizada em 09 de novembro de 2010 sob o nº 10/09, dentro das normas legais que regulamentam as pesquisas em animais do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Os experimentos foram iniciados em 13 de agosto de 2008.

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Cirurgia Experimental Prof. Saul Goldenberg, localizado no Grupo de Educação e Estudos Oncológicos (GEEON), extensão do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará – UFC. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados de 13 de agosto de 2008 a 22 de janeiro de 2009. Foram utilizadas 35 cadelas, divididas em dois grupos: o primeiro grupo com 10 cadelas compondo o plano piloto e o segundo grupo composto por 25 cadelas para o experimento. Os animais utilizados foram cadelas adultas sem raça definida da espécie *Canis familiaris*.

Critérios de inclusão

Para realização deste trabalho foram elegíveis as cadelas conforme os critérios de inclusão:

- Clinicamente sadias;
- Apresentavam vulvas anatômicas.
- Cedidas pelo Centro de Controle de Zoonoses de Fortaleza;

Critérios de exclusão

- Cadelas com menos de 6 meses de idade;
- Cadelas com menos de 5 kg;
- Cadelas com mais de 15 kg;
- Cadelas que apresentavam vulvas com cicatrizes ou cirurgias prévias.

Instrumentos de Pesquisa

Foi elaborado um protocolo (Apêndice A) para registro dos dados do experimento:

- Número da cadela;
- Data da cirurgia, início e término do procedimento;
- Peso da cadela;
- Registros dos procedimento (regiões inguinais direita e esquerda) como:
 - Horário da injeção do radiocolóide vulvar;
 - Registro da contagem da radiação pelo gamaprobe;
 - Horário de identificação do linfonodo sentinela (nas regiões inguinais);
 - Registro da contagem das regiões inguinais;
 - Horário da realização da incisão inguinal;
 - Horário da injeção do azul patente (na comissura);
 - Horário da incisão (inguinal);
 - Registro de identificação do linfonodo sentinela;
 - Registro da contagem *in vivo* e *ex vivo*;
 - Número de linfonodos corados com azul patente;
 - Registro da concordância de identificação entre os métodos;
- Número do registro fotográfico;
- Observações pertinentes ao experimento.

O fornecimento do material radioativo foi feito pela Clínica Radiológica Sonimagem da cidade de Fortaleza que, contactada previamente, preparava e acondicionava o material radioativo e o transportava para o laboratório no dia do procedimento. O radiofármaco utilizado foi colóide fitato marcado com Tecnécio-^{99m}Tc), com doses inferiores a 0,5 mCi o corante utilizado: azul patente 2,5% - Guerbet; equipamentos; gama probe – 02 unidades modelo: Nuclear lab. – DGC-8, navegador – GPS.

Procedimento anestésico

Todos os animais foram submetidos ao seguinte protocolo anestésico: 1. Medicação pré-anestésica, sulfato atropina 0,044mg/kg subcutânea com espera de 15 minutos, 2. Cloridrato de xilazina 1,5mg/kg IM e após 15 minutos 3. Cetamina (anestésico dissociativo) 15mg/kg IM. Considerava-se o animal em plano anestésico cirúrgico, assim que este cessava os movimentos involuntários já não reagia ao manuseio cirúrgico, e não apresentava perda dos reflexos palpebrais, interdigital, amplitude e frequência respiratória normal.

Procedimento cirúrgico

Os experimentos foram realizados utilizando um animal por vez e que obedecessem aos critérios de inclusão no estudo. No dia que procedia ao experimento o Centro de Zoonose da Prefeitura Municipal de Fortaleza era contactado para o preparo, seleção e fornecimento do animal que vinha higienizado e avaliado quanto ao aspecto sanitário. Todo o material cirúrgico e anestésico necessário à execução dos experimentos era checado. Na manhã do procedimento, o animal era recolhido e encaminhado em uma embalagem apropriada para o seu transporte, sendo acomodado no canil do laboratório, para ser criteriosamente avaliado quanto às condições sanitárias e atendimento de todos os critérios de inclusão da pesquisa. Imobilizado, o animal, era anestesiado e levado para a sala de procedimento. A cadela era imobilizada na mesa cirúrgica com ataduras em decúbito dorsal com as patas abduzidas em extensão (Figura 1). O nível de anestesia geral era monitorizado através de parâmetros clínicos: movimento das narinas, frequência respiratória e cardíaca que pode indicar a superficialização anestésica, quando era ofertada a medicação adicional e complementar para obtenção do plano anestésico adequado, com administração venosa com solução fisiológica 0,9% para manutenção do acesso venoso. Na tricotomia das áreas cirúrgicas inguinais, eram registrados todos os dados, estágios, horários e observações inerentes ao procedimento. Injeção intradérmica com agulha de insulina de 0,5 µCi de Tecnécio na comissura anterior da vulva, transição cutânea-mucosa (Figura 2). Após trinta minutos, era feita a contagem e valores da radiação da comissura, com a sonda do probe, envolvida em luva cirúrgica, (Figura 3). Identificação do sítio inguinal e

medição do nível de radiação com sonda probe com avaliação da leitura e sinal sonoro, indicava o local máximo de captação das radiações para identificação do linfonodo sentinela e registro dos dados (Figura 4). Injeção de 0,5 ml de Azul Patente com agulha de insulina na transição cutânea mucosa da comissura, com realização de compressão com gase para impedir o extravasamento do azul patente (Figura 5). Após quinze minutos, depois de observada a migração do azul patente, foi feita a marcação e detecção do linfonodo (Figuras 6 e 7). Realizada a incisão paralela na dobra do flanco (Figura 8). Identificação dos linfonodos corados pelo Azul Patente (Figura 09); Identificação com probe do linfonodo corado com o Azul Patente *in-vivo* (Figura 10); Avaliação do linfonodo *ex-vivo* com probe. Identificação dos linfonodos corados ou não com Azul Patente e comparação entre os dois métodos (Figura 11).



Figura 1 – Posição da cadela imobilizada e anestesiada na calha cirúrgica



Figura 2 – Injeção de Tecnécio na comissura anterior transição cutânea mucosa da vulva da cadela



Figura 3 – Rastreamento com Probe da radiação na comissura da região vulvar

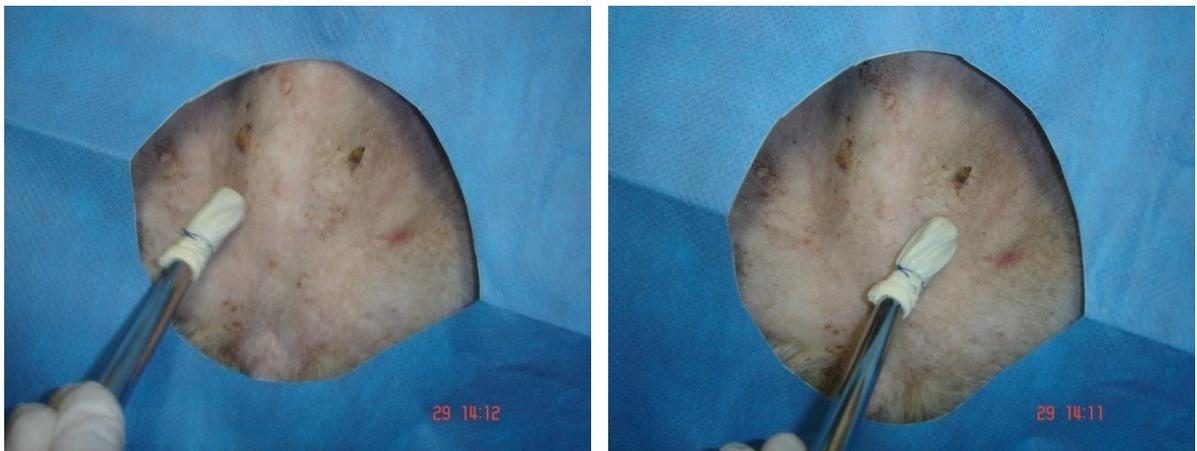
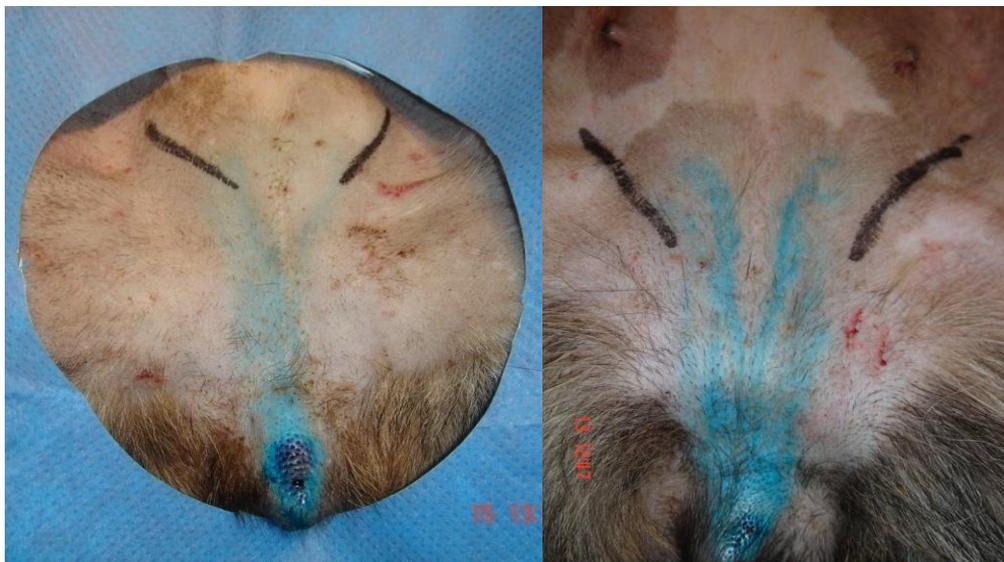


Figura 4 – Rastreamento com Probe dos sítios inguinais



Figura 5 – Injeção de Azul Patente na transição cutânea mucosa da comissura anterior da vulva da cadela



Figuras 6 – Migração do Azul Patente e marcação do linfonodo



Figura 7 – Migração do Azul Patente, marcação e detecção do linfonodo



Figura 8 – Incisão paralela na dobra do flanco das regiões inguinais

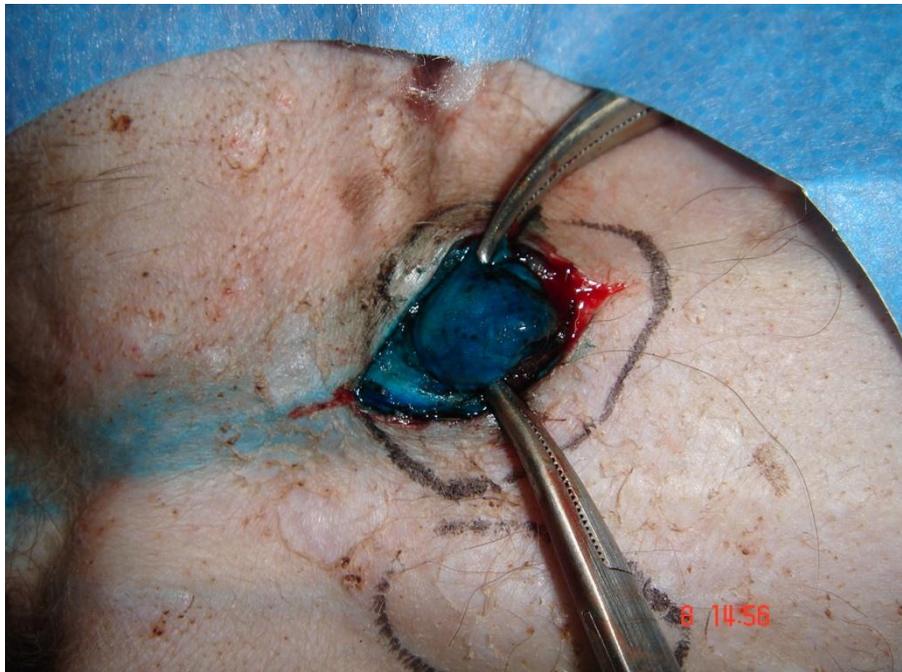


Figura 9 – Identificação do linfonodo corado com Azul Patente



Figura 10 – Identificação com Probe do linfonodo corado com o Azul Patente *in-vivo*



Figura 11 – Avaliação do linfonodo *ex-vivo* com Probe, identificação dos linfonodos corados ou não com Azul Patente e comparação entre os dois métodos

O leito cirúrgico era avaliado pela presença de radiação e os linfonodos captantes eram retirados e registrados as suas características de radiação, de captação do corante.

A relação da área de maior captação/radiação de fundo do leito cirúrgico deve ser igual ou maior que dez. A verificação da radioatividade do linfonodo sentinela, excisado fora do campo cirúrgico (contagem *ex-vivo*) e comparação com a radiação do leito cirúrgico, confirmam que foi, realmente, retirado o linfonodo sentinela e que não existe outra fonte de radiação que possa justificar a continuação da pesquisa de outro linfonodo sentinela.

Os dados tabulados quantificaram a intercessão entre duas marcações, e a concordância entre os métodos.

Morte dos animais

Utilizou-se uma dose de 30mg/kg de Ketamina, 1mg/kg de Diazepan, e 1mg/kg de Acepromazina para anestesia/analgesia, em seguida foram administrados 20 ml de cloreto de potássio a 10% por via endovenosa para provocar parada cardíaca. Após óbito, os animais eram embalados em sacos plásticos, pesados e remetidos ao Centro de Controle de Zoonoses de Fortaleza.

Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se o programa SPSS for Windows 16.0 (2007). Inicialmente, verificou-se se havia diferença entre os procedimentos realizados no lado esquerdo e direito do animal, através do teste de qui-quadrado (χ^2) e teste *t* de *student* para amostra pareada. Posteriormente, verificou-se a relação entre as variáveis numéricas (radiação na comissura, radiação na incisão inguinal, contagem *in vivo* e *ex vivo*) através da correlação de Pearson. A comparação entre as duas técnicas foi feita pelo teste não-paramétrico McNemar. Em todos os testes o nível de significância aplicado para se rejeitar a hipótese de nulidade foi de 5%, ou seja, foi considerado significativo quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

Na figura 12 e na Tabela 1, foram observados que 56% das cadelas apresentaram uma radiação alta (16701 a 20100 r) na comissura e somente 8% tiveram baixa radiação (3100 a 6500 r).

Tabela 1. Distribuição de frequência da radiação na transição cutânea mucosa da comissura vulvar da cadela após a injeção de Tecnécio

Radiação na Comissura	n	%
3100 a 6500	2	8.0
6501 a 9900	1	4.0
9901 a 13300	4	16.0
13301 a 16700	4	16.0
16701 a 20100	14	56.0
Total	25	100

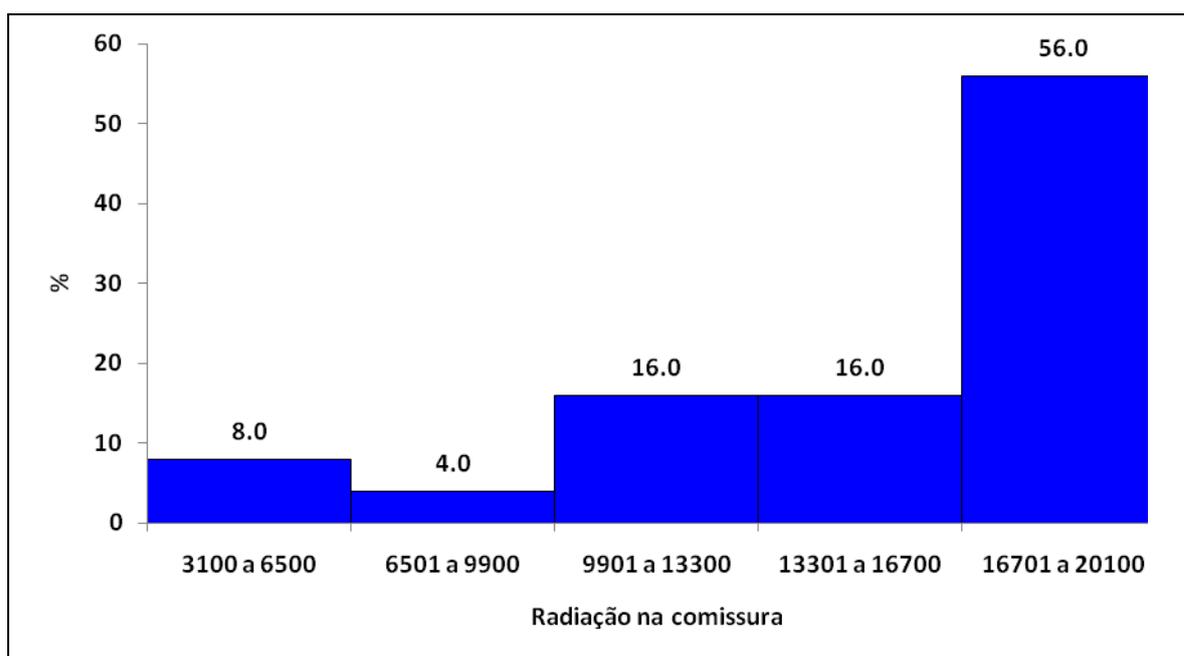


Figura 12. Distribuição de frequência da radiação na transição cutânea mucosa da comissura vulvar da cadela após a injeção de Tecnécio

Em relação à Tabela 2, os níveis de radiação foram os mesmos encontrados em ambos os lados ($p > 0,05$), 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 Azul Patente.

Tabela 2. Teste do qui-quadrado comparando os lados direito e esquerdo após a injeção de Tecnécio na transição cutânea mucosa da comissura vulvar da cadela

Variáveis	Direito		Esquerdo		χ^2	p
	n	%	n	%		
Radiação na incisão inguinal						
0	2	8.0	1	4.0	4.026	0.5457
50 a 550	5	20.0	8	32.0		
551 a 1050	6	24.0	6	24.0		
1051 a 1550	3	12.0	6	24.0		
1551 a 2050	3	12.0	1	4.0		
> 2050	6	24.0	3	12.0		
Linfonodo sentinela						
Não	2	0.0	4	16.0	0,189	0,6634
Sim	23	92.0	21	84.0		
Contagem do linfonodo <i>in vivo</i>						
0 a 1000	9	36.0	8	32.0	1,850	0,7634
1001 a 2000	3	12.0	5	20.0		
2001 a 3000	2	8.0	3	12.0		
3001 a 4000	6	24.0	3	12.0		
> 4000	5	20.0	6	24.0		
Contagem do linfonodo <i>ex vivo</i>						
0 a 1000	8	32	9	36	1,850	0,7634
1001 a 2000	6	24	3	12		
2001 a 3000	3	12	5	20		
3001 a 4000	2	8	3	12		
> 4000	6	24	5	20		
Linfonodo corado com azul patente						
0	1	4.0	3	12.0	1,100	0,576
1	21	84.0	19	76.0		
2	3	12.0	3	12.0		
Intercessão dos métodos						
Não	3	12.0	3	12.0	0,0	1,0
Sim	22	88.0	22	88.0		
Total	25	100.0	25	100.0		

Na figura 13 observa-se somente em 12% das cadelas operadas não foi observado o linfonodo sentinela.

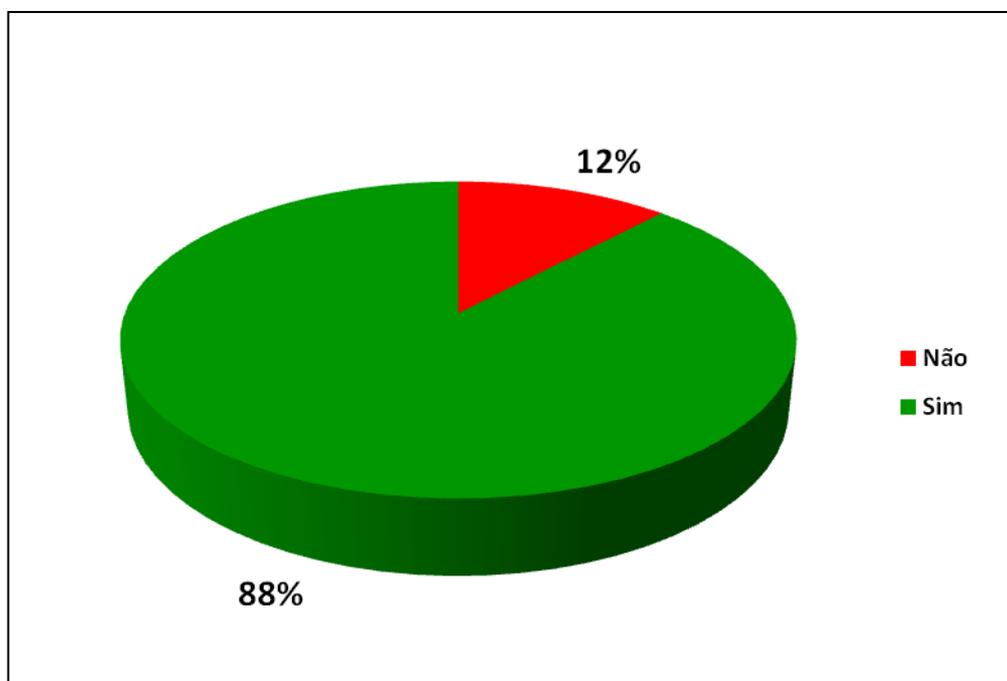


Figura 13. Presença e ausência de linfonodo sentinela nas cadelas operadas

Na Figura 14 observa-se que houve uma boa intercessão entre os dois métodos, ou seja, em 88% das cadelas foi encontrado o linfonodo corado com azul patente e a radiação.

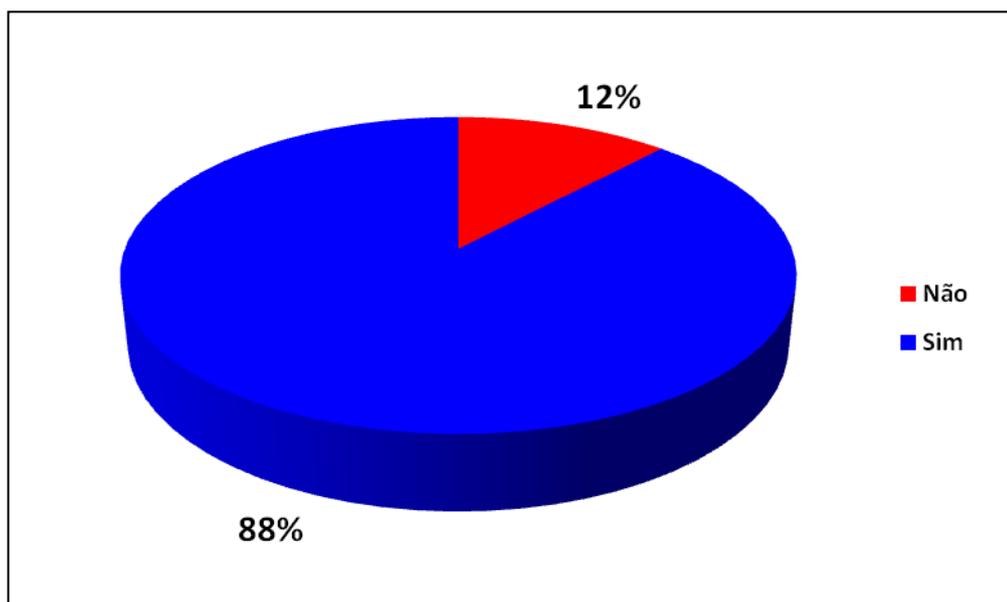


Figura 14. Intercessão dos métodos Azul Patente e da radiação de Tecnécio nas regiões inguinais das cadelas

Tabela 3. Teste *t* de *student* pareado para comparação das médias da radiação na incisão inguinal, na contagem dos linfonodos *in vivo* e *ex vivo*

		N	Média	Desvio padrão	t	p
Radiação na incisão inguinal	Direito	23	2135.7	3659.25	1.692	0.105
	Esquerdo	23	1196.74	1316.489		
Contagem de linfonodos <i>in vivo</i>	Direito	23	3241.13	3813.696	-0.119	0.906
	Esquerdo	23	3343.7	3219.254		
Contagem de linfonodos <i>ex vivo</i>	Direito	23	3524.65	4409.27	0.816	0.423
	Esquerdo	23	2776.48	2588.68		

Tabela 4. Relação entre as técnicas da radiação do Técnico e o Azul Patente

		Radiação		Total
		Sim	Não	
Azul	Sim	45	1	46
	Não	2	2	4
Total		47	3	50

Sensibilidade =	95.7%
Especificidade =	66.7%
VPP =	97.8%
VPN =	50.0%
Acurácia =	94.0%

Conforme pode ser observado na tabela 4 o teste do Azul Patente apresentou uma elevada sensibilidade (95,7%) e uma moderada especificidade de (66,7%), quando comparado ao da radiação do Técnico. De acordo com o teste não-paramétrico de McNemar ($p=1,0$), não foi observado diferença significativa ($p>0,05$) entre as duas técnicas, tanto que a acurácia do Azul Patente foi de 94%.

A probabilidade de um caso positivo detectado pelo Azul Patente ser realmente positivo foi de 97,8%, logo, o valor preditivo foi alto. Contudo o valor preditivo negativo, isto é, a probabilidade de dar um caso negativo detectado pelo Azul Patente ser um negativo verdadeiro, foi de 50%.

A Figura 15 ilustra as porcentagens de concordância e de discordância entre as duas técnicas, ou seja, houve 94% de concordância e 6% de discordância

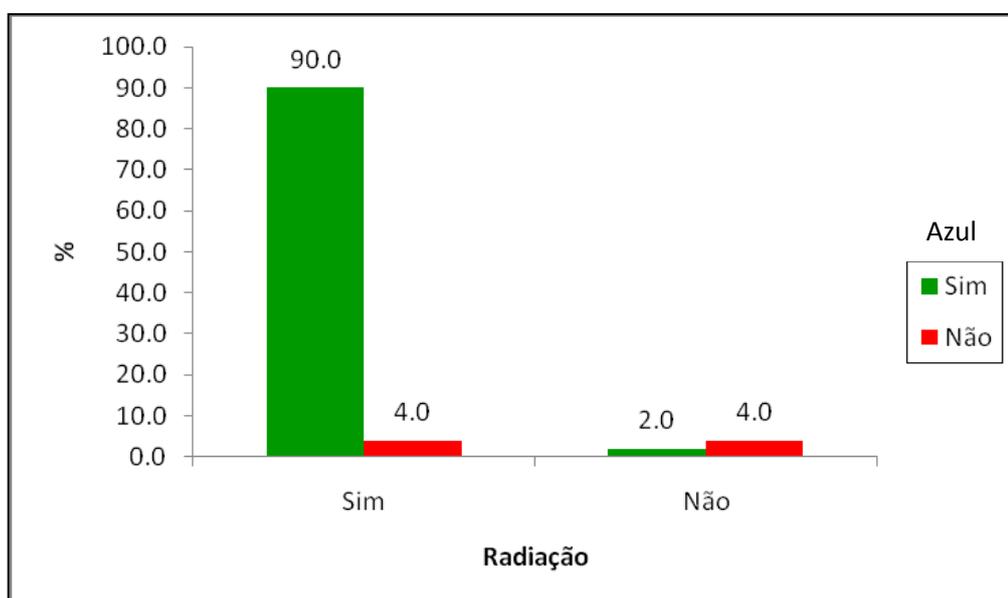


Figura 15. Frequência da intercessão dos métodos radiação do Técnico e Azul Patente

Na Tabela 5, observam-se as seguintes correlações significativas: peso da cadela e a radiação na comissura ($r = -0,523$), ou seja, quanto maior o peso da cadela menor a radiação registrada na comissura. E nas radiações da incisão inguinal direita e esquerda entre si, e com as contagens *in vivo* e *ex vivo* direita e esquerda, sendo altas e positivas, portanto são diretamente proporcionais, pois quanto maior a radiação, maior será a contagem. As demais correlações não foram significativas ($p > 0,05$), logo podem ser consideradas nulas.

De acordo com a Tabela 5 e a Figura 16, foi observado uma relação negativa e significativa entre o peso da cadela e a radiação na comissura, o que quer dizer que quanto maior o peso da cadela menor será a radiação na comissura.

Tabela 5. Correlação de Pearson das variáveis numéricas, radiações, regiões inguinais *in vivo* e *ex vivo*

	peso	Radiação na Comissura	Radiação na incisão inguinal-Direito	<i>In vivo</i> - Direito	<i>ex vivo</i> - Direito	Radiação na incisão inguinal - Esquerdo	<i>In vivo</i> - Esquerdo
Radiação na Comissura	-0,523*						
Radiação na incisão inguinal - Dir	0,231	0,197					
<i>In vivo</i> - Direito	0,161	0,140	0,900**				
<i>ex vivo</i> - Direito	0,180	0,150	0,865**	0,916**			
Radiação na incisão inguinal - Esq	0,178	0,157	0,835**	0,730**	0,607**		
<i>In vivo</i> - Esquerdo	0,003	0,342	0,350	0,324	0,322	0,582**	
<i>ex vivo</i> - Esquerdo	0,128	0,229	0,192	0,242	0,298	0,397	0,885**

* Significa $p < 0,05$

** Significa $p < 0,01$

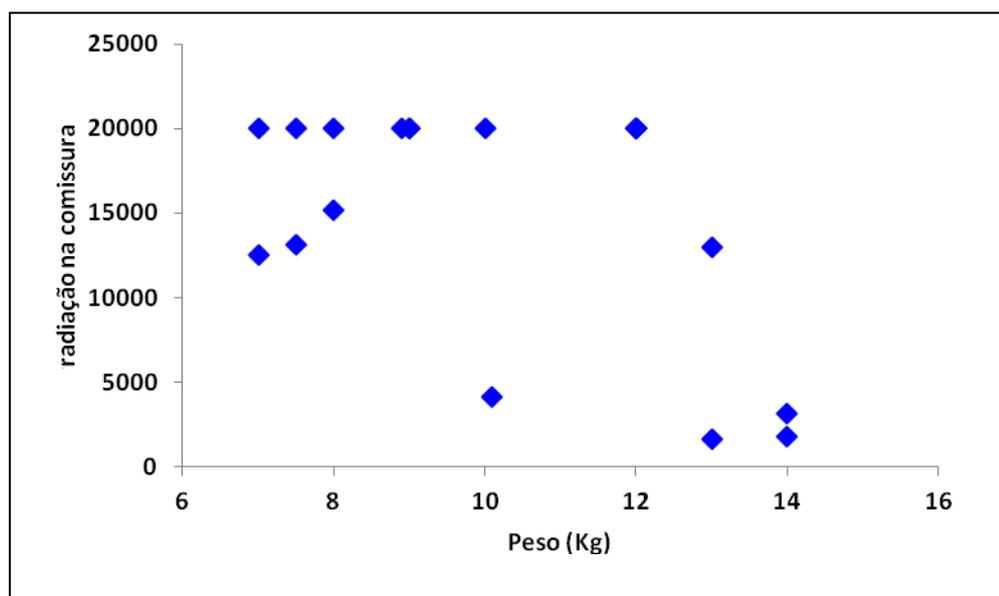


Figura 16. Relação entre o peso das cadelas e a radiação na transição cutânea mucosa da comissura vulvar

Como pode ser observado na Figura 17 houve uma correlação positiva e significativa das contagens *in vivo* e *ex vivo*, no lado direito das cadelas

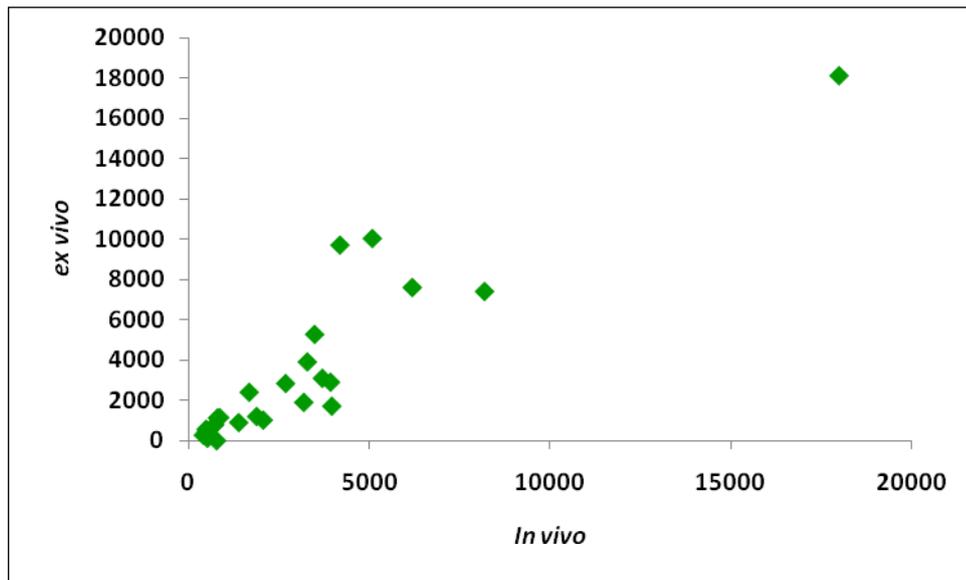


Figura 17. Relação entre as contagens *in vivo* e *ex vivo* – Lado direito

Na Figura 18 conforme se observa, houve uma correlação positiva e significativa das contagens *in vivo* e *ex vivo*, no lado esquerdo das cadelas

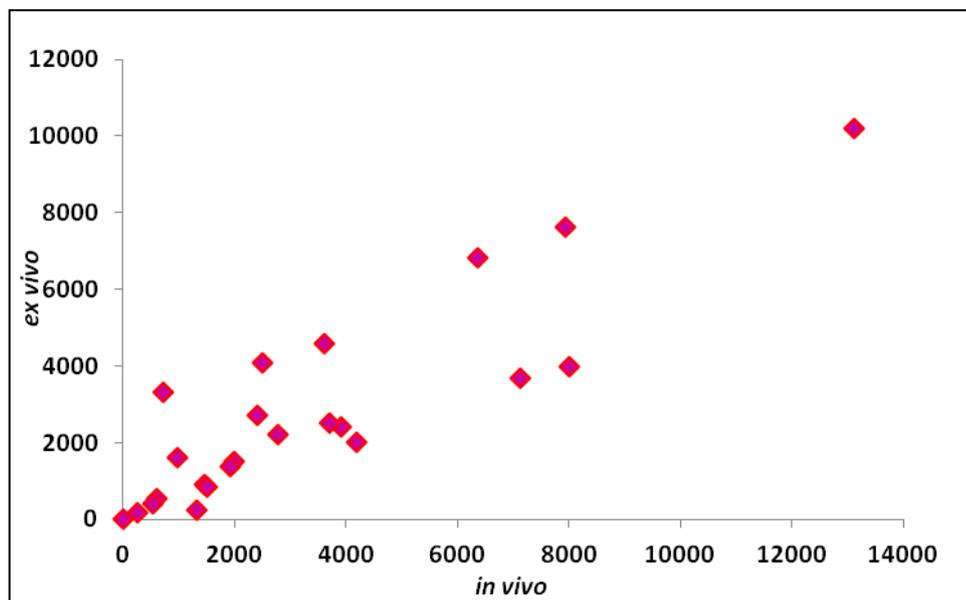


Figura 18. Relação entre as contagens *in vivo* e *ex vivo* – Lado esquerdo

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Na literatura consultada não se encontram relatos sobre pesquisa de Linfonodo Sentinela em vulva de cadelas, usando Tecnécio e Azul Patente, deste modo, parece pertinente um estudo em animais de experimentação, uma vez que a importância do tema é uma prática corrente na oncologia no uso da biópsia do Linfonodo Sentinela.

O interesse em estudar a drenagem linfática nas neoplasias malignas, com o objetivo de encontrar uma maneira de definir com precisão a necessidade dos esvaziamentos linfonodais radicais foi renovado por Cabanas (1977). A partir dos seus estudos, que definiram o conceito de linfonodo sentinela, o aperfeiçoamento da técnica da biópsia do linfonodo sentinela evoluiu com a publicação dos estudos de Morton et al. (1992) em melanoma (utilizando corantes) e de Krag et al. (1993) na mama (utilizando radiofármacos e detector de raios gama no transoperatório). Nos estudos de Krag et al. (1993) foi possível identificar o linfonodo sentinela em 82% dos casos estudados e uma taxa de 100% de acurácia. Giuliano et al. (1994) utilizando o corante Azul Patente obtiveram índices de 66% de taxa de identificação e 96% de acurácia. Albertini e colaboradores (1996) associando os dois métodos, apresentaram índices de 92% de identificação e 100% de acurácia.

O estado patológico do linfonodo sentinela reflete a realidade de toda área de drenagem da lesão (SOHAIB; MOSKOVIC, 2003; PLANTE; RENAUD; ROY, 2004). Este conceito aplicado ao câncer de vulva poderá beneficiar muitas pacientes com uma cirurgia mais precisa, esteticamente melhor e com menos morbidades trans e pós-operatórias, além de melhor qualidade de vida.

Segundo Robison et al. (2011) a dissecação do linfonodo sentinela tem se mostrado sensível para avaliação das cadeias linfáticas na doença metastática e estão associadas com diminuição da morbidade a curto e longo prazo, quando comparadas com a dissecação completa dos linfonodos, despertando interesse crescente no uso da tecnologia do linfonodo sentinela no câncer ginecológico. A literatura atual continua apoiando a segurança e a viabilidade da biópsia do linfonodo sentinela nos estágios iniciais do câncer vulvar com valor preditivo negativo próximo dos 100% e baixas taxas de falso negativo. Os esvaziamentos dos linfonodos sentinelas têm se mostrado seguros e eficazes em algumas pacientes

com câncer vulvar, sendo a escolha da abordagem cirúrgica uma alternativa para estas pacientes.

A cadela foi o animal escolhido devido à facilidade de aquisição, manipulação e tamanho (porte médio). De igual modo, o acesso às regiões das cadelas foram de bom padrão.

A utilização de animais de laboratório aumentou de forma consideravelmente nas últimas décadas em decorrência da expansão da pesquisa científica, tanto básica como aplicada. Os extraordinários progressos da Medicina Experimental humana e veterinária, da indústria farmacêutica, da tecnologia de alimentos e outros campos não seriam possíveis sem o emprego de animais de laboratório, havendo por consequência crescente utilização deles, condicionando desta forma o estímulo para o desenvolvimento de técnicas de manejo e reprodução de animais de laboratório e o surgimento de biotérios em número e condições adequadas (TOLOSA, 2000).

Pinheiro et al. (2003) em seus estudos analisaram a relação entre as incisões cirúrgicas consagradas em mastologia e a sensibilidade na identificação do linfonodo sentinela em cadelas e, para tanto, foram avaliados seis pares de mamas superiores, utilizando Azul Patente e Tecnécio. Concluíram que a realização da incisão para-areolar prévia diminuiu em 80% a sensibilidade do Azul Patente na identificação do linfonodo de drenagem das mamas nas cadelas estudadas.

Segundo Pereira (2005) as glândulas mamárias das cadelas são uns dos principais órgãos acometidos por neoplasias. Em experiência com 30 cadelas foi utilizado o radiofármaco (^{99m}Tc) – dextran 70 nas glândulas mamárias torácica craniais e também caudais. Através das lifocintilografias não foi identificado o linfocentro cervical superficial, sendo que a drenagem das glândulas foi efetivada pelo linfocentro axilar. As informações topológicas e funcionais obtidas neste estudo poderão ser aplicadas nos procedimentos investigativos como a ultrassonografia e biópsia dos linfonodos em pacientes acometidos por neoplasias.

O treinamento em animais (cadelas) em Laboratórios de Técnica Operatória Cirúrgica Experimental é necessário e desejável. Como toda pesquisa científica, bem planejada, justificada e aprovada pelo Conselho de Ética hospitalar, a pesquisa linfonodo sentinela deve ser fundamentada na Declaração de Helsinque e na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Sabendo-se da semelhança anátomo-fisiológica da drenagem linfática da

vulva humana e da cadela, realizou-se a identificação do linfonodo sentinela nas regiões inguinais injetando Tecnécio- ^{99m}Tc , na região vulvar, com identificação da presença de radiação e injetou-se Azul Patente na transição cutâneo mucosa da vulva das cadelas (Figura 2 e 5).

No experimento, demonstrou-se uma taxa de identificação de 88%, de linfonodo sentinela e somente em 12% esta não foi observada. Independente do lado direito ou esquerdo, foi observado uma relação significativa ($\chi^2 = 28,88$ $p < 0,0001$) entre a presença ou não do linfonodo sentinela (Figura 13).

No experimento foi observado uma alta (88%) e significativa ($\chi^2 = 12,89$ $p = 0,0003$) intercessão entre os métodos (azul patente e radiação), e não foi observado diferença significativa ($p > 0,05$) entre os lados direito e esquerdo, indicando uma boa constância nos procedimentos (Figura 14).

Para Tuohy et al. (2009) a avaliação do linfonodo sentinela em veterinária não pode ser subestimado. O linfonodo é o indicador confiável e sensível e específico da real extensão da doença metastática, uma vez que sua validação aumenta a precisão garantindo, assim, uma avaliação adequada para receber o benefício de uma terapia adequada. A avaliação das técnicas para identificação do linfonodo sentinela em medicina veterinária foi iniciada no Colorado State University, Animal Cancer Center (USA), em um estudo piloto com combinação de injeção de nucleotídeos e de injeções de corante Azul de Metileno, que estão sendo usados para localização do linfonodo sentinela.

Desde que o Tecnécio- ^{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 às suas características favoráveis (SILVA; CALDEIRA DE ARAÚJO; BERNARDO FILHO, 2002). O Tecnécio- ^{99m}Tc é 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%). O Tecnécio- ^{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.

Oliveira Filho et al. (2000), descreveram que o linfonodo sentinela é encontrado em cerca de 83% a 100% dos casos, variando de acordo com a localização da região do linfonodo sentinela. Nos casos inguinal, 100% de sucesso só foi alcançado com o corante azul patente, mas em outros locais o uso da cintilografia e detector de radiação gama intraoperatório são importantes.

A detecção gama intraoperatória desenvolvida por Costa et al. (2006) demonstrou que as características físicas tenham cumprido as propostas sugeridas na literatura internacional para ser usado como sonda radioguiada na localização do linfonodo sentinela, marcado com (^{99m}Tc).

No experimento observou-se que 56% das cadelas apresentavam uma radiação alta (16.701 a 20.100 r) na comissura e somente 8% tiveram baixa radiação de (3.100 a 6.500 r) (Tabela 1 e Figura 12). Não foi observado nenhuma diferença significativa ($p > 0,05$) nas proporções dos lados direito e esquerdo nas variáveis numéricas, e radiação nas regiões inguinais, contagem *in vivo* e *ex vivo*, indicando que o procedimento foi feito igualmente em ambos os lados, dando as mesmas leituras (Tabela 2).

Pinheiro et al. (2003), 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 à sua sensibilidade na detetação do linfonodo sentinela, concluíram ser eficientes o corante Azul Patente (AP) e Tecnécio(^{99m}Tc), ligado à fitato isolados ou associados na identificação do linfonodo sentinela.

Van Der Ent et al. (1999), Albertini et al. (1996), Veronesi et al. (1997), testaram microcolóides de albumina marcada com Tecnécio(^{99m}Tc), que permitiu evidenciar o linfonodo sentinela por meio de uma linfocintilografia e de uma sonda para cirurgia radioguiada, retirando-o por meio de uma pequena incisão. A linfocintilografia préoperatória foi então adicionada com o objetivo de especificar a localização e o número de linfonodos sentinela.

O Azul Patente foi escolhido por ser uma droga que se difunde em poucos minutos nas veias e nos vasos linfáticos, com uma coloração azulada, selecionando os tecidos e mucosas do território da vascularização. A indicação desta droga destina-se a estudar a circulação linfática, localização dos vasos linfáticos em linfopatia e em cirurgia. O Azul Patente tem uso mundial, em pesquisa do linfonodo sentinela, nas neoplasias mamárias.

Morton et al. (1992) foram os pioneiros desta técnica, tendo-a realizado inicialmente em gatos, demonstrando dois corantes vitais mais efetivos: o Azul de Isosulfam (lymphazurim) e o Azul Patente (sal sódico de azul patente V), os quais passaram a ser usados clinicamente.

O mapeamento linfático com Azul Patente mimetiza anatomicamente e funcionalmente o caminho linfático que a célula neoplásica poderia ter seguido para a região linfática a partir da lesão primária, e cora o linfonodo sentinela permitindo sua identificação (SANTOS, 2009).

NOS et al. (1999) mostraram-se estimulados com os resultados obtidos usando só o Azul Patente embora, com 87,7% de identificação e a acurácia quanto ao linfonodo sentinela foi de 97,1%.

A combinação do mapeamento linfático com o corante vital e detecção gama intraoperatório na biópsia do linfonodo sentinela foi mostrado como uma combinação mais sensível dos métodos de detecção do linfonodo sentinela. A precisão para localizar o linfonodo sentinela com esta associação é alta, oscilando entre 98-100% (MARIANI et al., 2002).

A técnica combinada de sulfeto de antimônio [$Tc-99m$] associada ao Azul Patente mostrou-se viável, de baixo custo e confiável, sendo um método alternativo eficaz na detecção do linfonodo sentinela (OLIVEIRA FILHO et al., 1994).

Morton, (1999) propôs e em seguida provou, a validade desta técnica usando o Azul Patente V, tanto nos estudos animais como em humanos.

No experimento constatou-se que houve uma alta concordância entre o que foi observado no lado direito e esquerdo das cadelas, tanto no que diz respeito à radiação, coloração por Azul Patente (Figura 14) e na intercessão dos métodos (Figura 15).

O emprego das técnicas combinadas, corante e radiofármaco, para identificação do linfonodo sentinela melhorou a taxa de identificação e diminuiu a taxa de falsos negativos na biópsia do linfonodo sentinela (CSERNI et al., 2002; GOYAL et al., 2006). Alguns autores usam as duas técnicas como complementares na biópsia do linfonodo sentinela (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 biópsia do linfonodo sentinela (CODY et al., 2001).

A pesquisa do linfonodo sentinela associado com Azul Patente e Tecnécio(^{99m}Tc), apresenta sensibilidade de 91 a 100% e especificidade de 98 a 100%, tem grande acurácia como método de avaliação do estado linfonodal das cadeias inguinais, nos estágios Ec Ib e II, cujas lesões unifocais são menores que 4 cm. (Manual de condutas do Hospital A. C. Camargo, Departamento de Ginecologia, 2010).

No nosso experimento a comparação entre os métodos obtidos pelas duas técnicas, mostrou que o Azul Patente tem uma elevada acurácia (94%), indicando uma boa concordância com a radiação. Foi observado também que principalmente na identificação dos casos positivos houve uma elevada sensibilidade (95,7%), enquanto que a identificação de casos negativos foi média, com uma especificidade de (66,7%). Não houve diferença significativa entre os dois métodos ($p=1,0$), Azul Patente e Tecnécio(^{99m}Tc), pelo teste de McNemar (Tabela 4).

A tendência dos resultados na literatura médica e abordagem do conceito contemporâneo para as cirurgias não-invasivas ou minimamente invasivas (DURSUN; AYHAN, 2008; DURSUN; NOGUEIRA, 2007), demonstra que a biópsia do linfonodo sentinela, que é minimamente invasiva, reduz a radicalidade, individualiza o paciente e o tratamento, mas é um método que precisa ser concentrado e desenvolvido como uma alternativa à linfadenectomia, que é considerada uma grande cirurgia. Contudo, há condições que devem ser cumpridas para garantir a aplicabilidade do conceito de sucesso da biópsia de linfonodo sentinela em câncer ginecológico e sua substituição de métodos convencionais de longo prazo. Uma delas inclui o aumento do número de experiências relacionadas com o método, e apresentação de mais resultados de estudos randomizados. É necessário estabelecer normas no domínio do exame histopatológico, desenvolver os exames de congelação, para identificar as micrometástases e incorporar o departamento de física nuclear para determinar o tamanho de partícula ideal de traçadores radioativos. A Curva de aprendizagem também é fundamental. Tudo isso requer, ainda, incluir não apenas os oncologistas ginecológicos, mas também histopatologistas e especialistas em física nuclear. (AYHAN et al., 2008)

Embora não tenha uma longa história de avaliação do linfonodo sentinela em mulheres com câncer ginecológico, há um número crescente de resultados de estudos promissores, apesar da presença de alguns aspectos que precisam ser considerados e desenvolvidos, como ter sido mais comumente usado em câncer

vulvar e cervical uterino em oncologia ginecológica. Segundo esses estudos, quase todos estão em perspectivas. A sensibilidade e especificidade da taxa de detecção do linfonodo sentinela foi relatado em 100%, exceto para alguns casos. Nos estudos sobre o câncer de colo do útero, as taxas de detecção do linfonodo sentinela foram relatados cerca de 80-86%, um pouco inferiores aos do câncer de vulva, e o valor preditivo negativo tem sido relatado em cerca de 99%, sendo relativamente novo no câncer de endométrio, onde sua taxa de detecção varia entre 50 e 80%. Estudos sobre melanoma vulvar e vaginal são, em geral, relatados. Apesar de não ter sido apoiado com estudos multicêntricos, randomizados e controlados, incluindo maior número de casos, os resultados do estudo relatado por vários centros ao redor do mundo são particularmente harmoniosos, no câncer de vulva, e câncer de colo do útero. Mesmo que não pareça possível substituir os métodos tradicionais nesses dois tipos de câncer, de certa forma é uma alternativa séria para o futuro. Acredita-se que é importante apoiar os estudos que irão fortalecer os pontos fracos do método, entre os quais a detecção de micrometástases aumentando assim as taxas de detecção, e torná-lo útil cada vez mais na prática clínica rotineira. (AYHAN et al., 2008).

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

O modelo experimental apresentado foi capaz de definir o linfonodo sentinela utilizando o Azul Patente e Tecnécio(^{99m}Tc) na vulva da cadela.

1. A identificação do linfonodo sentinela é exequível com Azul Patente no mapeamento da cadeia linfática;
2. O mapeamento linfático com Tecnécio(^{99m}Tc), permite identificar com detalhes o sistema de drenagem linfática.
3. Não houve diferença significativa entre os dois métodos ($p=1,0$), Azul Patente e Tecnécio(^{99m}Tc).

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ALBERTINI, J. J.; LYMAN, G. H.; COX, C.; YEATMAN, T.; BALDUCCI, L.; KU, N.; SHIVERS, S.; BERMAN, C.; WELLS, K.; RAPAPORT, D.; SHONS, A.; HORTON, J.; GREENBERG, H.; NICOSIA, S.; CLARK, R.; CANTOR, A.; REINTGEN, D. S. Lymphatic mappings and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. **JAMA**. v. 276, n. 22, p. 1818-1822, 1996.
- ALBERTINI J. J.; CRUSE, C. W.; RAPOPORT, D. WELLS K, ROSS, M.; DeCONTE, K.; BERMAN, C. G.; JARDK, MESSINA; LYMAN, G.; GLASS, F.; FENSKN, REINTAENDS. Intraoperative radio- lymphoscintigraphy improves sentinel node identification for patients with melanoma. **Ann Surg**. v. 223, p. 217-224, 1996.
- ALEX, J. C.; KRAG, D. N. The Gamma-probe-guided resection of radiolabeled primary lymph nodes. **Surg. Oncol. Clin. North Am**. v. 5, n. 1, p. 33-41, 1996.
- ALEX, J. C.; KRAG, D. N. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. **Surg. Oncol**. v. 2, p. 137-143, 1993.
- ALEX, J. C.; WEAVER, D. L.; FAIRBANKS, J. T.; RANKIN, B. S.; KRAG, D. N. Gamma-probe guided lymph node localization in malignant melanoma. **Surg. Oncol**. v. 2, p. 303-308, 1993.
- ANDREWS, S. J.; WILLIAMS, B. T.; DEPRIEST, P. D.; GALLION, H. H.; HUNTER, J. E.; BUCKLEY, S. L.; KRYSCIO, R. J.; VAN NAGELL, J. R. Therapeutic implications of lymph nodal spread in lateral T1 and T2 squamous cell carcinoma of the vulva. **Gynecol. Oncol**. v. 55, p. 41-46, 1994.
- ANSINK, A. C.; Sie-Go DMDS, VAN DER VELDEN, J. et al. Identificação de linfonodos sentinelas em pacientes com carcinoma vulvar com a ajuda de injeção de azul patente. **Cancer**, v. 86, p.652-656,1999.
- AYHAN, ALI; HUSNU, CELIK; DURSUN, POLAT. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in gynecological cancers: a critical review of the literature. **Sur. Oncol. J**. v. 6, p. 53, 2008.
- BELL, J. G.; LEA, J. S.; REID, G. C. Complete groin lymphadenectomy with preservation of the fascia lata in the treatment of vulvar carcinoma. **Gynecol. Oncol**. v. 77, p. 314-318, 2000.
- BILCHIK, A. J.; GIULIANO, A.; ESSNER, R.; BOSTICK, P.; KELEMEN, P.; FOSHAG, L. J.; SOSTRIN, S.; TURNER, R. R.; MORTON, D. L. Universal application of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in solid neoplasms. **Cancer J. Sci. Am**. v. 4, n. 6, p. 351-358, 1998.
- BLESSING, W. D.; STOLIER, A. J.; TENG, S. C.; BOLTON, J. S.; FUHRMAN, G. M. A comparison of methylene blue and lymphazurin in breast cancer sentinel node mapping. **Am. J. Surg**. v. 184, n. 4, p. 341-345, 2002.

BOXEN, I.; MACCREADY, D.; BALLINGER, J. R. Sentinel node detection and definition may depend on the imaging agent and timing. **Clin. Nucl. Med.** v. 24, p. 390-394, 1999.

BRAITHWAITE, L. R. Flow of lymph from the ileocecal angle. **Br. J. Surg.** v.11, p. 7-26, 1923.

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

CALANDRA, D. SARMATINO, R. Enfermidades de la vulva. Ediciones M. Segura. Buenos Aires, 1959.

CANAVAN, T. P.; COHEN, D. Vulvar cancer. **Rev. Am. Fam. Physician.** v. 66, n. 7, p.1269-1274, 2002.

CARCOPINO, X.; HOUVENAEGHEL, G.; BUTTARELLI, M. et al. Viabilidade e Morbidade de detecção do linfonodo sentinela em pacientes com carcinoma vulvar. **Bulletin du Cancer.** v. 92, p. 489-497, 2005.

CHERPELIS, B. S.; HADDAD, F.; MESSINA, J.; CANTOR, A. B.; FITZMORRIS, K.; REINTGEN, D. S.; FENSKE, N. A.; GLASS, L. F.; TAMPA, F. Sentinel lymph node micrometastasis and other histologic factors that predict outcome in patients with thicker melanomas. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 44, n. 5, p. 762-766, May 2001.

CHUNG AF, Woodruff JM, Lewis JL JR. Malignant melanoma of the vulva. **Obstet. Gynecol.** p. 638-646, 1975.

COCHRAN, A. J.; BALDA, B. R.; STARZ, H.; BACHTER, D.; KRAG, D. N.; CRUSE, C. W.; PIJPERS, R.; MORTON, D. L. The Augsburg consensus: Techniques of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy, and completion lymphadenectomy in cutaneous malignancies. **Cancer**, v. 89, n. 2, p. 236-241, 2000.

CODY, H. S. Complementary use 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.

COLEMAN, R. L.; SANTOSO, J. T. Vulvar carcinoma. **Curr. Treat. Opin. Oncol.** v. 1, p. 177-190, 2000.

COSTA, F. E.; REAL, P. R.; OLIVEIRA, I. B.; PEREIRA, M. C. C.; HAMADA, M. M. Gama com sonda cirúrgica TlBr semicondutores para a identificação do linfonodo sentinela. **IEE Trans Sci Nucl.** v. 53, n. 3, p. 1403-1407, 2006.

CRAMER, D. W. Epidemiology of the gynecologic cancers. **Compr. Ther.** v. 4. p. 9-17, 1978.

CRUM, C. P. Carcinoma of the vulva: epidemiology and pathogenesis. **Obstet. Gynecol.** c. 79. v. 3. p. 448-454, 1992.

CSERNI, G. 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.

DECESARE, S. L.; FIORICA, J. V.; ROBERTS, W. S., et al. Um estudo piloto utilizando linfocintilografia intraoperatória para a identificação do linfonodo sentinela no câncer vulvar. **Gynecol Oncol.** v. 66, p. 425-428, 1997.

D'EREDITA, G. 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, 2002.

DE HULLU, J. A.; HOLLEMA, H.; PIERS, D. A.; VERHEIJEN, R. H.; van Diest P. J.; MOURITS, M. J.; AALDERS, J. G.; VAN DER ZEE, A. G. Sentinel lymph node procedure is highly accurate in squamous cell carcinoma of the vulva. **J Clin Oncol.** v. 18, n. 15, p. 2811-2816, 2000 Aug.

DE HULLU, J. A.; HOLLEMA, H.; LOLKEMA, S.; BOEZEN, M.; BOONSTRA, H. BURGER, M. P. Vulvar carcinoma. The price of less radical surgery. **Cancer**, v. 95, p. 2331-2338, 2002.

DE HULLU, J. A.; VAN DER ZEE, A. G. Sentinel node techniques in cancer of the vulva. **Curr. Women's Health Rep.** v. 3, p. 19-26, 2003.

DE HULLU, J. A.; VAN DER ZEE, A. G. J. Cirurgia e radioterapia no câncer vulvar. **Oncologia Hematologia.** v. 60, p. 38-58, 2006.

DEROSSIS, A. M.; FEY, J.; YEUNG, H.; YEH, S. D.; HEERDT, A. S.; PETREK, J.; VANZEE, K. J.; MONTGOMERY, L. L.; BORGAN, P. I.; CODY, H. S. A trend analysis of the relative value of blue dye and isotope localization in 2000 consecutive cases of sentinel node biopsy for breast cancer. **J. Am. Coll. Surg.** v. 193, n. 5, p. 473-478, 2001.

DISAIA, P. J.; CREASMAN, W. T. Invasive cancer of the vulva. In: _____. **Clinical gynecologic oncology.** 3rd ed. St Louis: Mosby, 1989. p. 241-272.

DISAIA, P. J.; CREASMAN, W. T. Invasive cancer of the vulva. In: _____. **Clinical gynecologic oncology.** 4th ed St. Louis: Mosby Year Book, 1993. p. 238-272.

DOUAY-HAUSER, Nathalie; AKERMAN, GREGORY; TULPIN, LUCE; MOREL, OLIVIER; MALARTIC, CÉCILE; DESFEUX, PATRICE, BARRANGER, EMMANUEL. La technique du ganglion sentinelle dans le cancer de la vulve : état des lieux. **Boletim du Cancer.** v. 95, n. 7, p. 701-706. Juillet-août, 2008, Synthèse

DURSUN, P.; LEBLANC, E.; NOGUEIRA, M. C. Review radical trachelectomia vaginal (Dargent's operation): a critical review of the literature. **Eur J. Surg. Oncol.** v. 33, p. 933, oct. 2007.

DURSUN, P.; AYHAN, A. KUSCU E. New surgical approaches for the management of cervical carcinoma. **Eur J. Surg. Oncol.** v. 34, p. 487-496, 2008.

- EAST, J. M.; VALENTINE, C. S.; KANCHEV, E.; BLAKE, G. O. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer using methylene blue dye manifests a short learning curve among experience surgeons: **BMC Surgery**. v. 9, p. 2, 2009.
- ELCHALAL, U. et al. Treatment of vulvar lichen sclerosus in the elderly: **on update. Obstet and Gynecol Survery**. v. 50. p. 155, 1995.
- ERICKSON, V. S. Arm edema in breast cancer patients. **J. Natl. Cancer Inst.** v. 93, n. 2, p. 96-111, 2001.
- FILLIPPAKIS, G. M.; ZOGRAFOS, G. Contraindications of sentinel lymph node biopsy: are there any really? **World J. Surg. Oncol.** v. 5, p. 10, 2007.
- FISHER, B.; FISHER, E. R. Barrier function of lymph node tumor cells and erythrocytes. **Cancer**, v. 20, p.1907-1913, 1967.
- GALIMBERTI, V.; VERONESI, P.; ARNONE, P.; DE CICCIO, C.; RENNE, G.; INTRA, M.; ZURRIDA, S.; SACCHINI, V.; GENNARI, R.; VENTO, A.; LUINI, A.; VERONESI, U. Stage migration of the biopsy of the internal mammary chain lymph nodes in breast cancer patients. **Ann. Surg. Oncol.** v. 9, n. 9, p. 924-928, 2002.
- GENNARI, R.; SCELSI, M.; GRECO, B.; COSTA, A. Complete node stagind in male breast cancer. **J. Exp. Clin. Cancer Res.** v. 23, n. 1, p. 163-165, 2004.
- GERSHENWALD, J. E.; THOMPSON, W.; MANSFIELD, P. F.; LEE, J. E.; COLOME, M. I.; TSENG, C. H.; LEE, J. J.; BALCH, C. M.; REINTGEN, D. S.; ROSS, M. I. Multi institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph nodes status in 612 stage I or II melanoma patients. **J. Clin. Oncol.** v. 17, p. 976-983, 1999.
- GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1975.
- GIULIANO, A. E.; Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further dissection in patients with sentinel node negative breast cancer. **J. Clin. Oncol.** v. 18, n. 13, p. 2553-2559, 2000.
- GIULIANO, A. E.; KIRGAN, D. M.; GUENTHER, J. M.; Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy of breast cancer. **Ann. Surg.** v. 220, n. 3, p. 391-491 setembro, 1994.
- GOLDSTONE, J. Veias e linfáticas, In: Lawrence W. Way. Cirurgia diagnóstico e tratamento. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 38, p. 561-578, 1991.
- GOSLING, J. R. G. et al. Infiltrative squamous cell (epidermoid) cancer of vulva. **Cancer**. v. 14. p. 330-343, 1961.
- GOULD, E. A.; WINSHIP, T.; PHILBIN, P. H.; KERR, H. H. Observations on a sentinel node in cancer of the parotid. **Cancer**, v. 13, p. 77-78, 1960.
- GOULD, N.; KAMEL, S.; TILLMANNNS, T. Preditores de complicações após linfadenectomia inguinal. **Gynecol Oncol.** v. 82, p.329-32, 2001.

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

GREEN, T. H. Carcinoma of the vulva a reassessment: **Obstet. Gynecol.** v. 52, p. 462, 1978.

HACKER, N.F. Câncer vulvar. In: BEREK, J.S.; ADASHI, E. Y.; HILLARD, P. A. **Novak:** tratado de ginecologia. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 34, p. 872-892, 1998.

HACKER, N. F.; LEUCHTER, R. S.; BEREK, J. S.; CASTALDO, T. W.; LAGASSE, L. D.; Radical vulvectomy and bilateral inguinal lymphadenectomy through separate groin incisions. **Obstet. Gynecol.** v. 58, p. 574-579, 1981.

HASLTED, W. S. I. The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at the Johns Hopkins from June 1889 to January 1894. **Ann. Surg.** v. 20, n. 5, p. 497-555, 1894.

HAUSPY, J.; BEINER, M.; HARLEY, I.; EHRLICH, L.; RASTY, G.; COVENS, A. Linfonodo sentinela no câncer vulvar. **Cancer.** v. 110. p. 1015-1023, 2007.

HELLMAN, S. Natural history of small breast cancer. **Clin. Oncol.** v.12, p. 2229-2234, 1994.

HENSON, D. E TARONE, R. An epidemiologic study of cancer of the cervix, vagina, and vulva based upon the Third National Cancer Survey in the United States. **Am. J. Obstet. Gynecol.** v. 129. p. 525-532, 1990.

HOFFMAN, E. J.; TORANAI, M. P.; JANECEK, M.; PATT, B. E.; IWANCZYK, J. S. Intraoperative probes and imaging probes. **Eur. J. Nucl. Med.** v. 26, p. 913-935, 1999.

HOPKINS, M. P.; REID, G. C.; MORLEY, G. W. The surgical management of recurrent squamous cell carcinoma of the vulva. **Obstet Gynecol.** v. 75, p.1001-1005, 1990.

HOMESLEY, H. D.; BUNDY, B. N.; SEDLIS, A.; YORDAN, E.; BEREK, J. S.; JAHSHAN, A.; Assesment of current international federatcion of gynecology and obstetrics staging of vulvar carcinoma relative to prognostic factors for survival (a Gynecologic Oncology Group study). **Am J Obstet Gynecol.** v. 164, p. 997-1003, 1991.

JANNINK I., FAN, M. NAGY, S. et al. Serial selectioning 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.; KAPTEIJN, A. E.; VALDE OLMOS, R. A. et al. Reliability of lymphoscintigraphy in indicating the number of sentinel nodes in melanoma patients. **Ann. Surg. Oncol.** v.7, p. 624-630, 2000.

KANISHKA KARUNARATNE. Squamous cell vulvar cancer. **Sri Lanka Journal of Obstetrics and Gynaecology**. v. 33. p. 30-32, 2011.

KAPTEIJN, B. A. E.; NIEWEG, O. E.; LIEM, I. L.; MOOI, W. J.; BALM, A. J. M.; MULLER, S. H.; PETERSE, J. L.; OLMOS, R. A. V.; HOEFNAGEL, C. A.; KROO, B. B. R. Localizing the sentinel node in cutaneous melanoma: gamma probe detection versus blue dye. **Ann. Surg. Oncol.** v. 4, p. 156-160, 1997.

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

KATZ, A.; EIFEL, P. J.; JHINGRAN, A.; LEVENBACK, C. F. The role of radiation therapy in preventing regional recurrences of invasive squamous cell carcinoma of the vulva. **Int J. Radiat Oncol Biol Phys**. v. 57, p. 409-418, 2003.

KIRBY, T. O.; P. R. ROCCON NUMNUM T. M.; J. E. KENDRICK; WRIGHT, J.; FOWLER, W. et al. Outcomes of stage I/II vulvar cancer patients after negative superficial inguinal lymphadenectomy. **Gynecol Oncol**. v. 98, p. 309-12, 2005.

KRAG, D. N. Minimal access surgery for staging regional lymph nodes: the sentinel-node concept. **Curr. Probl. Surg**. v. 35, p. 951-1016, 1998.

KRAG, D. N.; SYBREN, J. M.; WEAVER, D. L.; LOGGIE, B. W.; HARLOW, S. P.; TANABE, K. K.; LAUGHLIN, E. H.; ALEX, J. C. Minimal access surgery for staging of malignant melanoma. **Arch. Surg**. v. 130, p. 654-658, 1995.

KRAG, D. N.; WEAVER, D. L.; ALEX, J. C.; FAIRBANK, J. T. 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, 1993.

KU, N. N. K. Pathologic examination of sentinel lymph nodes in breast cancer. **Surg. Oncol. Clin. North Am.** v. 8, p. 469-479, 1999.

LEIBOWITZ, M. NEIL, S.; PELISSE, M. et al. The epithelial changes associated with squamous cell carcinoma of the vulva; a review of the clinical, histological and viral findings in 78 women. **Br. J. Obstet. Gynecol.** v. 97. p. 1135-1139, 1990.

LEONG, S. P. L. The role of sentinel lymph nodes in human solid cancer. In: DEVITA, V. T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S. A. (Ed.). **Principles and practice of oncology**. Amsterdam: Elsevier. v. 12, n. 4, p. 1-12, 1998.

LEVENBACK, C.; BURKE, T. W.; GERSHENSON, D. M.; MORRIS, M.; MALPICA, A.; ROSS, M. I. Intraoperative lymphatic mapping for vulvar cancer. **Obstet. Gynecol.** v. 84, p.163-167, 1994.

LEVENBACK, C.; COLEMAN, R. L.; BURKE, T. W.; BODURKA-BEVERS, D.; WOLF, J. K.; GERSHENSON, D. M. Intraoperative lymphatic mapping and sentinel node identification with blue dye in patients with vulvar cancer. **Gynecol. Oncol.** v. 83, n. 2, p. 276-281, 2001.

LIMA, C. F.; CHRISTO, R. C.; FARIAS, M. S.; MARTINS, J. C. B.; CHAGAS, J. D. M.; BARBOSA, S. F.; MORAES, R. F.; BRAGA, H. M.; REZENDE, M. O.; BARROSO, A. A. Medicina nuclear: contribuição no estadiamento do melanoma de vulva (relato de caso). In: ALASBIMN CONGRESS NUCLEAR MEDICINE, 16., 1999, Belo Horizonte. **Abstracts...** Belo Horizonte: Nuclear Medcenter Hospital, 1999.

LOUIS-SYLVESTRE, C. E EVANGELISTA, LEONARDO, F.; ITTI, E.; MEIGANAN, M.; PAINEL, B. J. Interpretação da identificação do linfonodo sentinela em câncer vulvar. **Gynecol Obstet Fertil.** v. 34. p. 706-710, 2006.

LUCCI, A.; McCALL, L. M.; BEITSCH, P. D.; WHITWORTH, P. W.; REINTGEN, D. S.; BLUMENCRANZ, P. W.; LEITCH, A. M.; SAHA, S.; HUNT, K. K.; GIULIANO, A. E. Surgical complications associated with sentinel lymph node dissection (SLND) plus axillary lymph node dissection compared with SLND alone in the American College of Surgeons Oncology Group Trial Z0011. **J. Clin. Oncol.** v. 25, n. 24, p. 3657-3663, 2007.

LUCIA, M. A. Crame; GEORGE Themelis, K. Tim Buddingh; NIELS, J. Harlaar; RICK, G. Pleijhuís; ATHANASÍOS Sarantopoulos; ATE, G. J. VAN DER ZEE; VASILIS Ntziachristos; GOOITZEN, M. van Dam. Imagens em tempo real multiespectrais de fluorescência para detecção intraoperatória do linfonodo sentinela em Oncologia Ginecológica. **World J. Surg. Oncol.** v. 6. p. 53. 2010.

MANUAL DE CONDUTAS EM GINECOLOGIA ONCOLÓGICA. Hospital A. C. Camargo, Departamento de Ginecologia. 1 ed. São Paulo: FAP, 2010.

MARIANI, G.; GIPPONI, M.; MORESCO, L.; VILLA, G.; BARTOLOMEI, M.; MAZZAROL, G.; BAGNARA, M. C.; ROMANINI, A.; CAFIERO, F.; PAGANELLI, G.; STRAUSS, H. W. Radioguided sentinel lymph node biopsy in malignant cutaneous melanoma. **J. Nucl. Med.** v. 43, n. 6, p. 811-827, 2002.

MARIANI, G.; MORESCO, L.; VIALE, G.; VILLA, G.; BAGNARA, M. C.; CANAVESE, G.; BUSCOMBE, J.; STRAUSS, H. W.; PAGANELLI, G. Radioguided sentinel lymph node biopsy in breast cancer surgery. **J. Nucl. Med.** v. 42, n. 8, p. 1198-1215, 2001.

McMASTERS, K. M.; TUTTLE, T. M.; CARLSON, D. J.; BROWN, C. M.; NOYES, R. D.; GLASER, R. L.; VENNEKOTTER, D. J.; TURK, P. S.; TATE, P. S.; SARDI, A.; CERRITO, P. B.; EDWARDS, M. J. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer: a suitable alternative to routine axillary dissection in multi-institucional practice when optimal technique is used. **J. Clin. Oncol.** v. 18, n. 13, p. 2560-2566, 2000.

MICHELETTI, L.; LEVI, A. C.; BOGLIATTO, F.; PRETI, M.; MASSOBRIO, M. Rationale and definition of the lateral extension of the inguinal lymphadenectomy for vulvar cancer derived from an embriological and anatomical study. **J. Surg. Oncol.** v. 81, p. 19-24, 2002.

MONAGHAN, J. M. The management of carcinoma of the vulva. In: Sheperd JD, Monaghan JM (eds). *Clinical Gynecologic*, 2. ed. London: Blackwell. p. 140-167, 1990.

MONTGOMERY, L. L. Isosulfan blue dye reactions during sentinel lymph node mapping for breast cancer. **Anesth Analg.** p. 385-388, 2002.

MOORE, R. G.; DEPASQUALE, S. E.; STEINHOFF, M. M.; GAJEWSKI, W.; STELLER, M.; NOTO, R. Sentinel node identification and the ability to detect metastatic tumor to inguinal lymph nodes in squamous cell cancer of the vulva. **Gynecol Oncol.** v. 89. p. 475-479, 2003.

MORROW, M. A. W.; RADEMAKER, A. W.; BETHKE, K. P.; TALAMONTI, M. S.; DAWES, L. G.; CLAUSON, J.; HANSEN, N. Learning sentinel node biopsy: results of a prospective randomized trial of two techniques. **Surgery.** v. 126, n. 4, p. 714-720, 1999.

MORTON, D. L.; THOMPSON, J. F.; ESSNER, R.; ELASHOFF, R.; STERN, S. L.; NIEWEG, O. E.; ROSES, D. F.; KARAKOUSIS, C. P.; MOZZILLO, N.; REINTGEN, D.; WANG, H. J.; GLASS, E. C.; COCHRAN, A. J. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma. **Ann.Surg.** v. 230, p. 453-465, 1999.

MORTON, D. L.; WEN, D. R.; WONG, J. H.; ECONOMOU, J. S.; CAGLE, L. A.; STORM, F. K.; FOSHAG, L. J.; COCHRAN, A. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. **Arch. Surg.** v. 127, n. 4, p. 392-399, 1992.

MORTON, D.L.; OLLILA D. Rationale for sentinel node biopsy and its role in planning the treatment of patients with clinically negative nodes. In: Abstracts of The 1st International Symposium on Melanoma, **WHO**, Rome, Italy. p. 37-38, 1998.

NOS, C.; BOURGEIOS, D.; FRENEAUX, P. et al. Identification of sentinel lymph node in breast cancer: experience from the Institute Curie. **Bull Cancer.** v. 86. p. 580-584, 1999.

NORMAN, J.; CRUSE, C. W.; EPINOSA, C. Redefinition of cutaneous lymphatic drainage with the use of lymphoscintigraphy for malignant melanoma. *Am. J. Surg.* v. 162, p. 432-437, 1991. OFFICE OF NATIONAL STATISTICS (ONS). **Cancer Statistic Registrations.** Series NBI, Number 30.2002. Disponível em: <www.Statistic.gov.uk>.

OLIVEIRA FILHO, R. S.; TOVO FILHO, R.; ETO, C. M.; BORTOLETTO, M. C. C. Mapeamento linfático intraoperatório para melanoma estágio clínico I: uma técnica promissora. **An. Bras. Dermatol.** Rio de Janeiro, v. 69, n. 6, p. 477-481, nov./dez.1994.

OLIVEIRA-FILHO, R. S. Perspectivas da técnica de pesquisa do linfonodo sentinela na cirurgia oncológica. Editorial. **Acta Oncol. Bras.** v.17, p. 51, 1997.

OLIVEIRA FILHO, R. S.; SANTOS, I. D. A. O.; FERREIRA, L. M.; ALMEIDA, F. A.; ENOKIHARA, M. M. S. S.; BARBIERI, A.; TOVO FILHO, R. Is intra-operative gamma-probe detection really necessary for inguinal lymph node biopsy? **São Paulo Med. J.** v. 118, p.165-168, 2000.

OONK, Maaike H. M.; van de NIEUWENHOF, Hedwig P.; VAN DER ZEE, Ate G. J.; DE HULLU, Joanne A. **Expert Review of Anticancer Therapy**. v. 10, January: Expert Reviews. v. 9, p. 61-69, 2010.

ONNIS A, Marchetti M, Maggino T. Carcinoma of the vulva: critical analysis of survival and treatment of recurrences. *Eur J Gynaecol Oncol*. v.13, p. 480-5, 1992.

PECORELLI S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynaecol Obstet*. v. 105, p. 103-104, 2009.

PEREIRA, C. T. **Avaliação cintilográfica da vascularização e drenagem linfática de glândulas mamárias de cadelas**. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PETERS, R. K.; MACK, T. M.; BERNSTEIN, L. Parallels in the epidemiology of selected anogenital carcinomas. *J. Natl. Cancer Inst*. v. 72, p. 609-615, 1984.

PIJPERS, R.; BORGSTEIN, P. J.; TEULE, G. J. J.; MEIJER, S. Vital dye and radiolabelled colloids - Complement or alternative? In: _____. **Recent Results in Cancer Research**. Heidelberg: editora. v. 17, p.131-137, 2000.

PINHEIRO, L. G. P. et al. Estudo experimental de linfonodo sentinela na mama da cadela com azul patente e tecnécio (^{99m}Tc). *Acta Cirúrgica Brasileira*. v. 18. n. 6. p. 514-516, 2003.

PINHEIRO, L. G. P.; OLIVEIRA FILHO, R. S.; VASQUES, P. H. D.; FILGUEIRA, P. H. O.; ARAGÃO, D. H. P.; BARBOSA, P. M. E.; BESERRA, H. E. O.; CAVALCANTE, R. V. Hemosiderin: A new marker for sentinel lymph node identification. *Acta Cir. Bras*. v. 24, n. 6, p. 432-436, 2009.

PLANTE, M.; RENAUD, M. C.; ROY, M. Sentinel node evaluation in gynecologic cancer. *Oncology*. v. 18, n. 1, p. 75-87, p. 88-99, p. 95-96, 2004.

PODRATZ, K. C.; SYMMONDS, R. E.; TAYLOR, W. F. Carcinoma of the vulva: analysis of treatment failures. *Am. J. Obstet. Gynecol*. v. 143, p. 340-351, 1982.

PODRATZ, K. C.; SYMMONDS, R. E.; TAYLOR, W. F. Carcinoma of the vulva: analysis of treatment failures. *Am. J. Obstet. Gynecol*. v. 61, p. 63-74, 1983.

PODRATZ, K. C.; SYMMONDS, R. E.; TAYLOR, W. F.; WILLIAMS, T. J. Carcinoma of the vulva: analysis of treatment and survival. *Obstet. Gynecol*. v. 61, p. 63-74, 1983.

PUIG-TINTORÉ, L. M.; ORDI, J.; VIDAL-SICART, S.; LEJARCEGUI, J. Á.; TORN, A.; PAHISA, J. et al. Further data on the usefulness of sentinel lymph node identification and ultrastaging in vulvar squamous cell carcinoma. *Gynecol. Oncol*. v. 88, p. 29-34, 2003.

RHODES, C. A. The management of squamous cell vulvar cancer. *British Journal of Obstetrics and gynecology*. February. v. 105, p. 200-205, 1998.

ROBISON, KATINA; HOLMAN; LAURA L.; MOORE; RICHARD G. Update on sentinel lymph node evaluation in gynecologic malignancies. **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**: v. 23. n.1. p. 8-12. February, 2011.

ROSE, P.G. Skin bridge recurrences in vulvar cancer: frequency and management. **Int J Gynecol Cancer**. v. 9, p. 508-511, 1999.

ROSS, M. I. **Sentinel node mapping for early-stage melanoma**. In: Perry M. C. (ed) ASCO Educational Book. Alexandria, V. A. p. 326-330, 1997.

ROUZIER, R.; HADDAD, B.; DUBERNARD, G.; DUBOIS, P.; PANIEL, B. J. Inguinofemoral dissection for carcinoma of the vulva: effect of modifications of extent and technique on morbidity and survival. **J Am Coll Surg**. v. 196, p. 442-450, 2003.

SANTOS, P. C.; SANTOS, I. D.; NAHAS, F. X.; OLIVEIRA FILHO, R. S.; FERREIRA, L. M. National equipment of intraoperative gamma detection in the identification of sentinel lymph node in animal model. **Acta Cir. Bras.**, v. 24, n. 3. p. 195-199, 2009.

SCHERER, K.; STUDER, W.; FIGUEIREDO, V.; BIRCHER, A. J. Anaphylaxis to isosulfan blue and cross-reactivity to patent blue V: case report and review of the nomenclature of vital blue dyes. **Ann. Allergy Asthma Immunol**. v. 96, n. 3, p. 497-500, 2006.

SENER, S. F.; MILOS, S.; FELDMAN, J. L.; MARTZ, C. H.; WINCHESTER, D. J.; DIETERICH, M.; LOCKER, G. Y.; KHANDEKAR, J. D.; BROCKSTEIN, B.; HAID, M.; MICHEL, A. The spectrum of vascular lesions in the mammary skin, including angiosarcoma, after breast conservation treatment for breast cancer. **J. Am. Coll. Surg**. v. 193, n. 1, p. 22-28, 2001.

SEPPANEN, M.; VIHKO, K. K. Activation of transcription factor NF-KappaB by growth inhibitory cytokines in vulvar carcinoma cells. **Immunol. Lett**. v. 74, n.2, p. 103-109, 2000.

SILVA, C. R.; CALDEIRA DE ARAUJO, A.; BERNARDO FILHO, M. Efeitos biológicos das aplicações diagnosticas do Tecnécio(^{99m}Tc). **Alasbimn, J**. v. 4, c. 14, 2002.

SINZINGER, Helmut; GRANEGGER, Susane; PALUMBO, Barbara; PALUMBO, Renato. Problems and pitfalls in vulvar and cervical cancer sentinel node scintigraphy. **Braz. Arch. biol. Technol**. v. 51, p. 39-44, 2008.

SLIUTZ, G.; REINTHALLER, A.; LANTZSCH, T., et al. Mapeamento linfático do linfonodo sentinela no câncer vulvar. **Gynecol Oncol**. v. 82, p. 449-452, 2002.

SOBIN L. H.; Wittekind C, editors. UICC TNM classification of malignant tumors. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons, 2002.

SOHAIB, S. A.; MOSKOVIC, E. C. Imaging in vulvar cancer. **Best Pract Res Clin Obstetric Gyaecol**. v. 17, n. 4, p. 543-556, 2003 Aug.

STEHMAN, F. B.; BUNDY, B. N.; THOMAS, G. Groing dissection versus groin radiction in carcinoma of the vulva Group Study Gynecology Oncology. **Int J. Oncol Biol Phys Radiat.** v. 24, p. 389-96, 1992.

STINCHCOMB, EDWARDS BK (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2007, Instituto Nacional de Câncer. Bethesda, M. D. Disponível em: < http://seer.cancer.gov/csr/1975_2007/ com base em novembro de 2009 a apresentação de dados do SEER, lançada no site do SEER, 2010>. Acesso em: 08 set. 2011

STRADLING B.; ARANHA, G.; GRABAM, S. Adverse skin lesions after methylene blue injections for sentinel lymph node localization. **Am J Surg.**, p. 350-352, 2002.

TAUSSIG, F. J. A study of lymph glands in cancer of the cervix and cancer of the vulva. **Am J. Obstet Gynecol.** v. 36, p. 1319, 1958.

TEMPLE, L. K.; BARON, R.; CODY, H. S.; FEY, J. V.; THALER, H. T.; BORGEM, P. I.; HEERDT, A. S.; MONTGOMERY, L. L.; PETREK, J. A.; VAN ZEE, K. J. Sensory morbidity after sentinel lymph node biopsy and axillary dissection: a prospective study of 233 women. **Ann. Surg. Oncol.** v. 9, n. 7, p. 654-662, 2002.

TERADA, K. Y.; SHIMIZU, D. M.; JIANG, C. S.; WONG, J. H. Resultados para pacientes com câncer de células escamosas T1 da vulva Submetidos a biópsia do linfonodo sentinela. **Gynecol Oncol.** v. 102. p. 200-203, 2006.

TOLOSA, E. M. C. A técnica cirúrgica, a cirurgia experimental e os animais de experimentação. **Jornal da Tarde.** Caderno da tarde, 7^a, 2000.

TUOHY, J. L.; MILGRAN, J.; WORLEY, D. R.; DERNELL, W. S. A review of sentinel lymph node evaluation and the need for its incorporation into veterinary oncology. **Vet. Comp. Oncol.** v. 7, n. 2. p. 81-91, 2009.

TURNER, R. R.; OLLILA, D. W.; KRASNE, D. L.; GIULIANO, A. E.

Histopathologic validation of the sentinel lymph node metastasis from breast carcinoma. **Ann. Surg.** v. 226, p. 271-278, 1997.

VAN DER ENT, F. W. C.; KENGEN, R. A.; VAN DER POL, H. A.; HOOFWIJK, A. G. Sentinel node biopsy in 70 unselected patients with breast câncer: increased feasibility by using 10 mCi radiocolloid in combination with a blue dye tracer. **Eur. J. Surg. Oncol.** v. 25, p. 24-29, 1999.

VAN DER VELDEN, J. Alguns aspectos da gestão do carcinoma de células escamosas da vulva. Tese. Amsterdã, Nederlands, 1996.

VARGHESE, P.; MOSTAFA, A.; ABDEL-RAHMAN, A. T.; AKBERALI, S.; GATTUSO, J.; CANIZALES, A.; WELLS, C. A.; CARPENTER, R. Methylene blue dye versus combined dye-radioactive tracer technique for sentinel lymph node localization in early breast cancer. **Eur. J. Surg. Oncol.** v. 33, n. 2, p. 147-152, 2007.

VERDIANI, L. A.; JULIATO, C. R.; DERCHAIN, S. F. M. Carcinoma da vulva: epidemiologia e aspectos clínicos. **Rev. Centro de Referência,** v. 2, p. 86-90, 1997.

VERONESI, U.; RILKE, F.; LUINI, A.; SACCHINI, V.; GALIMBERTI, V.; CAMPA, T.; DEI BEI, E.; GRECO, M.; MAGNI, A.; MERSON, M. et al. The distribution of the axillary node metastasis by level of invasion. **Cancer**, v. 59, n. 4, p. 682-687, 1997.

VERONESI, U.; PAGANELLI, G.; VIALE, G.; GALIMBERTI, V.; LUINI, A.; ZURRIDA, S.; ROBERTSON, C.; SACCHINI, V.; VERONESI, P.; ORVIETO, E.; DE CICCO, C.; INTRA, M.; TOSI, G.; SCARPA, D. 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.

VERONESI, U.; CASCINELLI, N.; MARIANI, L.; GRECO, M.; SACCOZZI, R.; LUINI, A.; AGUILAR, M.; MARUBINI, E. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. **N. Engl. J. Med.** v. 347, n. 16, p. 1227-1232, 2002.

WADDINGTON, W. A.; KESHTGAR, M. R.; TAYLOR, I.; LAKHANI, S. R.; SHORT, M. D.; ELL, P. J. Radiation safety of the sentinel lymph node technique in breast cancer. **Eur. J. Nucl. Med.** v. 27, n. 4, p. 377-391, 2000.

WANG X; HELLER, R; CRUSEC, C. W.; VAN VOORLEIS, N; GLASS, F. FENSKE, N. BERMANC. Detection of submicroscopic lymph node metastases with polymerase chain reaction in patients with malignant melanoma. **Ann Surg.** v. 220, n.6, p. 768-774, 1994.

WAY, S. The surgery of vulvar carcinoma: an appraisal. **Clin. Obstet. Gynecol.** v. 5, p. 623, 1978.

WINSHIPT, E. A.; PHILBIN, P. H.; KERR, H. H. Observations on a sentinel node in cancer of the parotid. **Cancer.** v. 13, p. 77-78, 1960.

WOELBER, L.; KOCK, L.; GIESEKING, F.; PETERSEN, C.; TRILLSCH, F.; CHOSCHZICK, M.; JAENICKE, F.; MAHNER, S. Clinical management of primary vulvar cancer. **Eur J. Cancer**, 2011 jul. 4.

WOOLDERINK, J. M.; de BOCK, G. H.; DE HULLU, J. A.; DAVY, M. J., VAN DER ZEE, A. G.; MOURITS, M. J. Patterns and frequency of recurrences of squamous cell carcinoma of the vulva. **Gynecol Oncol.**, v. 103, p. 293-299, 2006.

ZAINO, R. J. **Carcinoma of the vulva, urethra, and bartholins glands.** In: Wilkinson, E. J. (ed) Pathology of the vulva and vagina. Nova York: Churchill Livingstone, p. 119-53, 1987.

ZERWES, F. P. **Identificação do linfonodo sentinela em mulheres com câncer de mama.** 2000. 63 p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Departamento de Radiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.

APÊNDICE

Apêndice A - Protocolo de registro do projeto

IDENTIFICAÇÃO DO LINFONODO SENTINELA EM REGIÃO INGUINAL, EM MODELO EXPERIMENTAL DE CADELAS SUBMETIDAS À CIRURGIA COM INCISÃO DAS REGIÕES INGUINAIS.

Data da Cirurgia ____/____/____

Início: _____. Término: _____.

1. Cadela nº: _____.

2. Peso: _____ kg.

3. Procedimento:

INGUINAL DIREITA

- Injeção de 0,5 μCi de Tecnécio $^{99\text{m}}\text{Tc}$ na comissura anterior da vulva, transição cutânea-mucosa. _____h.
- Espera de 30 minutos.
- Contagem e valores de irradiação na comissura _____.
- Identificação do sítio inguinal e medição do nível de radiação _____.
- Injeção de 0,5ml de azul patente (comissura)
- Espera 15 minutos.
- Incisão inguinal _____.
- Identificação do linfonodo sentinela: SIM () NÃO ().
- Contagem in vivo: _____.
- Contagem ex-vivo: _____.
- Linfonodos corados com azul patente nº. _____.
- Linfonodos não corados com azul patente nº. _____.
- Intercessão dos dois métodos: SIM () NÃO ().

INGUINAL ESQUERDA

- Injeção de 0,5 μCi de Tecnécio $^{99\text{m}}\text{Tc}$ na comissura anterior da vulva, transição cutânea-mucosa. _____h.
 - Espera de 30 minutos.
 - Contagem e valores de irradiação na comissura _____.
 - Identificação do sítio inguinal e medição do nível de radiação _____.
 - Injeção de 0,5ml de azul patente (comissura)
 - Espera 15 minutos.
 - Incisão inguinal _____.
 - Identificação do linfonodo sentinela: SIM () NÃO ().
 - Contagem in vivo: _____.
 - Contagem ex-vivo: _____.
 - Linfonodos corados com azul patente nº. _____.
 - Linfonodos não corados com azul patente nº. _____.
 - Intercessão dos dois métodos: SIM () NÃO ().
- Fotos nº. _____.
- Quantidade de potes para patologia: _____.

APÊNDICE B – Registro individual de cada cadela

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 13/08/08		
Cadela: 01		
Peso: 12 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 3.000	Sítio inguinal: 1500	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 270	<i>ex-vivo</i>: 130
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 3.000	Sítio inguinal: 1500	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 275	<i>ex-vivo</i>: 200
Linfonodo: corados com azul patente: 2 Não corados com azul patente: 1		
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 13/09/08		
Cadela: 02		
Peso: kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 20.000	Sítio inguinal: 570	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 1400	<i>ex-vivo</i>: 9100
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 20.000	Sítio inguinal: 767	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 2500	<i>ex-vivo</i>: 9100
Linfonodo: corados com azul patente: 1 Não corados com azul patente: 0		
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL
 PROF. SAUL GOLDENBERG
 CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA

Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela

Data: 10/09/08

Cadela: 03

Peso: kg

Inguinal direita:

Irradiação na comissura: 11.000

Sítio inguinal: Não identificado

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 500

ex-vivo: 480

Inguinal esquerda:

Irradiação na comissura: 11.000

Sítio inguinal: Não identificado

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 1450

ex-vivo: 900

Linfonodo: corados com azul patente:

1

Não corados com azul patente: 0

Intercessão dos dois métodos: Sim

Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL
 PROF. SAUL GOLDENBERG
 CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA

Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela

Data: 17/09/08

Cadela: 04

Peso: 7 kg

Inguinal direita:

Irradiação na comissura: 12.500

Sítio inguinal: 708

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 815

ex-vivo: 1127

Inguinal esquerda:

Irradiação na comissura: 12.500

Sítio inguinal: 702

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 1500

ex-vivo: 845

Linfonodo: corados com azul patente:

1

Não corados com azul patente: 0

Intercessão dos dois métodos: Sim

Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 17/09/08		
Cadela: 05		
Peso: kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 14.000	Sítio inguinal: 1500 - 3000	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i> : 3200	<i>ex-vivo</i> : 1900
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 1400	Sítio inguinal: 1500 - 3000	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i> :	<i>ex-vivo</i> :
Linfonodo: corados com azul patente: 2	Não corados com azul patente:	
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 24/09/08		
Cadela: 06		
Peso: 8 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 500	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i> : 2079	<i>ex-vivo</i> : 1020
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 20.000	Sítio inguinal: 1002	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i> : 610	<i>ex-vivo</i> : 542
Linfonodo: corados com azul patente: 1	Não corados com azul patente:	
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 24/09/08		
Cadela: 07		
Peso: 14 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 7800	Sítio inguinal: 670	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i> : 1690	<i>ex-vivo</i> : 2400
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 7800	Sítio inguinal: 513	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i> : 3600	<i>ex-vivo</i> : 4594
Linfonodo: corados com azul patente: 1	Não corados com azul patente: 0	
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 24/09/08		
Cadela: 08		
Peso: 14 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 3134	Sítio inguinal: 2900	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i> : 6200	<i>ex-vivo</i> : 7597
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 3134	Sítio inguinal: 1500	
Linfonodo sentinela:	Contagem <i>in vivo</i> : 6200	<i>ex-vivo</i> 7597:
Linfonodo: corados com azul patente: 1	Não corados com azul patente: 0	
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 08/10/08		
Cadela: 09		
Peso: 09 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 15200	Sítio inguinal: Não marcou	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 740	<i>ex-vivo</i>: 790
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 15200	Sítio inguinal: 560	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 2775	<i>ex-vivo</i>: 2220
Linfonodo: corados com azul patente:	1	Não corados com azul patente: 0
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 08/10/08		
Cadela: 10		
Peso: kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 4400	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 4200	<i>ex-vivo</i>: 9700
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 140	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 0	<i>ex-vivo</i>: 0
Linfonodo: corados com azul patente:	0	Não corados com azul patente:
Intercessão dos dois métodos: Não		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 15/10/08		
Cadela: 11		
Peso: 10 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 18000	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 1800	<i>ex-vivo</i>: 18100
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura:	Sítio inguinal:	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>:	<i>ex-vivo</i>:
Linfonodo: corados com azul patente: 1	Não corados com azul patente: 0	
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 15/10/08		
Cadela: 12		
Peso: 7,5 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 2013	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 3975	<i>ex-vivo</i>: 1710
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 1708	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 3697	<i>ex-vivo</i>: 2501
Linfonodo: corados com azul patente: 1	Não corados com azul patente: 0	
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 29/10/08		
Cadela: 13		
Peso: 7,5 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 13150	Sítio inguinal: 1300	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 8200	<i>ex-vivo</i>: 7400
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 13150	Sítio inguinal: 641	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 1988	<i>ex-vivo</i>: 641
Linfonodo: corados com azul patente:	1	Não corados com azul patente: 0
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 29/10/08		
Cadela: 14		
Peso: 13 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 16000	Sítio inguinal: 79	
Linfonodo sentinela:	Contagem <i>in vivo</i>: 1900	<i>ex-vivo</i>: 1200
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 1600	Sítio inguinal: 545	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 390/1540	<i>ex-vivo</i>: 0/3200
Linfonodo: corados com azul patente:	2	Não corados com azul patente:
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 12/11/08		
Cadela: 15		
Peso: kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 13400	Sítio inguinal: 640	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 876	<i>ex-vivo</i>: 1146
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 13400	Sítio inguinal: 138	
Linfonodo sentinela:	Contagem <i>in vivo</i>: 528	<i>ex-vivo</i>: 415
Linfonodo: corados com azul patente:	1	Não corados com azul patente: 1
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 19/11/08		
Cadela: 16		
Peso: 10,1 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 4100	Sítio inguinal: 90	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 536	<i>ex-vivo</i>: 120
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 4100	Sítio inguinal: 80	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 270	<i>ex-vivo</i>: 194
Linfonodo: corados com azul patente:	2	Não corados com azul patente: 0
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA	
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela	
Data: 19/11/08	
Cadela: 17	
Peso: kg	
Inguinal direita:	
Irradiação na comissura: 19300	Sítio inguinal: 1600
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 670/900 <i>ex-vivo</i>: 510/53
Inguinal esquerda:	
Irradiação na comissura: 19300	Sítio inguinal: 1300
Linfonodo sentinela:	Contagem <i>in vivo</i>: 4200 <i>ex-vivo</i>: 2087
Linfonodo: corados com azul patente:	2 Não corados com azul patente:1
Intercessão dos dois métodos: Sim	Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA	
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela	
Data: 03/12/08	
Cadela: 18	
Peso: 12 kg	
Inguinal direita:	
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 1849
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 3300 <i>ex-vivo</i>: 3906
Inguinal esquerda:	
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 628
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 1928 <i>ex-vivo</i>: 1366
Linfonodo: corados com azul patente:	1 Não corados com azul patente: 0
Intercessão dos dois métodos: Sim	Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto

**LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL
 PROF. SAUL GOLDENBERG
 CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA**

Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela

Data: 10/12/08

Cadela: 19

Peso: kg

Inguinal direita:

Irradiação na comissura: 19800

Sítio inguinal: 80

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 424

***ex-vivo*:** 272

Inguinal esquerda:

Irradiação na comissura: 19800

Sítio inguinal: 303

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 2220

***ex-vivo*:** 2434

Linfonodo: corados com azul patente:

2

Não corados com azul patente:

Intercessão dos dois métodos: Sim

Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto

**LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL
 PROF. SAUL GOLDENBERG
 CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA**

Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela

Data: 21/01/09

Cadela: 20

Peso: 7 kg

Inguinal direita:

Irradiação na comissura: 20000

Sítio inguinal: 1300

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 3940

***ex-vivo*:** 2900

Inguinal esquerda:

Irradiação na comissura: 20000

Sítio inguinal: 1094

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 6358

***ex-vivo*:** 6820

Linfonodo: corados com azul patente:

1

Não corados com azul patente: 1

Intercessão dos dois métodos: Sim

Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto

**LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL
 PROF. SAUL GOLDENBERG
 CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA**

Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela

Data: 21/01/09

Cadela: 21

Peso: 9 kg

Inguinal direita:

Irradiação na comissura: 20000

Sítio inguinal: 660

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 3714 ***ex-vivo*:** 3096

Inguinal esquerda:

Irradiação na comissura: 20000

Sítio inguinal: 317

Linfonodo sentinela:

Contagem *in vivo*:

***ex-vivo*:**

Linfonodo: corados com azul patente:

0

Não corados com azul patente: 1

Intercessão dos dois métodos: Não

Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto

**LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL
 PROF. SAUL GOLDENBERG
 CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA**

Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela

Data: 21/01/09

Cadela: 22

Peso: kg

Inguinal direita:

Irradiação na comissura: 20000

Sítio inguinal: 2635

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 2700 ***ex-vivo*:** 2836

Inguinal esquerda:

Irradiação na comissura: 20000

Sítio inguinal: 1439

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 2419

***ex-vivo*:** 2733

Linfonodo: corados com azul patente:

1

Não corados com azul patente:

Intercessão dos dois métodos: Sim

Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 22/01/09		
Cadela: 23		
Peso: 12 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 3300	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 3500	<i>ex-vivo</i>: 5272
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 2800	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 13100	<i>ex-vivo</i>: 10200
Linfonodo: corados com azul patente:	1	Não corados com azul patente:
Intercessão dos dois métodos: Sim		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL PROF. SAUL GOLDENBERG CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA		
Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela		
Data: 22/01/09		
Cadela: 24		
Peso: 8,5 kg		
Inguinal direita:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 57	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>: 500	<i>ex-vivo</i>: 570
Inguinal esquerda:		
Irradiação na comissura: 20000	Sítio inguinal: 64	
Linfonodo sentinela: Sim	Contagem <i>in vivo</i>:	<i>ex-vivo</i>:
Linfonodo: corados com azul patente:	1	Não corados com azul patente:
Intercessão dos dois métodos:		
Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto		

LABORATÓRIO DE CIRÚRGIA EXPERIMENTAL
PROF. SAUL GOLDENBERG
CIRÚRGIA RADIOGUIADA E LINFONODO SENTINELA

Pesquisa de Linfonodo Sentinela – Vulva da Cadela

Data: 22/01/09

Cadela: 25

Peso: 9 kg

Inguinal direita:

Irradiação na comissura: 20000

Sítio inguinal: 3300

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 5046 *ex-vivo*: 10030

Inguinal esquerda:

Irradiação na comissura: 20000

Sítio inguinal: 1300

Linfonodo sentinela: Sim

Contagem *in vivo*: 7940 *ex-vivo*: 7640

Linfonodo: corados com azul patente: 1

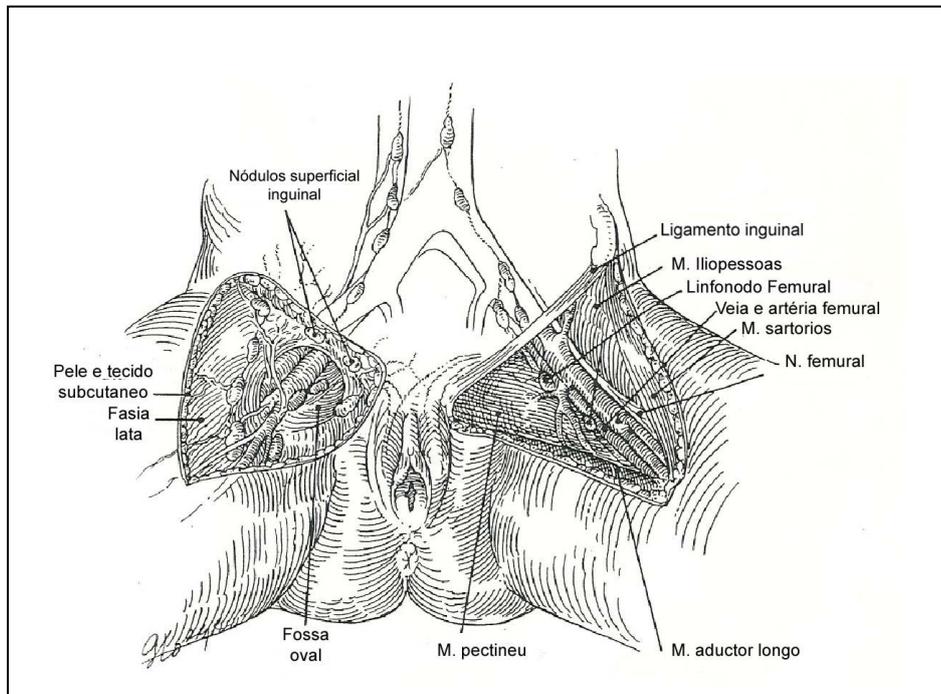
Não corados com azul patente: 0

Intercessão dos dois métodos:

Doutorando (Cirúrgia) Jose Ulcijara Aquino – Orientador: Prof. Luiz Porto

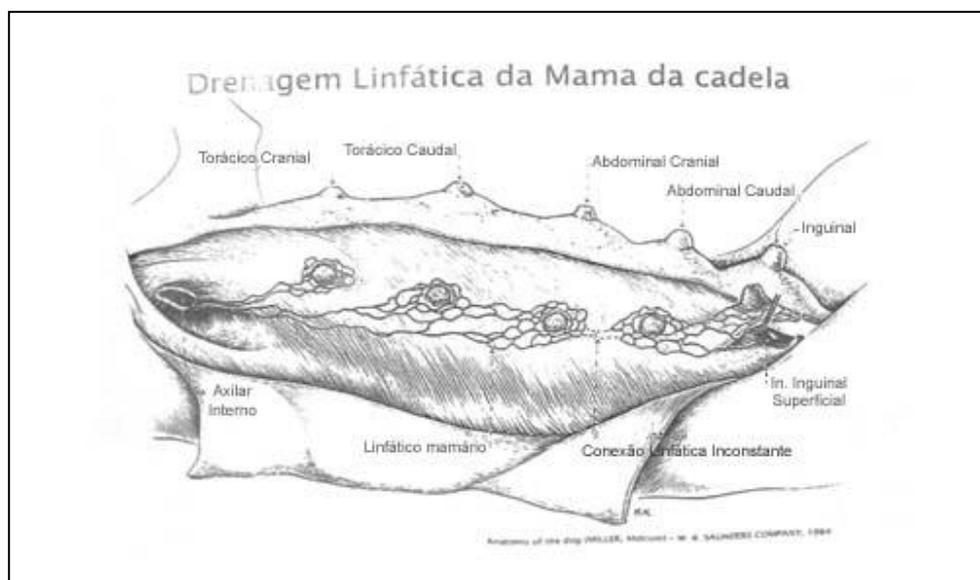
ANEXO

ANEXO A – Nódulos linfáticos ínguino-femoral



Adaptado de BERECK (1998)=

ANEXO B – Drenagem linfática da mama e inguinal superficial da cadela



Adaptado de Evans; Christensen, (1979)

ANEXO C – Declaração da Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA)



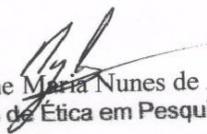
Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE
Tel: (85) 3366.8331 Fax: (85) 3366.8333

DECLARAÇÃO

Declaramos que o protocolo para uso de animais em experimentação n° 10/09, sobre o projeto intitulado: “**MODELO EXPERIMENTAL PARA PESQUISA NO LINFONODO SENTINELA NA VULVA DE CADELA**”, de responsabilidade de José Ulcijara Aquino, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaramos ainda que o referido projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA – em reunião realizada em 09 de novembro de 2010.

Fortaleza, 09 de novembro de 2010

Profa. Dra. Nylane  Nunes de Alencar
Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA