

**RENATA VALIM DE SOUZA VIDEIRA**

**CARVÃO ATIVADO COMO MARCADOR DE LINFONODO  
SENTINELA EM RATOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

São Paulo

2005

## FICHA CATALOGRÁFICA

Videira, Renata Valim de Souza

**Carvão ativado como marcador de linfonodo sentinela em ratos** / Renata Valim de Souza Videira. -- São Paulo, 2005.  
xi, 48f.

Tese (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica.

Título em inglês: Activated carbon as sentinel node marker in rats.

1. BIÓPSIA DE LINFONODO SENTINELA. 2. CARVÃO ATIVADO. 3. DESENHO EXPERIMENTAL.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**

**ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIRURGIA PLÁSTICA**

**COORDENADORA:**

**Professora Doutora Lydia Masako Ferreira**

**Professora Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica da Universidade**

**Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina**

**RENATA VALIM DE SOUZA VIDEIRA**

**CARVÃO ATIVADO COMO MARCADOR DE  
LINFONODO SENTINELA EM RATOS**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Renato Santos de Oliveira Filho**

**CO-ORIENTADOR: Dr. Bernardo Hochman**

São Paulo  
2005

# **DEDICATÓRIA**

**Ao meu pai, a minha mãe e ao Gustavo...**

**Ao meu marido...**

## **AGRADECIMENTOS**

À professora Dra. Lydia Masako Ferreira, Professora Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica do Departamento de Cirurgia e Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, pela oportunidade de participar do programa de pós-graduação e principalmente pelo incentivo na execução deste trabalho, que através do grande dinamismo torna-se um exemplo para todos nós.

Ao professor Dr. Renato Santos de Oliveira Filho, Professor Adjunto Visitante da Disciplina de Cirurgia Plástica do Departamento de Cirurgia e Professor Orientador da Pós-Graduação em Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina por acreditar na minha formação e abrir a oportunidade de cursar a pós-graduação, pelo auxílio incessante na execução deste trabalho e principalmente pelos valiosos ensinamentos.

Ao Dr. Bernardo Hochman, mestre em cirurgia plástica e pós-graduando nível doutorado pelo programa Pós-Graduação em Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina pelo apoio e auxílio na elaboração deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, pelos ensinamentos e contribuições à nossa formação.

À Dra. Alisson Monteiro da Silva, cirurgiã oncológica, mestre em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina pela participação na elaboração e execução deste trabalho.

Ao Dr. Alexandre Nunes de Andrade, cirurgião plástico, aluno do curso de aperfeiçoamento da Disciplina de Cirurgia Plástica pela disponibilidade e cooperação na execução da parte experimental.

Ao Rodney Junqueira, acadêmico de Medicina da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina pela participação e companheirismo na execução da parte experimental deste trabalho.

Ao Ricardo Leão de Oliveira, aluno de pós-graduação em Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina pela colaboração na execução deste trabalho.

À Dra. Maria do Carmo Assunção, patologista do Laboratório LOCUS, pelas importantes informações quanto ao carvão ativado estudado neste trabalho.

À Professora Yara Juliano, Professora adjunta da Disciplina Saúde Coletiva da Universidade de Santo Amaro, pela orientação na análise estatística.

À Professora Dulce Covre, pela disponibilidade e pela criteriosa correção ortográfica deste trabalho.

Às secretárias Sandra e Marta, pelo carinho, atenção e por serem prestativas sempre.

À todos os funcionários do Laboratório de Cirurgia Experimental da Disciplina de Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, pelo apoio na execução da parte experimental.

À enfermeira Dra. Leila Blanes, pela disponibilidade e grande cooperação na confecção desta tese.

Às minhas colegas de trabalho Celena e Sílvia, pela compreensão e apoio constante.

# SUMÁRIO

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos.....	iv
Resumo.....	viii
Abstract.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 OBJETIVO.....	7
3 LITERATURA.....	9
4 MÉTODOS.....	18
4.1 Amostra.....	18
4.2 Procedimentos.....	19
4.2.1 Injeção do carvão ativado.....	19
4.2.2 Biópsia do Linfonodo Sentinela.....	20
4.3 Estudo Histopatológico.....	22
4.4 Análise Estatística.....	23
5 RESULTADOS.....	25
6 DISCUSSÃO.....	29
7 CONCLUSÃO.....	35
8 REFERÊNCIAS.....	37
Fontes Consultadas.....	45
Apêndice.....	48

## RESUMO

**Introdução:** A reprotutibilidade do encontro do linfonodo sentinela (LS) está demonstrada utilizando-se o mapeamento linfático com corante vital e / ou detecção gama intra-operatória. Tanto o corante como o radiofármaco são injetados intradermicamente próximo do tumor ou da cicatriz de biópsia. Ambos, o corante vital e o radiofármaco não são marcadores permanentes. Dissipam-se em minutos ou horas, passam pelo LS e vão para outros linfonodos. Assim sendo, eles não podem ser identificados no exame histopatológico. Uma substância que permaneça por vários dias ou semanas cumpriria o papel de um marcador permanente do LS. **Objetivo:** Verificar o tempo de permanência do carvão ativado no LS. **Métodos:** Sessenta ratas da linhagem Wistar EPM1 foram separadas em três grupos de 20 animais cada e todas foram submetidas à injeção de carvão ativado na face ventral da pata direita. No chamado grupo G1 os animais foram submetidos à biópsia de linfonodo sentinela utilizando-se azul patente V um dia depois da injeção do carvão ativado. Nos grupos G7 e G21, tal procedimento foi realizado no 7º e 21º dias após a injeção do carvão ativado. O LS de cada animal foi submetido a exame histopatológico convencional (HE) para pesquisa da presença de carvão ativado intralinfonodal. **Resultados:** Em todos os animais o LS foi encontrado e estava corado em preto. O estudo histopatológico confirmou a presença do carvão ativado em todos os linfonodos dos três grupos. A distribuição do carvão ativado intralinfonodal no grupo G1

foi maior em seio subcapsular e com o passar do tempo, nos grupos G7 e G21 houve significativo predomínio em seio medular. Estes achados apresentaram significância estatística pelo teste qui-quadrado. **Conclusão:** O carvão ativado identifica o LS e nele permanece por no mínimo 21 dias.

## ABSTRACT

**Introduction:** The reproductibility of the sentinel node biopsy procedure is demonstrated by using lymphatic mapping or gamma probe detection alone or combined. Both the vital dye and the radiopharmaceutical are intradermally injected near the tumour or biopsy scar. The vital dye and radiopharmaceutical are not permanent markers. They spread out in minutes or hours, o through the sentinel node and go to other lymph nodes. For the reason, they could not be identified by a histopathological exam. Therefore, a substance that would remain for several days or weeks could be a permanent sentinel node marker.

**Objective:** To verify the permanence of the activated carbon in the sentinel node. **Methods:** Sixty WISTAR EPM-1 rats were divided in three groups of 20 animals each. All of them were submitted to an activated carbon injection in the ventral region of the right posterior foot. In group G1, the animals were submitted to sentinel node biopsy using patent blue V one day the after activated carbon injection. In groups G7 and G21 that procedure was done in the 7<sup>th</sup> and 21<sup>th</sup>. Days, respectively after the activated carbon injection. The sentinel node of each animal was submitted to conventional histopathological exam (HE) to identify activated carbon in the sentinel node. **Results:** The sentinel node was dyed in black and was found in all the animals. The histopathological exam confirmed the presence of activated carbon in all sentinel nodes of the three groups. The distribution of activated carbon in the sentinel node of group G1

was predominated in the subcapsular area. In groups G7 and G21 the activated carbon was present predominantly in the medullary sinus. These findings were statistically significant by  $\chi^2$  test. **Conclusion:** The activated carbon identifies the sentinel node and remains for at least 21 days.

## ***INTRODUÇÃO***

---

# 1 INTRODUÇÃO

A biópsia de linfonodo sentinela (BLS) surgiu no final do século XX como um procedimento para detectar micrometástases em linfonodos da cadeia de drenagem, substituindo as linfadenectomias eletivas, aquelas realizadas em pacientes sem comprometimento clínico de linfonodos (KITAJIMA, 2002). Se o linfonodo sentinela (LS) estiver comprometido, o paciente é submetido a linfadenectomia completa (OLIVEIRA-FILHO et al., 2003a). A biópsia define, então, quais pacientes são candidatos apropriados para a linfadenectomia completa, reservando para seguimento os pacientes com LS sem doença. Esse procedimento está incluído no estadiamento do melanoma e do câncer de mama pela *American Joint Committee on Cancer Staging System* de 2002 (GREENE et al., 2002).

Embora o conceito tenha sido proposto anteriormente, a técnica de mapeamento linfático descrita por MORTON et al. (1992), inicialmente aplicada para o melanoma, evoluiu para a utilização em outros tumores de disseminação inicial preferencialmente por via linfática, como o adenocarcinoma de mama, os carcinomas de cabeça e pescoço, de pênis e de vulva (OLIVEIRA-FILHO et al., 2003a).

A BLS coompreende três etapas fundamentais: a) linfocintilografia pré-operatória, b) biópsia do linfonodo sentinela propriamente dita (utilizando mapeamento linfático com corante vital e detecção gama intra-operatória) e c) exame anatomopatológico do linfonodo sentinela (MORTON et al., 1999).

A reprodutibilidade do encontro do LS está demonstrada utilizando-se o mapeamento linfático com corante vital e/ou a detecção gama intra-operatória.

O mapeamento linfático com corante vital mimetiza anatômica e funcionalmente o caminho linfático que a célula neoplásica poderia ter seguido, a partir da lesão primária e cora o LS, permitindo sua identificação. Os corantes vitais mais utilizados são o isosulfan e o azul patente V (PIJPERS et al., 1997).

A linfocintilografia pré-operatória permite a identificação da base ou bases linfáticas de drenagem, bem como o(s) linfonodo(s) sentinela(s) envolvido(s). Para a realização da linfocintilografia, injeta-se um radiofármaco na derme peri-tumoral ou peri-cicatricial (HOEFNAGEL, 1998).

Na maioria das vezes, o próprio radiofármaco injetado é utilizado na detecção gama intra-operatória, identificando o LS (PIJPERS et al., 1997; OLIVEIRA-FILHO et al., 2003a).

Radiofármaco é um composto formado por um isótopo que é transportado na via linfática por uma substância chamada carreador, como fitato ou dextran. O isótopo mais utilizado é o tecnécio ( $Tc^{99m}$ ) (PAIVA, 2004).

A detecção gama-intraoperatória permite melhor localização do LS e aumenta as chances de encontra-lo; é realizada através de um detector portátil de radiação gama. O operador é guiado até a posição dos linfonodos concentrantes,

localizando-os para a exérese (PIJPERS et al., 1997; OLIVEIRA-FILHO et al., 2003a).

O LS é submetido a exame histopatológico para a pesquisa de micrometástase. Inicialmente, é feito exame anatomopatológico convencional pelo método da hematoxilina-eosina (HE). Se neste exame não se encontrou micrometástases, realiza-se estudo imunohistoquímico com diversos marcadores (proteína S100, HMB45, MART-1) (COCHRAN et al., 2001). Embora diversos estudos demonstrem importância da técnica de RT-PCR no diagnóstico de micrometástase no LS, esse procedimento ainda não é de uso padrão para essa finalidade (DA SILVA et al., 2003; TOVO FILHO 2001).

O impacto do resultado emitido pelo patologista na evolução clínica dos pacientes, requer além de sua análise adequada, que o linfonodo confirmado como LS seja verdadeiramente o LS.

Existe uma possibilidade de que o linfonodo examinado pelo patologista não seja o verdadeiro LS. Se o verdadeiro LS estiver parcial ou inteiramente com tumor, pode ocorrer desvio do fluxo linfático para outros linfonodos que não LS (COCHRAN et al., 2004).

Outros fatores também podem contribuir para que não chegue na mão do patologista o verdadeiro LS. Em primeiro lugar, a linfocintilografia por erro técnico pode marcar um linfonodo que não é o LS. Em segundo lugar, o cirurgião pode retirar um linfonodo que também não é o LS. Em terceiro lugar, a circulante da sala pode identificar erradamente quando houver mais de um

linfonodo; como também pode errar o técnico que faz a macroscopia e a preparação do material para o patologista.

O mapeamento linfático e a detecção gama intra-operatória identificam o LS, mas tanto o azul patente como o radiofármaco não são marcadores permanentes. Ambos dissipam-se e passam através do LS para outros linfonodos e não podem ser confirmados pelo patologista durante o exame do LS, pois esses agentes não são identificados pela luz microscópica (NASON et al., 2005; HAIGH et al., 2001).

Uma substância que marque o LS e aí permaneça por vários dias, semanas ou meses, sem alterá-lo, bem como a rede linfática vizinha, e que seja facilmente visível em microscopia convencional, cumpriria o papel de marcador permanente do LS, facilitando o trabalho do patologista.

Estudo experimental sugeriu que o carvão ativado tem uma retenção mais prolongada no LS do que os corantes vitais, permitindo fácil visualização no intra-operatório e no estudo histológico (LUCCI et al. 1999).

Não encontramos na literatura um estudo que determine o tempo de permanência do carvão ativado no LS. Sendo assim, propusemos verificar o seu tempo de permanência no LS, utilizando um modelo experimental em ratos.



***OBJETIVO***

---

## **2 OBJETIVO**

Verificar a permanência do carvão ativado no linfonodo sentinela.

***LITERATURA***

---

### **3 LITERATURA**

#### **Biópsia do Linfonodo Sentinela**

CABANAS (1977) realizou linfocintilografias via linfáticos dorsais do pênis que demonstraram drenagem para um linfonodo específico, denominado de LS, tendo verificado ser este o primeiro local a receber metástases. Recomendou que fosse realizada linfocintilografia bilateral e que somente deveria ser realizada a linfadenectomia caso o LS estivesse comprometido, através de uma biópsia prévia.

MORTON et al. (1992) descreveram a técnica de mapeamento linfático com corante vital inicialmente em modelo experimental em gatos, em que definiu o azul patente V e o azul isosulfan como os melhores corantes. O LS foi identificado em 194 (84%) dos 223 pacientes com a utilização dos corantes azul patente V ou isosulfan em todos os pacientes. A linfocintilografia foi realizada somente em 40 pacientes com melanoma de drenagem ambígua, localizados na linha média do tronco e em ombro. Os autores concluíram que a biópsia do LS sentinela era uma alternativa prática e racional para a linfadenectomia eletiva ou para o seguimento clínico dos pacientes portadores de melanoma sem comprometimento linfático clinicamente detectável.

OLIVEIRA-FILHO et al. (1994) introduziram a técnica de BLS no Brasil, salientando tratar-se de uma técnica promissora.

KRAG et al. (1995) em um estudo com pacientes portadores de melanoma demonstraram que a BLS, guiada por um detector de radiação gama intra-operatória, era possível em 95% dos pacientes e concluíram que a técnica é minimamente invasiva.

GLASS et al. (1996) estudando 148 pacientes portadores de melanoma sugeriram que a detecção gama intra-operatória em associação à injeção do corante vital permite melhor identificação do LS.

PIJPERS et al. (1997) concluíram que a associação da linfocintilografia pré-operatória com a injeção do corante vital e ao uso de um detector portátil de radiação gama no intra-operatório permitiu a identificação e BLS em todos os pacientes portadores de melanoma.

MORTON et al. (1999) em um estudo multicêntrico, com o objetivo de avaliar a aplicação do mapeamento linfático intra-operatório, a linfadenectomia seletiva (biópsia do LS) e a linfadenectomia completa no melanoma, concluíram que o mapeamento linfático e a BLS podem ser aplicadas com sucesso em vários centros do mundo; que a identificação do LS pode ser alcançada em 97% dos casos e que o mapeamento linfático usando azul patente e radiofármaco é superior ao mapeamento usando apenas o azul patente.

OLIVEIRA-FILHO et al. (2000a), através de projeto realizado na UNIFESP com apoio da FAPESP sobre a BLS no melanoma cutâneo localizado, concluíram que seus resultados foram comparáveis aos da literatura, porém enfatizaram a necessidade de outros estudos clínicos para a definição das vantagens desse procedimento.

OLIVEIRA-FILHO et al. (2000b) encontraram o LS inguinal apenas com corante vital em 100% dos casos, em que a linfocintilografia mostrou que o LS estava localizado na região ínguino-crural. Salientaram a importância da complementação do corante vital e detecção gama intra-operatória na identificação e exérese do LS.

MARIANI et al. (2001) introduziram a técnica de BLS como um procedimento para detectar metástases em linfonodos axilares em pacientes portadoras de câncer de mama. Assim esse procedimento foi reproduzido por diversos autores.

PONZONE et al. (2003) estabeleceram a BLS como procedimento para o câncer de mama sem linfonodos acometidos.

OLIVEIRA-FILHO et al. (2003b) em estudo sobre BLS em pacientes portadores de melanoma de espessura fina (Breslow < 1mm), encontraram metástases em LS em 7,8% (6/77) desses pacientes. Relataram que a fase de crescimento vertical foi correlacionada com as metástases encontradas nos pacientes desse estudo, assim como a ulceração e o alto índice mitótico (> 5mitoses/mm<sup>2</sup>).

LEONG et al. (2005) em estudo sobre a recorrência em uma série de 412 pacientes portadores de melanoma cutâneo submetidos a BLS num seguimento mediano de 4,8 anos, concluíram que os pacientes com LS positivo apresentam recorrência e morte significativamente maior.

THOMPSON et al. (2005) relataram que o tratamento efetivo para o melanoma cutâneo requer um diagnóstico precoce seguido de tratamento

cirúrgico com adequadas margens de segurança e que a BLS propicia acurácia no estadiamento.

### **Carvão Ativado**

TAKAHASHI et al. (1991) em um trabalho em pacientes portadores de câncer gástrico, com metástase linfonodal, utilizaram partículas de carvão ativado como um adsorvente para agentes anticarcinogênicos. Os autores concluíram uma taxa de sobrevivência de até cinco anos nos pacientes tratados com partículas de carvão ativado, em relação aos pacientes tratados sem carvão. Concluíram também que os linfonodos que continham partículas de carvão eram escuros e identificados claramente a olho nu e que estas propriedades poderiam ser usadas como um marcador de linfonodo em ressecções cirúrgicas e para quimioterapia em linfonodos metastáticos quando estes não eram ressecados na cirurgia.

HYMAN e WAYE (1991) realizaram injeção de carvão ativado para tatuagem endoscópica em 40 pacientes com tumor de cólon. Os autores concluíram que essa técnica auxilia o cirurgião na localização e também não observaram nenhuma complicação ou toxicidade.

KITAMURA et al. (1995), com o objetivo de avaliar a eficácia clínica da injeção pré-operatória de carvão ativado para delinear a área do câncer no cólon, em cinco pacientes com lesão precoce, concluíram que é um método

recomendado pela acurácia na marcação do câncer de cólon em cirurgia laparoscópica.

LUCCI et al. (1999) em um estudo experimental em ratos, realizando a BLS com injeção de carvão ativado a 6% e misturas de carvão ativado a 6% com corante vital isosulfan, carvão ativado a 6% com solução salina e carvão ativado com solução salina e corante vital isosulfan, concluíram que o carvão ativado permite confirmação histológica do linfonodo pela identificação do corante vital isosulfan. Descreve que o carvão ativado contém 85% de água, 6% de carvão e um veículo de suspensão, suas partículas são heterogêneas e medem de 0,1 a 6,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro e são fagocitadas pelos macrófagos.

YOKOTA et al. (2000) utilizaram o carvão ativado como um corante vital para identificar linfonodos em pacientes obesas portadoras de câncer de mama submetidas a mastectomia radical. O carvão ativado aumentou a média do número de linfonodos encontrados por caso na axila, de 8,4 linfonodos pelo método tradicional, para 14 linfonodos quando utilizado o carvão ativado. Os autores concluíram que o uso de carvão ativado tem duas vantagens: uma é que permite ao cirurgião identificar o linfonodo no momento da cirurgia e a outra é que permite ao patologista visualizar o linfonodo em tecido gorduroso.

HAIGH et al. (2001) em um estudo de pacientes com linfonodo clinicamente negativo de melanoma cutâneo utilizaram carvão ativado combinado com corante vital isosulfan e enxofre coloidal como um adjunto histopatológico para identificar o LS e correlacionar a presença de partículas de

carvão com a condição histopatológica do linfonodo. Os autores concluíram que o carvão ativado permite a confirmação histológica do LS e facilita a avaliação pelo patologista.

MORTON et al. (2003), em uma série de 1599 pacientes com melanoma tratadas com mapeamento linfático e BLS, examinaram a incidência de metástase linfonodal subclínica pela biópsia do linfonodo sentinela. Em 166 pacientes foram injetadas partículas de carvão e azul patente para determinar se as células tumorais, distribuídas no linfonodo, poderiam explicar os erros de metástases no LS. O carvão ativado foi identificado em 159 (96%) dos pacientes, 25 (16%) tinham imuno-histoquímico positivo do LS e em todos os 25 casos, as metástases encontravam-se em áreas que continham carvão.

LIU et al. (2003) utilizaram carvão ativado para mapeamento linfático em BLS em 38 pacientes portadoras de câncer de mama. Encontraram o LS em 86% dos casos. Os autores concluíram que o carvão ativado é um aceitável marcador para mapeamento linfático em BLS.

COCHRAN et al. (2004), em uma atualização sobre o mapeamento linfático e a acurácia nos resultados da biópsia de linfonodo sentinela, em pacientes com melanoma afirmaram que o carvão ativado é um marcador inerte, visível em microscopia convencional e a olho nu e que as partículas de carvão junto com o azul patente confirmam o LS.

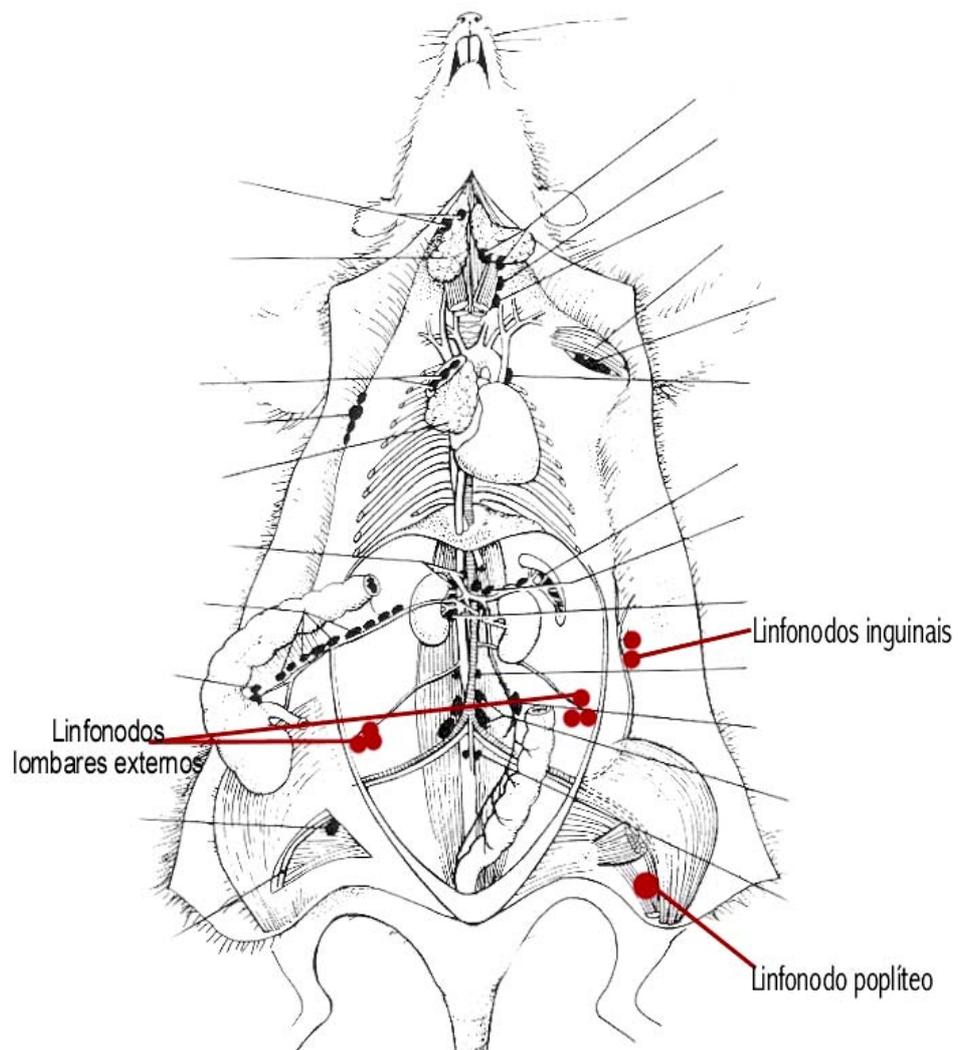
NASON et al. (2005), em um estudo experimental em porcos, avaliaram a eficácia da linfangiografia e carvão ativado para mapeamento linfático em bases linfonodal da região da cabeça e pescoço. A biópsia do LS foi realizada 60

minutos e sete dias após a injeção da solução. A técnica foi eficaz em todas as 12 bases linfonodais e todos os LS estavam corados em preto, tanto na dissecação imediata como na tardia.

### **Anatomia dos Linfonodos no Rato**

WOYNFORTH e FLECKNELL (1994), descreveram que o linfonodo poplíteo é único e se encontra na fossa poplíteia, junto à cabeça lateral do músculo gastrocnêmio, posteriormente ao joelho. Distingue-se do tecido gorduroso que o circunda por ser arredondado, pequeno e de coloração amarelo creme (Figura 1).

OLIVEIRA-FILHO et al. (2003c) descreveram um modelo experimental em ratos para a BLS. Para esse modelo o linfonodo poplíteo é o LS para a região plantar. Nesse estudo os linfonodos se mostraram evidenciados na linfocintilografia pré-operatória; foram corados pelo azul patente, captaram o radiofármaco, foram mensurados pelo detector portátil de radiação gama intra-operatória e puderam ser dissecados a olho nu em ratos adultos, permitindo a identificação e exérese do LS.



**Figura 1.** Localização e relação anatômica dos grupos de linfonodos do rato (modificado de WOYNFORTH e FLECKNELL, 1994).

## ***MÉTODOS***

---

## 4 MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo, em 17 de junho de 2005, processo n.º 0444/05 (Apêndice).

O experimento foi realizado no laboratório de cirurgia experimental da Disciplina de Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo.

Realizou-se um experimento piloto com quatro animais para determinação da quantidade de carvão ativado adequada ao modelo e todo ele foi realizado pelo pesquisador principal, sob supervisão do orientador. O carvão ativado utilizado ( *Indian Ink, Royal Talens, Holland* ) é obtido de matéria vegetal por carvonização em ausência de ar de preferência em vácuo.

Todos os dados obtidos foram registrados em uma ficha de dados (Apêndice).

### 4.1 Amostra

Foram estudadas 60 ratas adultas jovens, (*Rattus norvegicus: var. albinus, Rodentia, Mammalia*), com peso variando de 200 a 275 g, da linhagem Wistar EPM-1, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de São Paulo. As ratas foram mantidas em gaiolas (40X20X25cm) no biotério do CEDEME, sob as mesmas condições de temperatura (20 a 21°C), umidade e ruído,

recebendo ração comercial (Purina Labina) e água *ad libidum* sob iluminação artificial com lâmpada de 100W por período de 12 horas, alternado com período de 12 horas de escuro.

## 4.2 Procedimentos

### 4.2.1 Injeção do Carvão Ativado

O animal foi anestesiado com 1ml/kg de um composto de 125 mg de cloridrato de tiletamina e 125 mg de zolazepan (ZOLETIL 50), com seringa e agulha de insulina, injetado na cavidade peritoneal no quadrante inferior esquerdo do abdome. Nesta dosagem, a anestesia dura cerca de 120 minutos .

Após a anestesia, foi injetado, via intradérmica 0,1 ml de solução contendo carvão ativado a 6% na face ventral da pata posterior direita de cada animal (Figura 2).



**Figura 2.** Injeção do carvão ativado

Em seguida foram formados três grupos. Em cada grupo foram incluídas 20 ratas.

Foi denominado grupo G1, quando os linfonodos foram excisados e identificados para exame anátomo-patológico um dia após a injeção de carvão ativado.

Grupo G7, quando os linfonodos foram excisados e identificados para exame anátomo-patológico sete dias após a injeção de carvão ativado.

Grupo G21, quando os linfonodos foram excisados e identificados para exame anátomo-patológico vinte e um dias após a injeção de carvão ativado.

#### **4.2.2 Biopsia do Linfonodo Sentinela**

No 1º, 7º e 21º dias após a injeção do carvão ativado, o animal recebia nova dose de anestesia como descrito anteriormente.

Após a anestesia, o animal era pesado em uma balança e em seguida era posicionado em decúbito dorsal, sobre anteparo de cortiça, coberto por campo cirúrgico descartável. Os membros posteriores e anteriores foram mantidos em extensão e abdução e fixados com fita adesiva .

Realizava-se a tonsura da região poplítea, do membro inferior direito até região inguinal, procedendo-se à injeção de 0,1 ml de corante vital (azul patente V, Guerbet) na face ventral da pata posterior direita, mesmo local da injeção do carvão ativado.

Após 5 minutos da injeção, realizava-se a incisão cirúrgica, iniciada na pele da região poplítea até região inguinal e identificava-se o LS na fossa poplítea, junto da cabeça lateral do músculo gastrocnêmio, posteriormente no joelho, que se encontrava corado em preto.

Depois de identificado, o linfonodo era dissecado e retirado (Figura 3).

Todo o produto das biópsias foi conservado em formol a 10% para processamento técnico habitual e enviado ao Serviço de Patologia LOCUS – São Paulo/SP, onde todos os espécimes foram examinados pelo mesmo patologista.



**Figura 3.** Identificação e excisão do linfonodo sentinela

Após o procedimento, os animais foram sacrificados com altíssima dosagem do mesmo anestésico e acondicionados em sacos plásticos, para então serem descartados por um profissional deste laboratório.

Todo material utilizado (campo cirúrgico, luvas, máscaras, gases, seringas, agulhas e bisturis) foi desprezado em recipientes apropriados contra acidentes e então descartado.

O instrumental cirúrgico foi lavado com clorexidine em água corrente.

### **4.3 Estudo Histopatológico**

Todos os LS foram submetidos a exame histopatológico convencional. Os espécimes do linfonodo foram fixados em formol 10%; a seguir foram desidratados em álcool etílico, diafanizados pelo xilol e incluídos na parafina líquida. Os blocos foram então cortados em micrótomos e os cortes com espessura de 4 $\mu$ m, montados em lâminas e, em seguida, corados pela hematoxilina e eosina para a verificação da presença do carvão ativado intra linfonodal, bem como sua distribuição intralinfonodal pela leitura da lâmina ao microscópio de luz.

### **4.4 Análise Estatística**

Para a análise dos resultados foi aplicado o teste do quiquadrado para tabela de contingência. Foi fixado em 0,05 ou 5% o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

## ***RESULTADOS***

---

## 5 RESULTADOS

No período de junho a setembro de 2005, estudaram-se 60 animais, separados em três grupos, submetidos à injeção de carvão ativado na face ventral da pata posterior direita e a BLS (poplíteo).

Em um grupo, que denominamos G1 estudou-se a permanência do carvão ativado no LS, após um dia de sua injeção. No grupo G7 estudou-se a permanência do carvão ativado no LS, após sete dias de sua injeção e o no grupo G21 estudou-se a permanência do carvão ativado no LS, após vinte e um dias de sua injeção.

O peso dos animais variou de 200 a 275g. A média do G1 foi de 238,50g, a média do G7 foi de 238,75g e a média do G21 foi de 234,25g. A média dos grupos foi de 237,16 e não houve diferença estatística significativa entre os grupos.

O estudo foi possível em todos os animais, não havendo nenhum óbito.

Analisou-se a presença de carvão ativado de cada linfonodo dissecado dos animais dos três grupos, por meio de exame histológico convencional pelo método da hematoxilina-eosina.

Em todos os animais o LS foi encontrado e estava corado em preto.

Ao colocar o linfonodo na solução de formol a 10%, houve o desprendimento do corante vital, corando a solução em azul. Em diversos

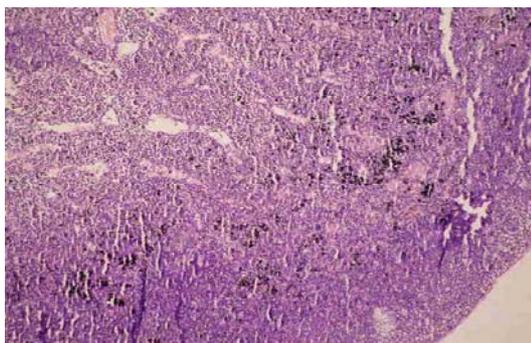
animais observamos que vasos linfáticos aferentes e eferentes também estavam corados em azul, bem como o linfonodo inguinal.

Em todos os animais, dos referidos grupos, o LS estava macroscopicamente preto, sugerindo a presença do carvão ativado. O estudo histopatológico confirmou a presença do carvão ativado em todos os linfonodos dos três grupos (Tabela 1).

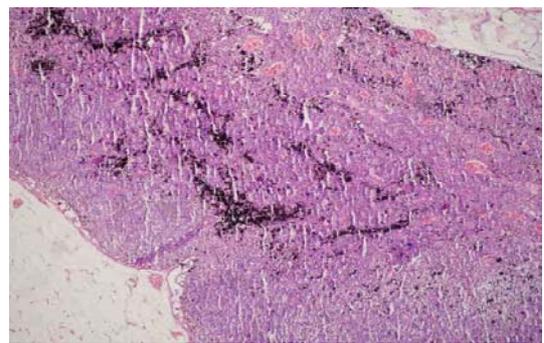
Durante o exame histopatológico, observou-se que a distribuição intralinfonodal do carvão ativado era diferente nos três grupos.

No G1 houve um predomínio de carvão ativado em seio subcapsular, nos grupos G7 e G21 houve significativo predomínio em seio medular (Figuras 4 e 5).

O estudo estatístico da distribuição do carvão ativado intralinfonodal mostrou significância estatística entre os grupos, pelo teste quiquadrado ( $\chi^2 = 18,87$ ;  $p=0,008$ ) (Tabela 2).



**Figura 4.** Linfonodo sentinela do G1 .



**Figura 5.** Linfonodo sentinela do G21.

**Tabela 1:** Presença de carvão ativado no LS

GRUPO	SIM	NÃO	N	% SIM
1	20	0	20	100
7	20	0	20	100
21	20	0	20	100
TOTAL	60	0	60	100

**Tabela 2:** Distribuição do carvão ativado no LS

GRUPO	Medular	Sucapsular	Ambos	Total
1	11	3	6	20
7	12	8	0	20
21	18	2	0	20
TOTAL	41	13	6	60

Teste  $\chi^2 = 18,87$

p = 0,0008

***DISCUSSÃO***

---

## 6 DISCUSSÃO

A BLS, tal qual é realizada atualmente, é um procedimento cirúrgico dentro da linha de tratamentos minimamente invasivos, oferecendo aos pacientes menos agressividade e preservando a curabilidade. Ela seleciona os pacientes que devem ser submetidos à linfadenectomia completa (aqueles com LS comprometido pelo câncer), com baixa taxa de falso-negativo.

Sem dúvida alguma, representa um grande avanço na cirurgia oncológica. Inicialmente estabelecida para o melanoma, sua aplicação já é conduta no câncer de mama e está sendo experimentada em diversos tumores cuja disseminação inicial ocorre preferencialmente pela via linfática (como o câncer de cabeça e pescoço e o câncer ginecológico).

Embora o procedimento de BLS esteja sendo adotado em diversos centros oncológicos do mundo, existem alguns aspectos a serem evoluídos.

Ainda é um procedimento que apresenta resultados falso - negativos, ou seja, pacientes que apresentam LS negativo durante a evolução apresentam reincidência da doença na mesma região linfática em que havia sido retirado o LS.

Um dos fatores desses casos falso-negativos é o exame pelo patologista de um falso LS ou erro do patologista. Assim, a utilização de um marcador duradouro do LS, que não traga malefícios ao paciente e que possa ser identificado pelo patologista, é de grande valor.

Os corantes vitais mais utilizados atualmente são o azul patente V e o azul isosulfan. Ambos agentes, bem como os radiofármacos utilizados na linfocintilografia, não são marcadores permanentes, dissipam-se e não são identificados pelo patologista. (GLASS et al., 1996; PIJPERS et al., 1997; MORTON et al., 1999; OLIVEIRA-FILHO et al., 2000b).

No nosso experimento, o LS estava corado em preto nos 60 animais estudados e também continha o corante vital, demonstrado pela liberação deste quando o linfonodo foi colocado em solução de formol a 10%. Desta forma, o carvão ativado funcionou como corante vital, permitindo identificar o LS em todos os casos.

Outra observação interessante é que, em diversos animais, a olho nu, os linfonodos inguinais estavam corados pelo azul, mas não pelo carvão ativado. Isto indica uma maior retenção do carvão ativado no LS.

Sendo assim, o carvão ativado pode servir como corante vital, tendo sua limitação na tatuagem que produz no sítio de injeção. LUCCI et al., (1999) observaram que a difusão intradérmica do carvão ativado é menor em comparação ao corante vital azul isosulfan.

A quantidade de carvão injetada, (0,1 ml) nos animais do nosso estudo, produziu uma marca permanente no local da injeção, mas não observamos nenhum efeito local e todos os animais sobreviveram após o seu uso até o dia do sacrifício, de acordo com cada grupo, sugerindo não toxicidade sistêmica do mesmo. A concentração de carvão ativado a 6% permitiu sua visibilização no LS tanto macroscópica quanto microscopicamente. A análise histopatológica do

LS, embora tenha visibilizado facilmente o carvão ativado, a presença deste era intensa e poderia prejudicar a identificação de micrometástases, de acordo com as observações do patologista.

O estudo histopatológico identificou carvão ativado em todos os animais, mostrando que ele cora o LS e nele permanece por, pelo menos 21 dias, que foi o tempo máximo de observação do nosso experimento.

Estudo experimental em porcos (NASON et al., 2005), apesar de uma amostra pequena (4 animais), também encontrou resultados semelhantes aos nossos, sendo que sua avaliação mais tardia foi com 7 dias.

Embora não estivesse no nosso objetivo, foi observado no exame histopatológico que o carvão ativado fica retido inicialmente na região subcapsular e aos poucos migra para o seio medular do linfonodo ( $p < 0,0008$ ). Esse achado está de acordo com o que é encontrado na prática clínica, onde as micrometástases localizam-se preferencialmente no seio subcapsular (MURRAY et al. 2004). Os nossos resultados são compatíveis com a possibilidade, já sugerida por outros autores, de que o carvão ativado serviria como marcador da micrometástase no LS, orientando o estudo histopatológico.

O carvão ativado já tem sido usado por muitos anos para produzir a coloração preta em tatuagens na pele. Na medicina, o carvão ativado serve tanto ao diagnóstico a fim de marcar câncer de colon, facilitando a colectomia vídeo-laparoscópica (KITAMURA et al., 1995), como ao uso terapêutico em adsorção com drogas citotóxicas para melhor distribuição e concentração dos quimioterápicos nos linfonodos (TAKAHASHI et al., 1991).

O uso clínico de carvão ativado em uma quantidade de 0,4 a 1,0 ml para tatuagem de lesão de colon não apresenta complicações nem toxicidade (HYMAN e WAYE, 1991).

No estudo clínico em melanoma cutâneo, HAIGH et al. (2001), utilizando uma mistura de 1,0 a 1,5ml de carvão ativado a 6% combinado com isosulfan e enxofre coloidal, numa proporção de 1:3, mostrou que as partículas de carvão ativado parecem estar mais bem correlacionadas com o corante vital do que o radiofármaco. De acordo com seus resultados, o carvão ativado permite a confirmação histológica do LS na avaliação pelo patologista e direciona a área do linfonodo mais provável de conter micrometástases.

MORTON et al. (2003) têm mostrado, pelo mapeamento linfático que os linfonodos recebem drenagem aferente em uma porção específica deles e que, se o exame não for feito na região correta, isto pode levar a resultados falso-negativos. O uso do carvão, como um mapeamento adjunto, poderia confirmar e identificar o LS e marcar a porção correta do LS mais comum para conter células tumorais.

O carvão ativado também já foi utilizado no câncer de mama como um método para visibilizar os linfonodos axilares em pacientes obesas (YOKOTA et al., 2000) e como mapeamento linfático para BLS (LIU et al., 2003).

O grande uso do mapeamento linfático e BLS na avaliação de pacientes com melanoma, câncer de mama e outros cânceres tem aumentado a carga de trabalho dos patologistas. Apesar da diminuição do número de linfonodos

encaminhados ao patologista com o procedimento da BLS, cada LS deve ser estudado exaustivamente.

Um marcador intralinfonodal que auxilie o patologista no encontro das micrometástases, facilitará o estudo histopatológico.

Esses estudos anteriores, bem como o nosso, apontam que o carvão ativado poderia cumprir este papel. Um modelo experimental que produza micrometástases no LS e que possibilite o estudo da distribuição do carvão ativado no LS será extremamente útil para avaliar essa questão.

O resultado histopatológico negativo de um LS, em que o patologista também encontrou carvão ativado, certamente tem mais crédito do que o LS negativo, porém sem carvão ativado; apesar de o cirurgião tê-lo utilizado associado ao corante vital no mapeamento linfático. Isto porque a presença do carvão fortaleceria a certeza de que aquele linfonodo examinado seja realmente o LS.

Este experimento mostrou que o carvão ativado identifica o LS e nele permanece por, pelo menos, 21 dias. Certamente este estudo servirá de base para outros estudos como a interferência de cirurgias sobre área de drenagem linfática do LS (colocação de prótese mamária por via axilar, por exemplo) e para o estudo de uma concentração adequada de uma solução de corante vital com carvão ativado que identifique o LS e que produza pouca tatuagem no sítio de injeção, de tal forma que o tratamento do tumor primário retiraria todo o carvão ativado.

***CONCLUSÃO***

---

## **7 CONCLUSÃO**

O carvão ativado identifica o LS e nele permanece por no mínimo 21 dias.

## ***REFERÊNCIAS***

---

## 8 REFERÊNCIAS

Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977; 39:456-66.

Cochran AJ, Huang RR, Guo J, Wen DR. Current practice and future directions in pathology and laboratory evaluation of the sentinel node. *Ann Surg Oncol* 2001; 8(9):13S-7S.

Cochran AJ, Roberts A, Wen DR, Huang RR, Itakura E, Luo F, Binder SW. Update on lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the management of patients with melanocytic tumours. *Pathology* 2004; 36(5):478-84.

Da Silva AM, Oliveira-Filho RS, Ferreira LM. Relevance of micrometastases detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction for melanoma recurrence: systematic review and meta-analysis. *São Paulo Med J* 2003; 121:24-7.

Glass LF, Messina JL, Cruse W, Wells K, Rapaport D, Miliotes G, Berman C, Reingten D, Fenske NA. The use of Intraoperative radiolymphoscintigraphy for sentinel node biopsy in patients with malignant melanoma. *Dermatol Surg* 1996; 22:715-20.

Greene F, Page DL, Fkeming ID, Frit AG, Balch CM, Haller DG, Morrow M. AJCC Cancer Staging Handbook. 6<sup>th</sup> ed. New York: Springer Verlag; 2002. Carcinoma of the skin; p.231-54.

Haigh PI, Lucci A, Turner RR, Bostick PJ, Krasne DL, Stern SL, Morton D. Carbon dye histologically confirms the identify of sentinel lymph nodes in cutaneous melanoma. *Cancer* 2001; 92:535-41.

Hoefnagel CA. Role of nuclear medicine in melanoma. *Eur J Nucl Med* 1998; 25:1567-74.

Hyman N, Waye JD. Endoscopic four quadrant tattoo for the identification of colonic lesions at surgery. *Gastrointest Endosc* 1991; 37:56-8.

Kitajima M. Universal application of sentinel node technology – Advent of the new era of individualized treatment of solid tumors. Abstract of III International Congress on Sentinel Node. Yokohama, Japão, 2002.

Kitamura K, Yamane T, Oyama T, Shimotsuma M, Hagiwara A, Yamaguchi T. Rapid and aaccurate method for delineating cancer lesions in laparoscopic colectomy using actived carbom injection. *J Surg Oncol* 1995; 58:31-3.

Krag DN, Meijer SJ, Weaver DL, Loggie BW, Harlow SP, Tanabe KK, Alex JC. Minimal-access surgery for staging of malignant melanoma. *Arch Surg* 1995; 130:654-8.

Leong SP, Kashani-Sabet M, Desmond RA, Kim RP, Nguyen DH, Iwanaga K, Treseler PA, Allen RE Jr, Morita ET, Zhang Y, Sagebiel RW, Soong SJ. Clinical significance of occult metastatic melanoma in sentinel lymph nodes and other high-risk factors based on long-term follow-up. *World J Surg* 2005; 29:683-91.

Liu CL, Yang TL, Chen BF. Sentinel lymph node mapping with emulsion of activated carbon particles in patients with pre-mastectomy diagnosis of intraductal carcinoma of breast. *J Chin Med Assoc* 2003; 66:406-10.

Lucci A, Turner RR, Morton DL. Carbon dye as an adjunct to isosulfan blue dye for sentinel lymph node dissection. *Surgery* 1999; 126:48-53.

Mariani G, Moresco L, Viale G, Villa G, Bagnasco M, Canavese G, Buscombe J, William Strauss H, Paganelli G. Radioguided sentinel lymph node biopsy in breast cancer surgery. *J Nucl Med* 2001; 42:1198-1215.

Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm K, Foshag LJ, Cochran AJ. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127:392-9.

Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, Roses DF, Karakousis CP, Mozzillo N, Reingten D, Wang H, Glass EC, Cochran AJ. Validation of the accuracy of intra-operative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. *Ann Surg* 1999; 230:453-65.

Morton DL, Hoon DSB, Cochran AJ, Turner RR, Essner R, Takeuchi H, Wanek LA, Glass E, Foshag LJ, Hsueh EC, Bilchik AJ, Elashoff D, Elashoff R. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma. *Ann Surg* 2003; 238:538-50.

Murray CA, Leong Wl, McCready DR, Ghazarian DM. Histopathological patterns of melanoma metastases in sentinel lymph nodes. *J Clin Pathol* 2004; 57:64-7.

Nason RW, Torchia MG, Morales CM, Thliveris J. Dynamic MR.

Lymphangiography and carbon dye for sentinel lymph node detection: a solution for sentinel lymph node biopsy in mucosal head and neck cancer. *Head & Neck*. 2005; 27:333-8.

Oliveira-Filho RS, Tovo Filho R, Bortoleto MC. Mapeamento linfático intra-operatório para melanoma estágio clínico I – uma técnica promissora. *An Bras Dermatol* 1994; 69:477-81.

Oliveira-Filho RS, Oliveira-Santos IAD, Ferreira LM, Barbieri A, Almeida FA, Simões e Enokihara MMS. Linfadenectomia seletiva com biópsia de linfonodo sentinela no melanoma cutâneo. Experiência brasileira-Projeto FAPESP 97/02516-0. *An Bras Dermatol* 2000a; 75:573-80.

Oliveira-Filho RS, Santos ID, Ferreira LM, Almeida FA, Silva via Enokihara MM, Barbieri A, Tovo-Filho R. Is intra-operative gamma probe detection really necessary for inguinal sentinel lymph node biopsy? *São Paulo Med J* 2000b; 118:165-8.

Oliveira-Filho RS, Ferreira LM, Paiva GR, Wagner J. Biópsia de linfonodo sentinela no melanoma cutâneo. In: Oliveira-Filho RS, Festa-Neto C, Paschoal FM, Tovo LFR, Ferreira LM, et al. *Melanoma Cutâneo Localizado e Linfonodo Sentinela*. São Paulo, LEMAR, 2003a. p.113-24.

Oliveira-Filho RS, Ferreira LM, Biasi LJ, Enokihara MMSS, Paiva GR, Wagner J. Vertical growth phase and positive sentinel node in thin melanoma. *Braz J Med Biol Res* 2003b; 36:347-50.

Oliveira-Filho RS, Paiva GR, Wagner J et al. Experimental model in rat for sentinel node biopsy. *Acta Cir Bras* 2003c; 18:15-21.

Paiva GR.  $^{99m}\text{Tc}$ -Fitato e  $^{99m}\text{Tc}$ -Dextran500 na linfocintilografia para biópsia de linfonodo sentinela em ratos. [Tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo- Escola Paulista de Medicina; 2004.

Pijpers R, Borgstein PJ, Meijer S, Hoekstra OS, van Hattum LH, Teule GJ. Sentinel biopsy in melanoma patients: Dynamic lymphoscintigraphy followed by intraoperative gamma probe and vital dye guidance. *World J Surg* 1997; 21:788-93.

Ponzzone R, Biglia N, Maggiorotto F, Kubatzki F, Elia O, Rosa G, Sismondi P. Sentinel node dissection as definitive treatment for node negative breast cancer patients. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29:703-6.

Takahashi T, Sawai K, Hagiwara A, Takahashi S, Seiki K, Tokuda H. Type-oriented therapy for gastric cancer effective for lymph node metastasis: management of lymph node metastasis using activated carbon particles adsorbing an anticancer agent. *Sem Surg Oncol* 1991; 7:378-83.

Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF. Cutaneous melanoma. *Lancet* 2005; 365:687-701.

Tovo Filho RR. Detecção de micrometástases de melanoma em linfonodo sentinela no melanoma cutâneo através de pesquisa de mRa-tirosinase pela RT-PCR no Brasil. [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2001.

Woyforth HB, Flecknell PA. Experimental and surgical technique in the rat. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press; 1994. Specific Surgical Operations; p.203-310.

Yokota T, Saito T, Narushima Y, Iwamoto K, Iizuka M, Hagiwara A, Sawai K, Kikuchi S, Kunii Y, Yamauchi H. Lymph-node staining with activated carbon CH40: a new method for axillary lymph-node dissection in breast cancer. CJS 2000; 43:191-6.

***FONTES CONSULTADAS***

---

## **FONTES CONSULTADAS**

COBEA- Colégio Brasileiro de Experimentação Animal [on line ]. Legislação e ética. São Paulo; 2004. [ citado 2003 fev 1 ] Disponível em

<http://www.meusite.com.br/cobea/index.html>

Descritores em ciências da saúde. [on line] 2005 [citado 2005 abr 2]. Disponível em: URL:<http://decs.bvs.br/>.

Ferreira ABH. Novo Aurélio Século XXI: o dicionário da língua portuguesa. 3<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro, Editora Nova Fronteira, 1999, 2128p.

Herani MLG. Normas para apresentação e dissertação de teses. São Paulo, 1990, 46p.

Rother ED & Braga MER. Como elaborar sua tese: estrutura e referências. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo , Revista e Ampliada. 2005, 122p.

Siegel S, Castellan-Jr NJ. Nonparametric statistics. Second edition. New York, McGraw-Hill Int Ed, 1988. p.399.

Stedman TL. Stedman's medical dictionary. 25<sup>a</sup> ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1990. 1784p.

***APÊNDICES***

---





São Paulo, 17 de junho de 2005.  
CEP 0444/05

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) RENATA VALIM DE SOUZA VIDEIRA

Co-Investigadores: Renato Santos de Oliveira Filho; Allisson Monteiro da Silva; Alexandre Nunes Andrade; Lydia Masako Ferreira; Rodney Junqueira Pereira

Disciplina/Departamento: Cirurgia Plástica/Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador: Recursos Próprios.

### PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: "**Carvão ativado como marcador de linfonodo sentinela em ratos**".

**CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO:** Estudo experimental crônico em ratos wistar para desenvolvimento de nova forma diagnóstica.

**RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE:** não se aplica.

**OBJETIVOS:** Estudar a permanência do carvão ativado no linfonodo sentinela.

**RESUMO:** Serão estudadas 60 ratas adultas jovens da linhagem wistar EPM-1 procedentes do Biotério Central da Unifesp. O animal será anestesiado com 1mL/kg de um composto de 125 mg de cloridrato de tiletamina e 125 mg de zolazepan, com seringa e agulha de insulina injetado na cavidade peritoneal no quadrante inferior esquerdo do abdomen. Nesta dosagem a anestesia dura cerca de 120 min e, caso seja necessário será administrado uma dose adicional de 10 mg. Serão formados 3 grupos com 20 animais em cada grupo, no grupo I os linfonodos serão excisados e identificados para exame anatomo-patológico um dia após a injeção de carvão ativado. Após o procedimento o animal será sacrificado com éter sulfúrico, no grupo II os linfonodos serão excisados e identificados para exame anatomo-patológico oito dias após a injeção de carvão ativado e no grupo III vinte e dois dias após a injeção de carvão ativado e após o procedimento os animais serão sacrificados. Serão realizados as biópsias e estudo histológico do linfonodo sentinela.

**FUNDAMENTOS E RACIONAL:** .

**MATERIAL E MÉTODO:** descrito o modelo experimental já padronizado pela equipe.

**DETALHAMENTO FINANCEIRO:** Aguardando aprovação da Fapesp R\$ 1993,00.

**CRONOGRAMA:** 12 meses.

**OBJETIVO ACADÊMICO:** mestrado.

**ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA:** 12/6/2006 e 7/6/2007.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana**

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da  
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo