

PAULA CRISTINA FADA DOS SANTOS

**EQUIPAMENTO BRASILEIRO DE DETECÇÃO
GAMA INTRA-OPERATÓRIA NA
IDENTIFICAÇÃO DE LINFONODO
SENTINELA**

**Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências.**

SÃO PAULO

2008

PAULA CRISTINA FADA DOS SANTOS

**EQUIPAMENTO BRASILEIRO DE DETECÇÃO
GAMA INTRA-OPERATÓRIA NA
IDENTIFICAÇÃO DE LINFONODO
SENTINELA**

**Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências.**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. IVAN DUNSHEE DE
ABRANCHES OLIVEIRA
SANTOS**

**CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. FÁBIO XERFAN
NAHAS**

**SÃO PAULO
2008**

FICHA CATALOGRÁFICA

Santos, Paula Cristina Fada dos

Equipamento brasileiro de detecção gama intra-operatória na identificação de linfonodo sentinela / Paula Cristina Fada dos Santos. -- São Paulo, 2008.

xiii, 59f.

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

Título em inglês: Equipment brazilian of intraoperative gamma detection in the identification of sentinel lymph node.

1. Biópsia de linfonodo sentinela. 2. Equipamento. 3. Desenho experimental

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

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

COORDENADORA: Profa. Dra. LYDIA MASAKO FERREIRA

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese aos meus avós Ophelia e João por me incentivarem sempre a buscar meus sonhos e me ensinarem o valor da vida, à minha mãe pelo grande amor durante toda jornada, aos meus irmãos, cunhadas e sobrinhos por serem a minha família e estarem felizes junto comigo.

AGRADECIMENTOS

À PROF^a. DR^a. **LYDIA MASSAKO FERREIRA**, professora Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica – Universidade Federal de São Paulo e Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica – Universidade Federal de São Paulo, pela oportunidade de participar do programa de pós-graduação e principalmente por ser um exemplo de incentivo e de grande dinamismo para a pesquisa.

Ao DR. **RENATO SANTOS DE OLIVEIRA FILHO**, cirurgião oncológico e Doutor em Medicina pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo que inicialmente orientou-me e ofereceu-me conhecimento e dedicação.

Ao PROF. DR. **IVAN DUNSHEE DE ABRANCHES OLIVEIRA SANTOS**, chefe da Disciplina de Cirurgia Plástica - Universidade Federal de São Paulo, por ter me orientado e pela dedicação e paciência na finalização deste trabalho.

Ao PROF. DR. **FABIO XERFAN NAHAS**, professor afiliado Livre-Docente da Universidade Federal de São Paulo e cirurgião plástico, por ser meu co-orientador e pela paciência na correção criteriosa deste trabalho.

À DR^a. **ALLISSON MONTEIRO DA SILVA**, cirurgiã oncológica, Mestre em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo, por ter dividido seu tempo de mãe para o acompanhamento deste trabalho.

À **RENATA VALIN DE SOUZA VIDEIRA**, fisioterapeuta coordenadora do curso de especialização em fisioterapia do Hospital AC Camargo e Mestre em Ciências Médicas pela Universidade Federal de São Paulo, por ter me dado o incentivo para realização deste trabalho.

Ao departamento de Diagnóstico por Imagem da Universidade Federal de São Paulo, especialmente ao DR. **MÁRIO LUIZ VIEIRA CASTIGLIONI**, coordenador do Departamento de Medicina Nuclear, que contribuiu com atenção e preparou o material para realização do trabalho.

Ao departamento de Diagnóstico de Imagem e Medicina Nuclear do Hospital Samaritano, especialmente ao DR. **GUILHERME DE CARVALHO CAMPOS NETO**, médico especialista em Medicina Nuclear pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por ter nos disponibilizado o equipamento importado.

À **DENISE SIMÃO CARNIELI**, fisioterapeuta da UTI do Hospital AC Camargo, pela amizade, por ter me ajudado na realização experimental e que com carinho e paciência esteve comigo no laboratório.

Ao **RODNEY JUNQUEIRA PEREIRA**, graduando do curso de medicina da Universidade Federal de São Paulo, que me ajudou no desenvolvimento experimental do trabalho.

À **ELIZIANE NITZ DE CARVALHO CALVI**, coordenadora do curso de estética da Cruz Vermelha do Brasil e Mestre em Ciências Médicas pela Universidade Federal de São Paulo, que esteve comigo em todas as etapas do trabalho, pela amizade e confiança e por me dado à oportunidade de ensinar.

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

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo, pela paciência e incentivo constante para realização deste trabalho.

À equipe do Núcleo de Proteção Radiológica da Universidade Federal de São Paulo, que com paciência colaborou muito para o desenvolvimento experimental.

À todos os funcionários do Laboratório Experimental da Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo, que ajudaram na realização experimental.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	iv
AGRADECIMENTOS.....	v
LISTAS.....	ix
RESUMO.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO.....	5
3. LITERATURA.....	6
4. MÉTODOS.....	15
5. RESULTADOS.....	24
6. DISCUSSÃO.....	30
7. CONCLUSÕES.....	38
8. REFERÊNCIAS.....	39
ABSTRACT.....	51
APÊNDICE.....	52
ANEXO.....	57
FONTES CONSULTADAS.....	58

Lista de Figuras

Figura 1.	Injeção do Azul Patente V no coxim plantar do membro <i>pélvico</i> direito do animal.....	18
Figura 2.	Incisão da região <i>poplítea</i> até a região <i>inguinal</i> para a Biópsia de Linfonodo Sentinela.....	19
Figura 3.	Localização do linfonodo sentinela corado pelo Azul Patente V.....	20
Figura 4.	Medição da captação radioativa na região <i>axilar</i> esquerda (leitura de fundo), equipamento brasileiro.....	20
Figura 5.	Equipamento de Detecção Gama Intra-operatória brasileiro (Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares).....	21
Figura 6.	Gráfico de dispersão da captação de radiação gama de cada Linfonodo Sentinela <i>ex vivo</i>	26
Figura 7.	Gráfico de dispersão da captação de radiação da região de fundo do grupo A.....	27
Figura 8.	Gráfico de dispersão da captação de radiação do sítio de injeção do grupo A.....	28
Figura 9.	Gráfico de dispersão da captação de radiação gama do Linfonodo Sentinela <i>ex vivo</i> do grupo A.....	29

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Captação de radiação gama pelos equipamentos de Detecção Gama Intra-operatória (importado e do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares) dos Linfonodos Sentinela <i>ex vivo</i> do grupo A e do grupo C.....	25
Tabela 2.	Valores de captação de radiação gama da região de fundo dos equipamentos de Detecção Gama Intra-operatória (importado e do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares) do grupo A.....	26
Tabela 3.	Valores de captação de radiação gama da região do sítio de injeção pelos equipamentos de Detecção Gama Intra-operatória (importado e do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares) do grupo A.....	28
Tabela 4.	Valores de captação de radiação gama do Linfonodo Sentinela <i>ex vivo</i> pelos equipamentos de Detecção Gama Intra-operatória (importado e do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares) do grupo A.....	29

Lista de abreviaturas e símbolos

- AJCC/UICC American Joint Committee on Cancer Staging System; Union Internationale Contre Cancer
- BLS Biópsia de Linfonodo Sentinela μ Cimicro Curie
- COBEA Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
- CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- DGI Detecção Gama Intra-operatória
- IPEN Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares
- FAPESP Fundação de Apoio à Pesquisa no Estado de São Paulo
- LS Linfonodo Sentinela
- NEMA National Electrical Manufacturers Association
- Tc ^{99m} Tecnécio 99
- SPSS Statistical Package for Social Science

RESUMO

Introdução: Os equipamentos disponíveis para a realização da detecção gama intra-operatória são importados e de alto custo. Com o objetivo de diminuir os custos de aquisição e manutenção do equipamento, o Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares desenvolveu um equipamento brasileiro de detecção gama intra-operatória, que consiste de uma sonda radioguiada. **Objetivo:** Testar equipamento brasileiro de detecção gama intra-operatória na identificação de linfonodo sentinela. **Métodos:** Foram utilizados 30 ratos adultos jovens. Depois de anestesiados, os animais foram distribuídos em dois grupos de 15 animais cada. O grupo A recebeu radiofármaco Dextran 500 – Tc^{99m} e Azul Patente V. O grupo C recebeu somente Azul Patente V. O grupo A foi submetido a medição da captação radioativa de fundo, do sítio de injeção e do linfonodo sentinela *ex vivo*. Essas medições foram realizadas pelos dois equipamentos. Após a exerece, cada linfonodo do grupo A e do grupo C foram dispostos aleatoriamente em nova seqüência e procedeu-se à leitura com medição da radioatividade com os dois equipamentos. Foram aplicados o teste de Mann-Whitney, o teste t pareado de Student e o Alfa de Cronbach. **Resultados:** Tanto o equipamento do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares como o equipamento importado localizaram o Linfonodo Sentinela. Os valores de captação da radiação gama de cada Linfonodo Sentinela *ex vivo* demonstraram alfa de Cronbach com alta consistência interna dos dados (0,9188).

O equipamento do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares detectou radiação mesmo nos linfonodos que não receberam o radiofármaco. Na região do sítio de injeção observou-se diferença entre os pares de resultados dos dois aparelhos ($p=0,0013$), o teste de Mann-Whitney não foi capaz de detectar diferenças entre os dois grupos de resultados. **Conclusão:** O equipamento brasileiro de detecção gama intra-operatória identifica o linfonodo sentinela e mostra falsos positivos.

1. INTRODUÇÃO

O linfonodo sentinela (LS) é definido como o primeiro linfonodo da base linfonodal para a qual ocorre a drenagem do tumor primário (CABANAS *et al.*, 1977; MORTON *et al.*, 1992). A BLS foi estabelecida por Morton *et al.* (1999) em melanoma, inicialmente apenas com Azul Patente V, e estendeu-se para câncer de mama por KRAG *et al.* (1993). A BLS permite fazer o microestadiamento de tumores sólidos que se disseminam, inicialmente, de modo preferencial para o sistema linfático. Esse conceito aumentou a possibilidade de estadiamento mais acurado.

A BLS já faz parte do estadiamento oficial do melanoma e do câncer de mama de acordo com a AJCC/UICC (*American Joint Committee on Cancer Staging System; Union Internationale Contre Cancer*) (GREENE *et al.*, 2002). A técnica tem diminuído o número de linfadenectomias radicais, reduzindo, assim, a morbidade desse procedimento (KRAG *et al.*, 1995; MARIANI *et al.*, 2001; MARIANI *et al.*, 2002; MURRAY *et al.*, 2000; OLIVEIRA FILHO *et al.*, 1994; OLIVEIRA FILHO *et al.*, 2000b; PIJPERS *et al.*, 1995; ROSS *et al.*, 1993).

A reprodutibilidade da técnica de BLS foi demonstrada em muitos estudos. OLIVEIRA FILHO *et al.* (1994) introduziram a técnica de BLS no Brasil, realizando-a em pacientes com melanoma cutâneo. OLIVEIRA FILHO *et al.* (2000)b, realizaram uma investigação clínica de linfadenectomia seletiva com BLS. Os autores utilizaram Azul Patente V associado a DGI e os resultados mostraram maior precisão no encontro do LS.

A combinação de mapeamento linfático com corante vital e detecção gama intra-operatória na BLS demonstra ser mais sensível para detectar LS (BILCHIK *et al.*, 1998; COX *et al.*, 2000; LEVENBACK *et al.*, 2001; MARIANI *et al.*, 2001; MARIANI *et al.*, 2002; SATO *et al.*, 2000;

SLIUTZ *et al.*, 2002). A acurácia de encontro do LS com esta associação é alta sendo a taxa de identificação do LS entre 98-100% (ALBERTINI *et al.*, 1996; BELLI *et al.*, 1998; BOSTICK *et al.*, 1999; CSERNI *et al.*, 2002; KAPTEIJN *et al.*, 1998; KRAG *et al.*, 1993; OLIVEIRA FILHO *et al.*, 1997; PIJPERS *et al.*, 1997; WONG *et al.*, 1991).

A utilização da Detecção Gama Intra-operatória (DGI) já está bem estabelecida para a identificação de Linfonodos Sentinela (LS) em melanoma (ALEX & KRAG, 1993; KAPTEIJN *et al.*, 1997; KRAG *et al.*, 1995; MARANI *et al.*, 2002) e em câncer de mama (KAPTEIJN *et al.*, 1998; KRAG *et al.*, 1993; MARIANI *et al.*, 2001). Além disso, 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). Atualmente, é considerada essencial e indispensável para o procedimento de biópsia do linfonodo sentinela (BLS). Além da alta sensibilidade para detecção dos linfonodos, a DGI torna o procedimento de BLS menos invasivo.

Atualmente, existem vários equipamentos comercialmente disponíveis para a realização da DGI. Os equipamentos são importados, apresentando alto custo de aquisição e manutenção, o que muitas vezes limita o seu uso. Esses equipamentos são basicamente constituídos por uma sonda. A sonda possui um cristal ou pequena gama-câmara na extremidade distal. Essa pequena câmara é acoplada a um contador portátil (COSTA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2006).

COSTA *et al.* (2006) desenvolveram um equipamento nacional de DGI, constituído por uma sonda cirúrgica radioguiada. Os testes para avaliação deste equipamento têm a finalidade de contribuir com possíveis aperfeiçoamentos do mesmo para colocá-lo à disposição para uso clínico

nos centros cirúrgicos. Desta maneira, propõe-se comparar o equipamento brasileiro com o equipamento importado através dos achados obtidos na BLS, utilizando modelo experimental.

2. OBJETIVO

Testar equipamento brasileiro de detecção gama intra-operatória na identificação de linfonodo sentinela.

3. LITERATURA

CABANAS (1977) realizou linfografias, demonstrando drenagem para um linfonodo específico, denominado Linfonodo Sentinela (LS). Verificou-se ser este o primeiro local a receber metástases. Foram realizadas 46 biópsias de linfonodo sentinela. Quando a Biópsia do Linfonodo Sentinela (BLS) foi negativa para a doença metastática, nenhuma complementação cirúrgica imediata foi necessária. Demonstrou-se que para o LS negativo, a sobrevida em 5 anos foi de 90% e na presença de metástases a sobrevida em 3 anos foi de 20%. Assim, sugeriu-se que a linfadenectomia fosse realizada caso o LS estivesse comprometido.

HOLMES *et al.* (1977) descreveram o uso de linfocintilografia cutânea, no melanoma, para identificar as bases linfonodais de risco para a doença metastática. Foi realizada a injeção de partículas radioativas ao redor do tumor/cicatriz para identificar os linfonodos que receberam drenagem aferente do tumor.

HENZE *et al.* (1982) introduziram o Dextran 500 ligado ao tecnécio (Dextran-Tc^{99m}) como um promissor radiofármaco para linfocintilografias. O estudo foi feito em 13 cães e posteriormente em humanos. O Dextran, segundo o autor, apresenta tamanho de partículas de cerca de 4,5 nm, apresentando a vantagem de não penetrar em capilares sanguíneos.

MORTON *et al.* (1992) descreveram a técnica de mapeamento linfático utilizando o Azul Patente V e o Azul Isossulfan como corantes. O LS foi identificado em 82% dos casos (194 de 237 bases linfonodais). A frequência de falso-negativo foi menor que 1% dos casos (2 de 194 bases). Os autores concluíram que a BLS era uma alternativa prática e racional para a linfadenectomia eletiva nos pacientes portadores de melanoma sem comprometimento linfático clinicamente detectável.

OLIVEIRA FILHO *et al.* (1994) introduziram a técnica de BLS no Brasil, realizando-a em pacientes com melanoma cutâneo. Foi indicada a linfadenectomia completa somente quando o LS estava comprometido, evitando-se o procedimento nos pacientes que tinham linfonodo livre da doença.

KRAG *et al.* (1995) em um estudo com pacientes portadores de melanoma, demonstraram que a BLS foi possível em 95% dos pacientes e concluíram que a técnica era minimamente invasiva.

PJIPERS *et al.* (1995) realizaram linfocintilografia pré-operatória em 41 pacientes portadores de melanoma. O LS foi identificado em 93% dos casos com a DGI. Concluíram neste estudo que o procedimento de linfocintilografia quando associado à injeção do Azul Patente V e a DGI pode evitar a linfadenectomia radical nos pacientes que não apresentam o LS comprometido.

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

PJIPERS *et al.* (1997) estudaram 37 pacientes com câncer de mama e foram encontradas metástases no LS de 11 pacientes. Demonstraram através deste estudo que a linfocintilografia associada a DGI na identificação do LS foi eficaz em 92% dos pacientes.

MORTON *et al.* (1999) em um estudo multicêntrico, avaliaram a aplicação do mapeamento linfático intra-operatório, a BLS e a linfadenectomia completa em pacientes com melanoma. Os autores concluíram que o mapeamento linfático e a BLS podem ser aplicados com

sucesso em vários centros do mundo. Os resultados mostraram que a identificação do LS pode ser alcançada em 97% dos casos e que o mapeamento linfático usando Azul Patente V e radiofármaco é superior ao mapeamento usando apenas o Azul Patente V.

BRITTEN (1999) descreveu um método de avaliação de detecção gama intra-operatória para localização de linfonodo sentinela por meio de um modelo de simulação clínica. O método foi aplicado para avaliação das características físicas e desempenho das sondas de detecção gama intra-operatória.

OLIVEIRA FILHO *et al.* (2000)b, estudaram 85 pacientes portadores de melanoma cutâneo, como experiência brasileira. Os pacientes foram submetidos a BLS utilizando corante Azul Patente V e DGI. Foram realizadas linfocintilografias pré-operatórias totalizando 103 bases linfáticas. O LS foi identificado em 96,6% das bases e estava comprometido em 17 pacientes (20%). Quatro pacientes (4,7%) com LS negativo apresentaram recorrência. Os autores concluíram que a técnica é reprodutível e que os resultados corroboram com os dados da literatura.

OLIVEIRA FILHO *et al.* (2000)a, descreveram que o LS é identificado em cerca de 83% a 100% dos casos de acordo com a localização do mesmo. Sessenta e quatro pacientes com melanoma foram submetidos a linfocintilografia pré-operatória, a DGI e a injeção com Azul Patente V para BLS. Setenta bases linfonodais foram exploradas. A linfocintilografia mostrou drenagem ambígua em 7 pacientes. A DGI identificou o LS em 68 bases (97%) e o Azul Patente V em 53 bases (76%). A associação da DGI com Azul Patente V identificou o LS em 100% dos casos nas bases inguinais demonstrando alta taxa de localização do LS.

BOSTICK & GIULIANO (2000) descreveram a localização do LS com Azul Patente V para o mapeamento linfático em pacientes com melanoma, câncer de mama e outros tumores. Demonstraram através deste estudo de revisão que o corante identifica o LS e que a associação da DGI é complementar na facilidade de localização do LS.

ZANZONICO & HELLER (2000) demonstraram que a técnica de cirurgia radioguiada baseia-se na identificação e retirada do linfonodo sentinela. O radiofármaco é injetado na região do tumor primário como emissor de radiação gama. Desta maneira, a sonda gama intra-operatória permite a varredura ao longo da base linfática suspeita. Além disso, os autores relataram que o decaimento da radioatividade é um processo randômico e flutuações randômicas poderão alterar os valores mensurados durante a detecção. A radiação excita o cristal, que emite luz, a qual se converte em sinal elétrico. Este, por sua vez, é quantificado e transformado em um sinal sonoro. No local de concentração do radiofármaco, o sinal sonoro é emitido e a unidade de contagem mostra a medida de radiação.

EDREIRA *et al.* (2001) demonstraram em modelo experimental com camundongos que a injeção intradérmica do Dextran-Tc^{99m} permite maior acúmulo do radiofármaco no LS do que a inoculação intra tumoral. Os resultados deste estudo evidenciaram a eficácia do procedimento.

MARIANI *et al.* (2002) demonstraram que os níveis de contagem do LS comparados com a região de fundo são tipicamente da ordem de 10:1, 15:1 ou até 20:1. A medida da captação radioativa da região de fundo é o resultado da distribuição sistêmica do radiofármaco. É preferencialmente uma região de pouca vascularização e longe do sítio de injeção (valor de *background*). Os autores concluíram que estes valores dependem da dose

injetada, do tipo de radiofármaco injetado, do intervalo de tempo entre a injeção e a cirurgia, e do tipo de DGI utilizado.

OLIVEIRA FILHO *et al* (2003) demonstraram que a realização de BLS utilizando o corante Azul Patente V e a DGI em ratos é viável. A linfocintilografia pré-operatória mostrou os linfonodos. A injeção de Azul Patente V e a DGI para BLS identificou o LS. Assim, a descrição do modelo experimental demonstrou que a BLS em ratos permite a realização de pesquisas e ensino do procedimento.

CLASSE *et al.* (2005) estudaram 200 pacientes com diagnóstico de câncer de mama não palpável. Foi realizada BLS axilar comparando-se 3 tipos de sondas de DGI. Relataram que as sondas de DGI, para técnica de BLS, são comercialmente recentes não existindo protocolos definidos para sua avaliação.

SILVA *et al.* (2006) descreveram que as sondas gama são equipamentos compactos constituídos basicamente de duas partes. Primeiro, um sistema de detecção de radiação gama, que é concebido como sendo a própria sonda. A sonda é formada por um cristal cintilador ou um cristal semicondutor. A outra parte constitui de um sistema eletrônico, no qual o sinal é amplificado, processado e visualizado por meio de um *display* analógico ou digital.

COSTA *et al.* (2006)^b descreveram que a maioria das sondas gama intra-operatórias utilizam cristais semicondutores. As características físicas destes cristais permitem que a sonda seja utilizada à temperatura do corpo humano (37°C), com menos interferências de ruídos provenientes da geração térmica.

COSTA *et al.* (2006) desenvolveram junto ao IPEN com apoio da FAPESP (Fundação de Apoio à Pesquisa no Estado de São Paulo) e do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico) um equipamento brasileiro que compõe-se de uma sonda baseada em cristal semicondutor para identificação do LS. A radiação excita o cristal, que emite luz, convertida em sinal elétrico. Este, por sua vez, é quantificado e transformado em um sinal sonoro. O desenvolvimento eletrônico foi realizado no IPEN, envolvendo miniaturização dos componentes. Este estudo teve a finalidade de diminuir os custos de aquisição e manutenção do equipamento de DGI. Os autores concluíram que as propriedades físicas, bem como, os parâmetros que interferem no desempenho da sonda mostraram-se apropriados e eficientes no que diz respeito à manipulação e funcionamento do equipamento.

KIM, GIULIANO, LYMAN (2006) descreveram que o mapeamento linfático para BLS tem reduzido a morbidade associada ao carcinoma de mama. Foram estudados 8059 pacientes em 69 *trials*. Foi realizada a técnica de BLS combinando mapeamento linfático com Azul Patente V e a DGI. Concluíram através do estudo de meta análise que procedimentos complementares aumentam as chances de sucesso na localização do LS.

van RIJK *et al.* (2007) estudaram 368 pacientes com câncer de mama não palpável. Os resultados mostraram que a associação de DGI e o mapeamento linfático com corante azul foi eficiente na identificação de 97% dos linfonodos sentinela. Estes dados demonstraram que utilização da sonda de DGI é uma técnica complementar e precisa na localização do LS.

YEN *et al.* (2007) avaliaram a acurácia da DGI para BLS. Estudaram 213 pacientes com diagnóstico precoce de câncer de mama. Foi realizada injeção periareolar de radiofármaco para BLS em 207 pacientes. A

freqüência de identificação do LS foi de 97,2% (207/213). Setenta e sete pacientes apresentaram linfonodo metastático. A freqüência de falso-negativo da BLS para a detecção de metástase em LS axilar foi de 5,2% (4/77). Concluíram que a DGI demonstra ser um procedimento efetivo na localização de LS.

TUNN *et al.* (2008) Avaliaram a relevância da BLS em pacientes com sarcoma sinovial. Onze pacientes foram submetidos a BLS após linfocintilografia pré-operatória. Realizaram a DGI para identificar o LS e avaliação histopatológica. Os resultados mostraram que pelo menos um LS foi identificado em cada paciente. De um total de 15 LS, um foi positivo e 14 negativo. O paciente que apresentou LS positivo foi submetido a dissecação linfonodal regional e permaneceu livre de doença 17 meses depois. Um paciente evoluiu com metástases apesar do LS negativo e morreu 12 meses após o procedimento. Os autores concluíram que a BLS pode ser aplicada com sucesso e com segurança nos pacientes com sarcoma sinovial.

DATTA *et al.* (2008) demonstraram a utilização da DGI modificando a técnica de BLS em pacientes com hemorragia gastrointestinal baixa. Realizaram injeção de radiofármaco no momento da angiografia e identificaram a fonte de hemorragia através da DGI. Concluíram que esta abordagem envolveu risco mínimo e permitiu a localização da hemorragia.

SINGH *et al.* (2008) estudaram 52 pacientes com melanoma. Foi realizada tomografia computadorizada pré-operatória com 18F-fluorodeoxiglicose, linfocintilografia e BLS. Utilizaram a DGI e a tomografia para identificação do LS. Demonstraram que a DGI apresentou sensibilidade de 100% na localização do LS. Em contraste a tomografia

mostrou baixa sensibilidade para localização subclínica de metástases em pacientes com melanoma.

KARA *et al.* (2008) estudaram 32 pacientes com diagnóstico de câncer de colo de útero em estágio precoce. Os pacientes foram submetidos a linfocintilografia pré-operatória, a DGI e ao mapeamento linfático com Azul Patente V para a técnica de BLS. Realizaram a comparação entre as técnicas de identificação de LS e concluíram que a DGI mostrou alta taxa de localização (100%) do LS.

4. MÉTODOS

Este estudo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) sob o número CEP 0020/07, (Anexo 1), e foi conduzido sob a orientação e supervisão do Núcleo de Proteção Radiológica da UNIFESP.

Realizou-se um estudo piloto com cinco animais para adequação do procedimento. Os dados coletados encontram-se no Apêndice 1. Para o prosseguimento do estudo, utilizou-se equipamento importado da marca *Europrobe*®, número de série: 00139, modelo: 506160014. O equipamento foi disponibilizado pela Unidade de Diagnóstico de Imagem do Hospital Samaritano. O equipamento brasileiro do IPEN (patente MU8602566-0) modelo III, foi manipulado de acordo com o manual de instruções do aparelho.

4.1 AMOSTRA

O estudo foi realizado no Laboratório Experimental da Cirurgia Plástica da UNIFESP onde foram estudados 30 ratos adultos jovens, machos, de 250 a 300 g (*Rattus norvegicus: var. albinus, Rodentia, Mammalia*), da linhagem Wistar EPM-1, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de São Paulo.

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais (410x340x160 mm), forradas com cepilho, alojadas no biotério setorial. O local foi mantido sob temperatura ambiente controlada (~21°C), renovação e purificação de ar permanente e ciclo claro e escuro de 12 horas

(07h00~19h00-claro sob luz artificial), recebendo água e ração *ad libitum*. Foram seguidos os preceitos éticos definidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Os animais foram submetidos ao mapeamento linfático com Azul Patente V, Detecção Gama Intra-operatória e exeresse do Linfonodo Sentinela (LS).

4.2 PROCEDIMENTO

Cada animal foi anestesiado com 25 mg/kg de cloridrato de tiletamina e 25 mg/kg de cloridrato de zolazepam com seringa e agulha de insulina, injetados na *cavidade peritoneal*, no quadrante inferior esquerdo do *abdome*. Nesta dosagem, a anestesia tem tempo de duração de cerca de 120 a 180 minutos.

Os animais foram distribuídos em 2 grupos, cada grupo com quinze animais. Os animais do primeiro grupo, (grupo A), foram submetidos à injeção de 0,1 ml de dez micro Curie (10 uCi) do radiofármaco Dextran 500 – Tc⁹⁹ no coxim plantar do membro *pélvico* direito. A seguir foi injetado 0,1 ml de Azul Patente V, próximo ao ponto de injeção do radiofármaco, para realização do mapeamento linfático.



Figura 1 – Injeção do Azul Patente V no coxim *plantar* do membro *pélvico* direito do animal.

Primeiramente realizou-se a medição da captação radioativa na região *axilar* esquerda (leitura de fundo) e subseqüentemente a medição da captação radioativa do sítio de injeção. Estas medições foram realizadas utilizando o equipamento importado e o brasileiro. Os dois equipamentos foram utilizados seqüencialmente um ao outro, de maneira alternada.

Após 5 minutos da injeção do Azul Patente V foi realizada incisão única, iniciada na pele da região *poplítea* até a região *inguinal* para a Biópsia de Linfonodo Sentinela (BLS), observando se o linfonodo estava corado pelo Azul Patente V ou não. Então foi identificado e retirado o linfonodo *poplíteo* (sentinela) na *fossa poplítea*, junto da cabeça lateral do *músculo gastrocnêmio*, posteriormente ao *joelho*.



Figura 2 – Incisão da região *poplítea* até a região *inguinal* para a BLS.



Figura 3 – Localização do Linfonodo Sentinela corado pelo corante Azul Patente V.

Durante o ato cirúrgico, foram utilizados os dois detectores de radiação gama, o equipamento brasileiro (IPEN) e o equipamento importado já em uso clínico.

Utilizaram-se fichas individuais para cada um dos animais para anotação dos dados referentes a cada equipamento dos valores de captação (Apêndice 2).



Figura 4 - Medição da captação radioativa na região *axilar* esquerda (leitura de fundo), equipamento brasileiro.



Figura 5 – Equipamento de Detecção Gama Intra-operatória (DGI) brasileiro (IPEN).

Após a exeresse, o linfonodo sentinela hipercaptante e corado de cada animal do grupo A, foi identificado com algarismo numérico (de 1 a 15) pelo pesquisador e colocado em recipientes separados em cima de uma bancada.

O outro grupo de 15 animais (grupo C), sob mesmas condições ambientais, foi submetido somente ao mapeamento linfático com Azul Patente V e exeresse do LS, com todo o procedimento semelhante ao grupo A, exceto pela não injeção de radiofármaco.

Após a exeresse do LS de cada animal do grupo C, os mesmos foram identificados com algarismo numérico (de 16 a 30) pelo pesquisador e colocados em recipientes separados.

Realizou-se uma distribuição aleatória destes 30 linfonodos numerados de 1 a 30, sobre uma bancada, formando uma nova seqüência. Um outro observador, que desconhecia a seqüência aleatória dos linfonodos, procedeu à leitura com medição da radioatividade de cada linfonodo com os dois equipamentos.

Os valores da captação dos dois equipamentos foram anotados em ficha apropriada para cada linfonodo (Apêndice 3).

Após a exeresse do LS, os animais foram submetidos à eutanásia com hiperdosagem do anestésico e acondicionados em sacos plásticos e conservados em espaço reservado no congelador por 48 horas.

Todo material descartável (plástico e campo cirúrgico, luvas, plástico protetor da sonda, gases, agulhas e bisturi) foram devidamente protegidos contra acidentes em recipiente plástico e também foram acondicionados em sacos plásticos. O laboratório de pesquisa foi identificado pelo Núcleo de Proteção Radiológica por 36 horas e então os materiais foram descartados por profissional do mesmo Núcleo.

O instrumental cirúrgico foi lavado com clorexidine em água corrente. Durante o experimento e o decaimento da radiação, o ambiente foi sinalizado com advertência quanto à realização de experiência com material radioativo, visível a qualquer pessoa que transitasse no ambiente. Além disso, o pesquisador usou dosímetro pessoal (Sapra Landauer®) para controle da exposição à radiação, e foi colocado um outro dosímetro padrão externamente ao laboratório.

Foi construído um banco de dados a partir dos dados coletados dispostos no Apêndice 2 e no Apêndice 3. Para análise dos dados e resultados, foi utilizado o *software* SPSS (*Statistical Package for Social Science*) em sua versão 10.0.

Foram aplicados o teste de Mann-Whitney para verificar diferenças entre os resultados aferidos com o equipamento importado e com o equipamento nacional do IPEN. O Teste t pareado de Student para detectar diferenças entre os pares de resultados aferidos com os dois equipamentos

testados e definido o Alfa de Cronbach para verificar a consistência interna dos dados.

O nível de significância utilizado foi de 5%.

5. RESULTADOS

Os valores de captação da radiação gama de cada Linfonodo Sentinela *ex vivo*, do grupo A e do grupo C, mostraram que tanto o equipamento de Detecção Gama Intra-operatória do IPEN como o equipamento importado permitiu a identificação do Linfonodo Sentinela (Apêndice 2).

TABELA 1 - Captação de radiação gama pelos equipamentos de DGI (importado e do IPEN) dos linfonodos sentinela *ex vivo*, do grupo A e do grupo C.

	importado	IPEN	Teste t pareado
n	30	30	
Média	29,6	40,2	p=0,0034
Desvio padrão	38,9	26,5	t = 3,18
Mediana	8,5	26,0	
Mínimo	0	13	
Máximo	116	93	
Teste de Mann-Whitney	U = 293,0	p=0,020	

Alfa de Cronbach = 0,9188

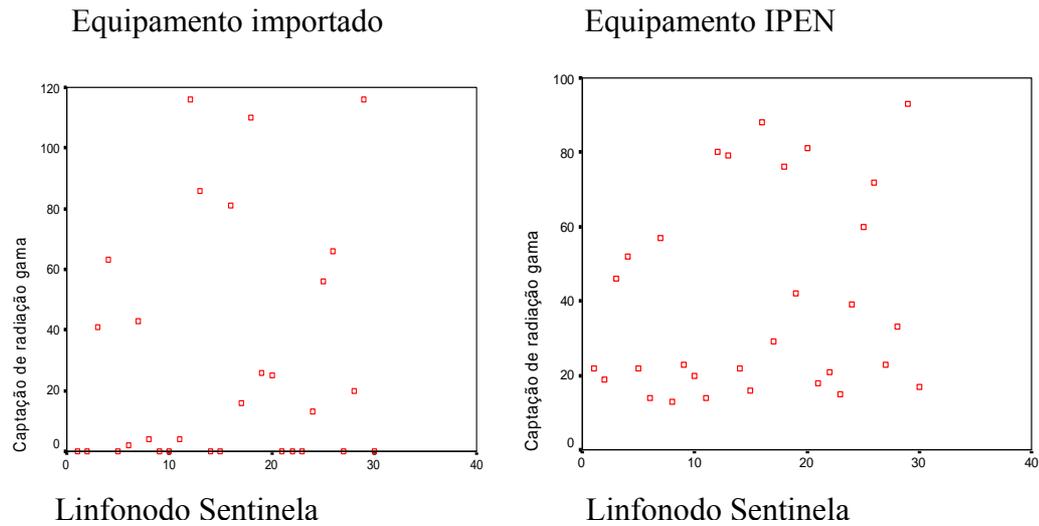


Figura 6 – Gráfico de dispersão da captação de radiação gama de cada LS *ex vivo*.

Os valores de captação da radiação gama de cada LS *ex vivo* demonstraram alfa de Cronbach com alta consistência interna dos dados (0,9188) (Tabela 1).

TABELA 2 - Valores de captação de radiação gama da região de fundo pelos equipamentos de DGI (importado e do IPEN) do grupo A.

	importado	IPEN	Teste t pareado
n	15	15	
Média	3,7	23,5	p<0,00001
Desvio padrão	1,4	8,2	t = 11,03
Mediana	4,0	27,0	
Mínimo	2	11	
Máximo	6	33	
Teste de Mann-Whitney	U = 0,0	p<0,00001	
Alfa de Cronbach =	0,469		

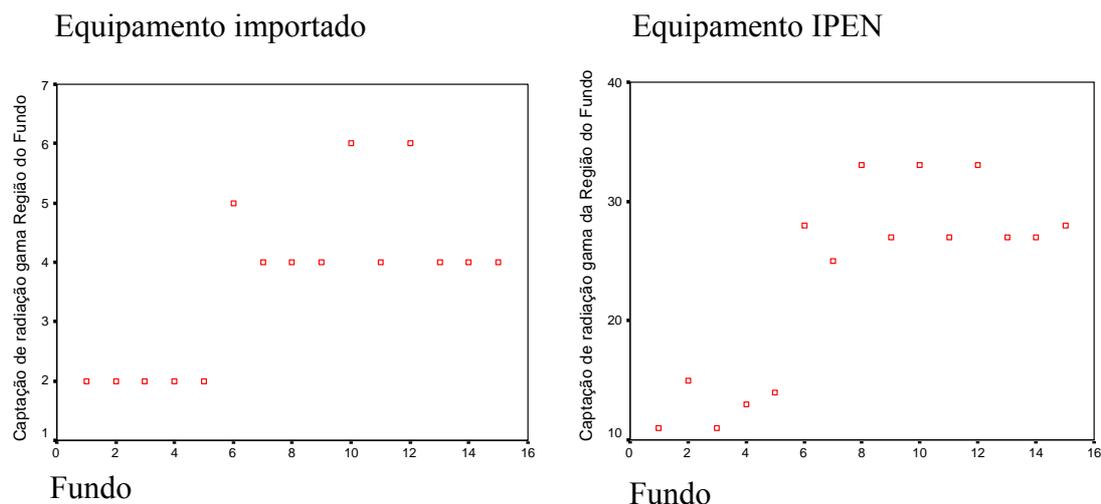


Figura 7- Gráfico de dispersão da captação de radiação da região de fundo do grupo A.

Na região da leitura de fundo (Tabela 2), o alfa de Cronbach mostrou-se com fraca consistência interna dos dados (0,4690).

TABELA 3 - Valores de captação de radiação gama da região do sítio de injeção pelos equipamentos de DGI (importado e do IPEN) do grupo A.

	importado	IPEN	Teste t pareado
n	15	15	
Média	2824,7	3901,5	p=0,0013
Desvio padrão	1799,8	2583,9	t = 3,99
Mediana	3639,0	4688,0	
Mínimo	557	729	
Máximo	5176	7142	
Teste de Mann-Whitney	U = 68,0	p=0,067-ns	
Alfa de Cronbach =	0,9416		

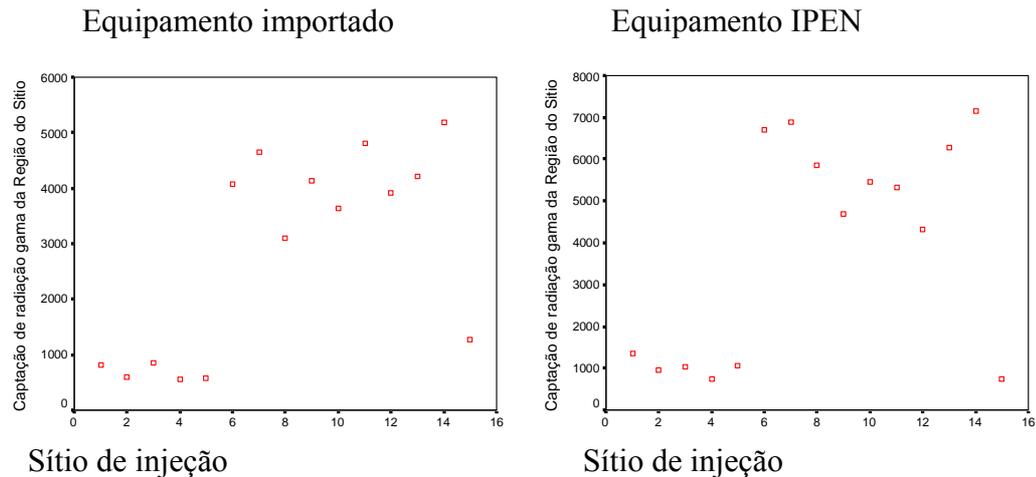


Figura 8 - Gráfico de dispersão da captação de radiação do sítio de injeção do grupo A.

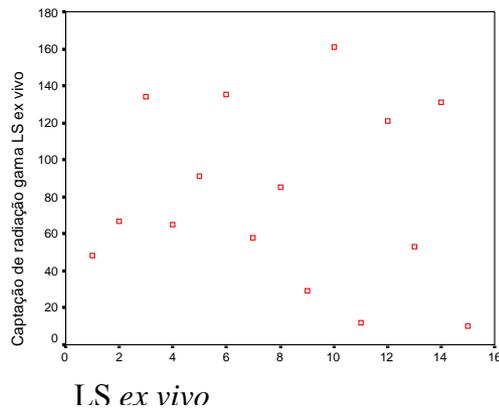
Na região do sítio de injeção observou-se diferença entre os pares de resultados dos dois aparelhos ($p=0,0013$), o teste de Mann-Whitney não foi capaz de detectar diferenças entre os dois grupos de resultados. O alfa de Cronbach mostrou alta consistência interna dos dados (0,9416) (Tabela 3).

TABELA 4 - Valores de captação de radiação gama do LS *ex vivo* pelos equipamentos de DGI (importado e do IPEN) do grupo A.

	importado	IPEN	Teste t pareado
n	15	15	
Média	78	80	$p=0,7218$ -ns
Desvio padrão	45,9	30,4	$t = 0,36$
Mediana	76	76,5	
Mínimo	31	10	
Máximo	129	161	
Teste de Mann-Whitney	U = 112,0	p=1,00-ns	

Alfa de Cronbach = 0,9251

Equipamento importado



Equipamento IPEN

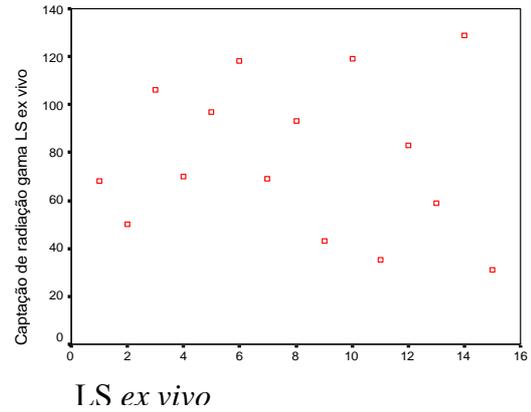


Figura 9 – Gráfico de dispersão da capturação de radiação gama do LS *ex vivo* do grupo A.

Não se verificou diferenças entre os valores de capturação de radiação gama do LS *ex vivo* pelos equipamentos intra-operatória (Tabela 4). O alfa de Cronbach mostrou alta consistência interna dos dados (0,9251).

6. DISCUSSÃO

O conceito de Linfonodo Sentinela (LS) foi estudado inicialmente por CABANAS (1977). Verificou-se ser este o primeiro local a receber metástases. Assim, sugeriu-se que fosse realizada a linfadenectomia caso o LS estivesse comprometido. Da mesma maneira, HOLMES *et al.* (1977), descreveram inicialmente o uso de linfocintilografia cutânea para identificar as bases linfonodais de risco para a doença metastática. Foi realizada a injeção de partículas radioativas ao redor do tumor/cicatriz para identificar os linfonodos que receberam drenagem aferente daquele tumor.

Estudos em modelos animais como realizado por WONG, CAGLE, MORTON (1991), demonstraram resultados positivos na identificação do LS. Os autores descreveram a drenagem linfática da pele para o LS em gatos e realizaram mapeamento linfático utilizando o corante Azul Isosulfan para BLS.

Optamos por realizar o estudo em ratos pela facilidade do modelo experimental. Como reportado por OLIVEIRA FILHO *et al.* (2003) a descrição do modelo experimental demonstrou que a BLS em ratos permite a identificação do LS através do mapeamento linfático com Azul Patente V e DGI. Os autores concluíram que o procedimento em animais é viável e possibilita a reprodutibilidade em outros experimentos.

No presente estudo os animais foram anestesiados com 25 mg/kg de cloridrato de tiletamina e 25 mg/kg de cloridrato de zolazepam.

VEADO (2001) avaliou os efeitos da associação da tiledamida-zolazepam com levomepromazina em cães. Doses complementares foram administradas quando necessário. Durante 120 minutos realizaram registros dos sinais vitais, condições neurológicas, exame laboratorial, tempo de indução anestésica e o tempo de despertar. Demonstraram que os animais apresentaram estado de sedação suficiente para o pré-operatório e que a

associação medicamentosa promoveu benefício para um satisfatório relaxamento muscular.

A associação do anestésico tiledamida-zolazepan também se mostrou eficiente no presente estudo. Durante o procedimento de medição da captação radioativa, no ato cirúrgico até a exeresse do LS, os animais não demonstraram agitação ou ruídos compatíveis a desconforto, angústia e dor. A dosagem e o tempo de manipulação dos animais respeitaram as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

O LS estudado foi o poplíteo próximo à região inguinal. As medições de captação do LS foram feitas: no leito operatório, na região axilar esquerda (captação de fundo) e no local da injeção do radiofármaco (coxim plantar direito). OLIVEIRA FILHO *et al.* (2000)a, demonstraram que a eficácia na identificação do LS depende da base linfonodal estudada. Utilizaram o Azul Patente V e a DGI para BLS em diferentes bases linfonodais. As regiões estudadas foram axilar, cervical e inguinal. Os resultados mostraram que tanto o corante Azul Patente V, bem como a DGI identificaram 100% dos LS em 29 bases da região inguinal.

Verificamos alta consistência interna dos dados (0,9188) de cada LS *ex vivo* através da análise do alfa de Crombach. Estudou-se a consistência interna de cada equipamento e os resultados mostraram que o equipamento de DGI brasileiro do IPEN e o equipamento importado identificaram o LS.

Escolheu-se o radiofármaco Dextran-Tc^{99m}, no presente estudo, por ser o isótopo mais utilizado nas linfocintilografias, ter emissão apenas de radiação gama, ser de fácil disponibilidade e de baixo custo. NEUBAUER *et al.* (2001), realizaram um estudo com 41 pacientes portadores de melanoma cutâneo e carcinoma de Merkel. Foi utilizado dextran ligado ao

Tc^{99m} e concluíram que o dextran permitiu boa definição dos canais linfáticos e localização do LS.

MASIERO *et al.* (2005) compararam o radiofármaco Dextran-Tc^{99m} com fitato-Tc^{99m} para identificação de LS na linfocintilografia. Foram estudados 46 pacientes com diagnóstico histológico de câncer de mama precoce. Realizaram 88 linfocintilografias em 44 pacientes. As imagens foram adquiridas 1 hora e 2 horas após a administração do radiofármaco. Em relação à primeira imagem (realizada em 1 hora), foram identificados 34 LS do grupo Dextran-Tc^{99m} e 28 LS do grupo fitato-Tc^{99m}. A segunda imagem (realizada em 2 horas) mostrou que 39 LS foram identificados no grupo Dextran-Tc^{99m} e 30 LS no grupo fitato-Tc^{99m}. Os resultados mostraram que o radiofármaco Dextran-Tc^{99m} identificou maior número de LS.

PAIVA *et al.* (2006) estudaram a aplicação dos radiofármacos Dextran-Tc^{99m} e fitato-Tc^{99m} para BLS em 32 ratos. Os animais foram divididos em 2 grupos. Um grupo foi submetido a linfocintilografia com Dextran-Tc^{99m} e o outro com fitato-Tc^{99m}. Após a linfocintilografia foram realizadas a DGI e a BLS. Concluíram que os dois radiofármacos estudados identificaram o LS, mas o radiofármaco fitato-Tc^{99m} migrou menos para outros linfonodos.

Em relação à captação, o equipamento do IPEN detectou radiação mesmo nos linfonodos que não receberam o radiofármaco. Este resultado foi verificado na aplicação dos testes de Mann-Whitney e t pareado de Student. Os valores de leitura, do equipamento nacional, mostraram fraca positividade nos linfonodos não marcados. O valor falso positivo, ou seja, o valor de captação de radiação gama encontrado no linfonodo que não

recebeu radiofármaco, mostrou que a leitura de *background* não chegava a zero no equipamento de DGI nacional.

De acordo com MARIANI *et al* (2002) a leitura de *background* é definida como a média das taxas de contagens da captação radioativa em torno da base linfonodal distante ao sitio de injeção do radiofármaco. A medida da captação radioativa de fundo é o resultado da distribuição sistêmica do radiofármaco. É preferencialmente uma região de pouca vascularização e longe do sitio de injeção. A relação entre os valores de captação do LS hipercaptante e a leitura de *background* freqüentemente são de 10:1; 15:1 ou 20:1.

MORTON & CHAN (2000) descreveram que os linfonodos marcados com radiofármaco são identificados comparando os valores de contagem com a leitura de *background*. A relação entre o LS hipercaptante e a leitura de fundo geralmente são de 2:1 ou 3:1 *in vivo* ou 10:1 *ex vivo*.

OLIVEIRA FILHO, PAIVA, WAGNER (2003) descreveram que a leitura do LS deve ser pelo menos 3 vezes maior do que a leitura de fundo *in vivo* e pelo menos 10 vezes maior *ex vivo*. Relataram que freqüentemente a captação do LS é muito maior que a leitura de fundo (mais que 10 vezes *ex vivo*).

COSTA *et al.* (2006) relataram que a alta penetrabilidade dos raios gama pode produzir contagens vindas de qualquer parte e não apenas da região desejada. Para evitar falsos positivos, que poderiam indicar erroneamente regiões com radioatividade, a detecção radioativa deve apresentar alta resolução energética e também a capacidade de rejeitar espacialmente os raios gama não desejados.

As possíveis explicações para leitura de falso positivo demonstrado pelo equipamento de DGI nacional podem ser: a falta de dispositivo para zerar os valores de *background* e um sistema de blindagem lateral (colimação) para evitar a leitura de radiação ao redor do local desejado.

SILVA *et al.* (2006) estudaram o efeito do uso do colimador na sonda de DGI. Utilizaram um modelo experimental similar ao tecido humano e o Tc^{99m} como radioisótopo para DGI. Os resultados mostraram que o uso do colimador com orifício central de 3,5 mm de diâmetro foi capaz de identificar o LS posicionado a 30 mm de distância em relação à região do ponto de injeção do radiofármaco.

Por outro lado, a identificação do LS hipercaptante pelo equipamento do IPEN, mostrou-se adequada através da orientação sonora e escala numérica, com valores de contagem elevados. A medição da captação de radiação gama do LS de cada animal do grupo A mostrou que o equipamento de DGI nacional permitiu a localização do LS.

Na região do sítio de injeção observou-se diferença entre os pares de resultados dos dois equipamentos ($p=0,0013$), o teste de Mann-Whitney não foi capaz de detectar diferenças entre os resultados aferidos do equipamento nacional e do equipamento importado. O alfa de Cronbach mostrou alta consistência interna dos dados (0,9416). Na aplicação do teste de Mann-Whitney, os resultados demonstram que o LS foi localizado pelos dois equipamentos não havendo diferenças entre os resultados. Ao analisarmos os dados através do teste t pareado de Student notamos diferença entre os pares de resultados e verificamos que o equipamento brasileiro mostrou valores de detecção mais elevados que o equipamento importado.

De acordo com COSTA *et al.* (2006)a, o equipamento de DGI brasileiro desenvolvido apresenta critérios de funcionamento estabelecidos pelo *Nema*. Concluiu-se também que as propriedades físicas, bem como, os parâmetros que interferem no desempenho da sonda mostraram-se apropriados e eficientes no que diz respeito à manipulação e funcionamento do equipamento.

A DGI permite localizar o LS e definir o local exato da incisão na pele. Através das leituras das escalas numéricas e pela orientação sonora, o operador é guiado até a posição dos linfonodos hipercaptantes, localizando-os para ressecção. Padroniza-se que o LS apresente taxa de captação de no mínimo três vezes a captação de fundo (ALBERTINI *et al.* 1996; KAPTEIJN *et al.* 1997).

Não se verificou diferenças entre os valores de captação de radiação gama do LS *ex vivo* do grupo A pelos dois equipamentos (Tabela 4). O alfa de Cronbach mostrou alta consistência interna dos dados (0,9251).

MARTIN *et al.* (2001) estudaram 2285 pacientes com câncer de mama. Foram realizados os procedimentos de linfocintilografia pré-operatória, mapeamento com corante Azul Isosulfan e DGI para BLS. O sucesso para localização do LS hipercaptante foi estabelecido por uma contagem da medida de radiação 4 vezes maior que a leitura de *background*. Foram identificados os LS em 97% dos pacientes. A identificação do LS hipercaptante com DGI foi de 13% e a identificação do LS utilizando somente Azul Isosulfan foi de 6%. Os autores concluíram que a DGI associada ao mapeamento linfático com corante aumenta a acurácia da BLS e que não há um exato nível de contagem que defina o LS hipercaptante positivo para doença.

JACOBS *et al.* (2003) relataram que poucos estudos têm analisado o nível relativo de contagens do LS hipercaptante com a presença de metástase. Foram realizados 134 procedimentos de BLS em 132 pacientes com melanoma. O sucesso na localização do LS foi definido pelas contagens do LS hipercaptante pelo menos 10% maior que a leitura de fundo. Os resultados demonstraram que o máximo de precisão na BLS requer a combinação do mapeamento linfático com corante e a DGI.

Os resultados do presente estudo foram compatíveis com a possibilidade, já sugerida por outros autores, como Costa *et al.* (2006) a de que a sonda radioguiada para a DGI do equipamento brasileiro é capaz de identificar o LS.

Como perspectivas deste estudo sugere-se: o aprimoramento do equipamento de DGI brasileiro (IPEN) e o estudo de validação deste equipamento em seres humanos.

CONCLUSÕES

1. O equipamento brasileiro de detecção gama intra-operatória identifica o linfonodo sentinela.
2. O equipamento brasileiro de detecção gama intra-operatória mostra falsos positivos.

8. REFERÊNCIAS

Albertini JJ, Cruse CW, Rapaport D, Wells K, Ross M, DeConti R, Berman CG, Jared K, Messina J, Lyman G, Glass F, Fenske N, and D S Reintgen. Intraoperative radio-lympho-scintigraphy improves sentinel lymph node identification for patients with melanoma. *Ann Surg* 1996; 223(2): 217-24.

Alex JC, Krag DN. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. *Surg Oncol* 1993; 2: 137-43.

Alex JC, Weaver DL, Fairbanks JT, Rankin BS, Krag DN. Gamma-probe guided lymph node localization in malignant melanoma. *Surg Oncol*. 1993; 2: 303-08.

Alex JC, Krag DN. The Gamma-Probe-Guided Resection of Radiolabeled Primary Lymph Nodes. *Surgical Oncology Clinics of North América*. 1996; 5(1): 33-41.

Belli F, Lenisa L, Clemente C, Tragni G, Mascheroni I, Gallino G, Cacinelli N. Sentinel node biopsy and selective dissection for melanoma nodal metastases. *Tumori* 1998; 84:24-8.

Bilchik AJ, Giuliano A, Essner R, Bostick P, kelemen P, Foshag LJ, Sostrin S, Turner RR, Morton DL. Universal application of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in solid neoplasms. *Cancer J Sci Am*. 1998; 4(6):351-8.

Bostick P, Essner R, Glass E, Kelley M, Sarantou T, Foshag LJ, Morton D. Comparison of blue dye and probe-assisted intraoperative lymphatic mapping in melanoma to identify sentinel nodes in 100 lymphatic basins. *Arch Surg.* 1999; 134(1):43-9.

Bostick PJ, Giuliano AE. Vital Dyes in Sentinel Node Localization. *Semin Nucl Med.* 2000; 30(1): 18-24.

Britten AJ. A method to evaluate intra-operative gamma probes for sentinel lymph node localisation. *Eur J Nucl Med.* 1999; 26(2): 76-83.

Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer.* 1977; 39(2):456–66.

Classe JM, Fiche M, Rousseau C, Sagan C, Dravet F, Pioud R, Lisbona A, Ferrer L, Champion L, Resche I, Curtet C. Prospective Comparison of 3 γ Probes for Sentinel Lymph Node Detection in 200 Breast Cancer Patients. *J Nucl Med.* 2005; 46(9): 395-9.

Costa FE. Desenvolvimento de sondas cirúrgicas radioguiadas com semicondutores de TiBr e com cristais cintiladores de CsI(Tl) [Tese Doutorado]. [São Paulo]: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Autarquia associada à Universidade de São Paulo; 2006a. 121p.

Costa FE, Rela PR, Oliveira IB, Pereira MCC, Hamada MM. Surgical gamma probe with TlBr semiconductor for identification of sentinel lymph node. *IEEE Transactions on Nuclear Science*. 2006b; 53(3):1403-7.

Cox CE, Bass SS, McCann CR, Ku NN, Berman C, Durand K, Bolano M, Wang J, Peltz E, Cox S, Salud C. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with breast cancer. *Ann Rev Med*. 2000; 51: 525-42.

Cserni G, Rajtár M, Boross G, Sinkó M, Svébis M, Baltás B. Comparison of vital dye-guided lymphatic mapping and dye plus gamma probe-guided sentinel node biopsy in breast cancer. *World J Surg*. 2002; 26(5): 592-7.

Datta I, Ball CG, Parr Z, Mew D. The use of a gamma probe and radioactive technetium to identify obscure gastrointestinal bleeding. *Am J Surg*. 2008; 22.

Edreira MM, Colombo, LL, Perez, JH, Sajaroff, EO, Castiglia, SG. In vivo evaluation of three different ^{99m}Tc-labelled radiopharmaceuticals for sentinel lymph node identification. *Nuclear Medicine Communications*. 2001; 22(5): 499-04.

Glass, LF, Messina, JL, Cruse, W, Wells, K, Rapaport, D, Miliotes, G, Berman, C, Reintgen, D, Fenske, NA. The use of intraoperative radiolymphoscintigraphy for sentinel node biopsy in patients with malignant melanoma. *Dermatology Surgery*. 1996; 22(8): 715-20.

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

Henze E, Schelbert HR, Collins JD, Najafi A, Barrio JR, Bennett LR. Lymphoscintigraphy with Tc-99m labeled dextran. *J Nucl Med*. 1982; 23 (10): 923-9.

Holmes EC, Moseley HS, Morton DL, Clark W, Robinson D, Urist MM. A rational approach to the surgical management of melanoma. *Ann Surg*. 1977; 186(4): 481-90.

Jacobs IA, Chang CK, DasGupta TK, Salti G. High isotope counts and sentinel node positivity in patients with melanoma. *Arch Surg*. 2003;138(1):63-6.

Kapteijn BAE, Nieweg OE, Liem IL, Oooi WJ, Balm AJ, Muller SH, Peterse JL, Vadés Olmos RA, Hoefnagel CA, Kroon BB. Localizing the sentinel node in cutaneous melanoma: gamma probe detection versus blue dye. *Ann Surg Oncol*. 1997; 4(2):156-60.

Kapteijn BAE, Nieweg OE, Petersen JL, Rutgers EJ, Hart AA, van Dongen JA. Identification and biopsy of the sentinel lymph node in breast cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.* 1998; 24(5): 427–30.

Kara PP, Ayhan A, Caner B, Gültekin M, Ugur O, Bozkurt MF, Usubutun A. Sentinel lymph node detection in early stage cervical cancer: a prospective study comparing preoperative lymphoscintigraphy, intraoperative gamma probe, and blue dye. *Ann Nucl Med.* 2008;22(6):487-94.

Kim T, Giuliano AE, Lyman GH. Lymphatic Mapping and Sentinel Lymph Node Biopsy in Early Stage Breast Carcinoma. *Cancer.* 2006;106(1):4-16.

Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairbanks JT. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol.* 1993; 2(6): 335-40.

Krag DN, Meijer SJ, Weaver DL, Loggie BW, Harlow SP, Tanabe KK, Laughlin EH, Alex JC. Minimal-Access Surgery for Staging of Malignant Melanoma. *Arch Surg.* 1995; 130(6): 654-58.

Levenback C, Coleman RL, Burke TW, Bodurka-Bevers D, Wolf JK, Gershenson DM. Intraoperative lymphatic mapping and sentinel node identification with blue dye in patients with vulvar cancer. *Gynecol Oncol.* 2001; 83(2): 276-81.

Mariani G, Gipponi M, Moresco L, Villa G, Bartolomei M, Mazzarol G, Bagnara MC, Romanini A, Cafiero F, Paganelli G, Strauss HW. Radioguided sentinel lymph node biopsy in malignant cutaneous melanoma. *J Nucl Med* 2002; 43(6): 811-27.

Mariani G, Moresco L, Viale G, Villa G, Bagnasco M, Canavese G, Buscombe J, Strauss HW, Paganelli G. Radioguided sentinel lymph node biopsy in breast cancer surgery. *J Nucl Med*. 2001; 42(8): 1198-1215.

Masiero PR, Xavier NL, Spiro BL, Detanico MF, Xavier Mda C, Pinto AL. Scintigraphic sentinel node detection in breast cancer patients: paired and blinded comparison of 99mTc dextran 500 and 99mTc phytate. *Nucl Med Commun*. 2005;26(12):1087-91.

Martin RC, Fey J, Yeung H, Borgen PI, Cody HS. Highest isotope count does predict sentinel node positivity in all breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*. 2001;8(7):592-97.

Morton DL, Chan AD. The concept of sentinel node localization: how it started. *Semin Nucl Med*. 2000;300 (1):4-10.

Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, Foshag LJ, Cochran AJ. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*. 1992; 127(4): 392-99.

Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, Roses DF, Karakousis CP, Mozzillo N, Reintgen D, Wang HJ, Glass EC, Cochran AJ. Validation of the accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. *Ann Surg.* 1999; 230(4): 453-63.

Murray DR, Carlson GW, Greenlee R, Alazraki N, Fry-Spray C, Hestley A, Poole R, Blais M, Timbert DS, Vansant J. Surgical management of malignant melanoma using dynamic lymphoscintigraphy and gamma probe-guided sentinel lymph node biopsy: the Emory experience. *Am Surg.* 2000; 66(8): 763-7.

Neubauer S, Mena I, Iglesias R, Schwartz R, Acevedo JC, Leon A, Gomez L. Sentinel lymph node mapping in melanoma with technetium-99m dextran. *Cancer Biother Radiopharm.* 2001;16(3):265-7.

Oliveira Filho RS, Ferreira LM, Santos IO, Enokihara MM. Experimental model of primary cultured metastatic melanoma by fine needle aspiration. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2005; 20: 390-93.

Oliveira Filho RS, Lima EN. Selective lymphadenectomy and sentinel node biopsy in cutaneous melanoma stage I and II. *Acta Oncológica Brasileira* 1997; 17:74-7.

Oliveira Filho RS, Oliveira Santos ID, Ferreira LM, Almeida FA, 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. 2000a; 118(6):165-8.

Oliveira Filho RS, Paiva G. Experimental model in rat for sentinel node biopsy. Acta Cirúrgica Brasileira. 2003; 18: 15 – 21.

Oliveira Filho RS, Paiva G, Wagner J. Melanoma cutâneo localizado e linfonodo sentinela. 1ed. São Paulo: Lemar; 2003. Biópsia de linfonodo sentinela no melanoma cutâneo; p 113.

Oliveira Filho RS, Santos ID, Ferreira LM, de Almeida FA, Enokihara MM. Seletive lymphadenectomy with sentinel lymphonodus biopsy in cutaneous melanoma. Brazilian experience – Project 97/2516-0. An Bras Dermatol. 2000b, 75(5): 575-80.

Oliveira Filho RS, Tovo Filho R, Eto CM, Bortoletto MCC. Mapeamento linfático intra-operatório para melanoma estágio clínico I: uma técnica promissora. An Bras Dermatol. 1994; 75(5):573-80.

Paiva GR, Oliveira Filho RS, Ferreira LM, Wagner J, Nogueira SA, Novo NF, Juliano Y, Rocha JL. Phytate technetium-99m versus dextran 500 technetium-99m in the sentinel lymph node biopsy. Acta Radiol. 2006;47(1):65-70.

Pijpers R, Collet GJ, Meijer S, Hoekstra OS. The impact of dynamic lymphoscintigraphy and gamma probe guidance on sentinel node biopsy in melanoma. *Eur J Nucl Med.* 1995; 22(11): 1238-41.

Pijpers R, Meijer S, Hoekstra OS, Collet GJ, Comans EF, Boom RP, Diest PJ, Teule GJ . Impact of lymphoscintigraphy on sentinel node identification with technetium-99m-colloidal albumin in breast cancer. *J Nucl Med.* 1997; 38(3): 366–8.

Ross MI, Reintgen D, Balch CM. Selective lymphadenectomy: emerging role for lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the management of early stage melanoma. *Sem Surg Oncol.* 1993; 9:219-23.

Sato K, Uematsu M, Saito T, Ishikawa H, Yamasaki T, Tamaki K, Tamai S, Kusano S, Hiraide H, Mochizuki H. Indications and technique of sentinel lymph node biopsy in breast cancer using 99m-technetium labeled tin colloids. *Breast. Câncer.* 2000; 7(1):95–8.

Silva IJ, Khoury HJ, Lemos MRL, Almeida Filho PJ, Guimarães MICC. Estudo do efeito do uso colimador na sonda gama utilizada em cirurgia radioguiada. *Radiol Brás.* 2006, 39(6): 429-34.

Singh B, Ezziddin S, Palmedo H, Reinhardt M, Strunk H, Tüting T, Biersack HJ, Ahmadzadehfar H. Preoperative 18F-FDG-PET/CT imaging and sentinel node biopsy in the detection of regional lymph node metastases in malignant melanoma. *Melanoma Res.* 2008;18(5):346-52.

Schulz S, Bette M, Schlimme S, Mutters R, Hoffmann S, Menendez S. Influence of O(3)/O(2)-pneumoperitoneum as an oxidative stressor on duration of anaesthesia, loss of different reflexes and cytokine mRNA expression. *Lab Anim.* 2004;38(3):261-71.

Sliutz G, Reinthaller A, Lantsch T, Mende T, Sinzinger H, Kainz C, Koelbl H. Lymphatic mapping of sentinel nodes in early vulvar cancer. *Gynecol Oncol.* 2002; 84(3): 449-52.

van Rijk MC, Tanis PJ, Nieweg OE, Loo CE, Olmos RA, Oldenburg HS, Rutgers EJ, Hoefnagel CA, Kroon BB. Sentinel Node Biopsy and concomitant probe-guided tumor excision of nonpalpable breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14(2): 627-632.

Veado, JC. Associação da tiletamina-zolazepan na anestesia dissociativa de cães. protocolo original de utilização. *Rev Bras Saude Prod Na.* 2001;1(1): 19-26.

Tunn PU, Andreou D, Illing H, Fleige B, Dresel S, Schlag PM. Sentinel node biopsy in synovial sarcoma. *Eur J Surg Oncol*. 2008;34(6):704-7.

Yen RF, Kuo WH, Lien HC, Chen TH, Jan IS, Wu YW, Wang MY, Chang KJ, Huang CS. Radio-guided sentinel lymph node biopsy using periareolar injection technique for patients with early breast cancer. *J Formos Med Assoc*. 2007;106(1):44-50.

Wong JH, Cagle LA and Morton DL. Lymphatic drainage of skin to a sentinel lymph node in a feline model. *Ann Surg*. 1991;214:637-41.

Zanzonico P, Heller S. The intraoperative gamma probe: basic principles and choices available. *Semin Nucl Med*. 2000;30: 33-48.

ABSTRACT

Introduction: The Intraoperative Gamma Detection equipment available in Brazil is imported and expensive, which may limit its use. The Nuclear Energy Research Institute has developed a national and more affordable piece of equipment. **Objective:** Test equipment brazilian of intraoperative gamma detection in the identification of sentinel lymph node. **Methods:** thirty young adult male rats were studied. After anesthetized, animals were divided into two groups of 15 animals each. Animals from group A received dextran 500 - Tc⁹⁹ radiopharmaceutical and patent blue V and those from group C received only patent blue V to map the lymphatic drainage. The presence of radiation in the background area, in the area of injection and of the *ex vivo* sentinel lymph node of group A were measured. After the exeresis, each lymph node in group A and in group B was mixed forming a new random sequence and the radioactive reading of each lymph node was carried out, using both pieces of equipment. **Results:** The hottest sentinel lymph node was identified by the Brazilian equipment when radiation was measured in the area of limphatic drainage after the Dextran 500 was injected. Also, the *ex vivo* sentinel lymph node was evaluate by both intraoperative gamma detection pieces of equipment. The brazilian equipment has also detected radiation in the lymph nodes that had not received radiopharmaceutical, leading to false positive, checked in the application of Mann-Whitney tests and Student's paired t-tests. The Cronbach alpha has shown high internal consistency of data (0,9416). **Conclusions:** The brazilian equipment of intraoperative gamma detection identifies the lymph and shows false positives.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 Dados coletados do projeto piloto

Ratos	1	2	3	4	5
Fundo					
<i>importado</i>	19	10	10	14	14
IPEN	11	0	10	5	7
Sítio de injeção					
<i>importado</i>	7100	7700	7000	1677	3900
IPEN	9200	3500	2800	3600	3744
LS ex vivo					
<i>importado</i>	22	93	31	56	58
IPEN	21	47	22	32	20
Localização do LS					
<i>importado</i>	<i>Sim</i>	<i>Sim</i>	<i>Sim</i>	<i>Sim</i>	<i>Sim</i>
IPEN	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

APÊNDICE 3 Captação de radiação gama pelos equipamentos de DGI (importado e do IPEN) dos linfonodos sentinela *ex vivo*, do grupo A e do grupo C.

Linfonodo Sentinela	importado	IPEN
n° 02	0	19
n° 07	43	57
n° 12	116	80
n° 08	04	13
n° 04	63	52
n° 15	0	16
n° 03	41	46
n° 13	86	79
n° 06	02	14
n° 11	04	14
n° 29	116	93
n° 19	26	42
n° 21	0	18
n° 27	0	23
n° 23	0	15
n° 14	0	22
n° 22	0	21
n° 24	13	39
n° 30	0	17
n° 18	110	76
n° 20	25	81
n° 05	0	22
n° 01	0	22
n° 17	16	29
n° 09	0	23
n° 25	56	60
n° 26	66	72
n° 16	81	88
n° 28	20	33
n° 10	0	20

APÊNDICE 4 Valores de captação de radiação gama pelos equipamentos de detecção gama intra-operatória (importado e do IPEN).

Cirurgião:

Data:

Rato:

	importado		DGI	
Fundo				
Sítio de injeção				
LS ex vivo				
Corante Vital (Azul Patente V)				
Localização do LS				

ANEXO



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 19 de janeiro de 2007.
CEP 0020/07

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) PAULA CRISTINA FADA DOS SANTOS

Co-Investigadores: Renato Santos; Mario L Castiglioni; Alisson M Silva; Rodney J 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: “**Validação de equipamento nacional de detecção gama intra-operatória e experimental**”.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Estudo experimental agudo em ratos.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: não se aplica.

OBJETIVOS: Validar equipamento nacional de detecção gama intra-operatória para biópsia de linfonodo sentinela em modelo experimental.

RESUMO: Serão estudadas 15 ratas wistar adultas jovens, fêmeas, procedentes do CEDEME - Unifesp. Os animais serão submetidos aos procedimentos de mapeamento linfático com corante vital, detecção gama intra-operatória e exérese do linfonodo sentinela. Os animais serão anestesiados com cloridrato de tiletamina e clidrato de zolazepam para os procedimentos na cirurgia. O tempo decorrido entre a injeção e as medições, será calculado em minutos para cada animal. Durante o ato cirúrgico e após a identificação do linfonodo poplíteo, serão utilizados dois detectores de radiação gama. Os instrumentos, tanto de detecção gama intra-operatório a ser validado, bem como o equipamento convencional já em uso clínico, serão utilizados de maneira que o operador não veja qual dos dois estará sendo manipulado. Os valores serão registrados em fichas individuais para cada animal e comparados estatisticamente..

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Validar o uso de um equipamento para detecção gama-intra-operatório nacional, de baixo custo.

MATERIAL E MÉTODO: descritos os procedimentos experimentais.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: sem financiamento específico.

CRONOGRAMA: 12 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: mestrado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: **19/1/2008** e **18/1/2009**.

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

FONTES CONSULTADAS

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal [on line]. Legislação e ética. São Paulo; 2008. [citado 2008 out 1]. Disponível em <http://www.cobea.org.br/index.php?pg=Principios%20eticos>

Costa, FE. Manual de Operação: sonda gama intra-operatória. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Centro de Tecnologia das Radiações. São Paulo, 2004, 4p.

Descritores em ciências da saúde. [on line] 2008 [citado 2008 out 2]. Disponível em: [URL:http://decs.bvs.br/](http://decs.bvs.br/).

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

Ferreira LM, Goldenberg S, Nahas FX, Barbosa MVJ, Ely PB, Blanes L, Bretos JLG. Orientação Normativa para Elaboração e Apresentação de Teses. São Paulo, 2008, 87p.

Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Legislação em Vigilância Sanitária [on line]. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 38, de 4 de junho de 2008. São Paulo; 2008.[citado 2008 out 5]. Disponível em http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=31277&mode=PRINT_VERSION

Paiva FP, Maffili VV, Santos ACS. Curso de Manipulação de Animais em Laboratório. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz.Salvador; 2005.[citado 2008 out 5]. Disponível em: http://www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio/bioterio_apostilha.pdf

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

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

Stedman TL. Stedman's medical dictionary. 25^a ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1990. 1784p.