

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina

**LINFONODO-SENTINELA NO CÂNCER DE CÓLON:
COMPARAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS
IN VIVO E *EX VIVO***

ANTÔNIO HILÁRIO ALVES FREITAS

Belo Horizonte
2012

ANTÔNIO HILÁRIO ALVES FREITAS

**LINFONODO-SENTINELA NO CÂNCER DE CÓLON:
COMPARAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS
*IN VIVO E EX VIVO***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Medicina.

Área de concentração:
Anatomofisiopatogenia cirúrgica.

Linha de pesquisa: Bases moleculares das neoplasias: farmacogenética e farmacogenômica.

Orientador: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes.

Coorientador: Dr. Alberto Julius Alves Wainstein.

**Belo Horizonte
Faculdade de Medicina - UFMG
2012**

F866l Freitas, Antônio Hilário Alves.
Linfonodo-sentinela no câncer de cólon [manuscrito]: comparação entre as técnicas in vivo e ex vivo. / Antônio Hilário Alves Freitas. -- Belo Horizonte: 2012.
68f.: il.
Orientador: Tarcizo Afonso Nunes.
Co-Orientador: Alberto Julius Alves Wainstein.
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.
1. Neoplasias Colorretais/cirurgia. 2. Biópsia de Linfonodo Sentinela/métodos. 3. Metástase Neoplásica/diagnóstico. 4. Corantes/uso diagnóstico. 5. Adenocarcinoma. 6. Imunoistoquímica. 7. Dissertações Acadêmicas. I. Nunes, Tarcizo Afonso. II. Wainstein, Alberto Julius Alves. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WI 529

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG

REITORIA

Reitor: Prof. Dr. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora: Prof^a. Dr^a. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof^a. Dr^a. Efigênia Ferreira e Ferreira

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Dr. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE MEDICINA

Coordenador: Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha

Subcoordenadora: Prof^a. Dr^a Teresa Cristina de Abreu Ferrari

COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof^a. Dr^a. Ivana Duval de Araújo (subcoordenadora)

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches (coordenador)

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Prof. Dr. Renato Santiago Gómez

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Doutoranda Sumara Marques Barral: representante discente



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores, Tarcizo Afonso Nunes/Orientador, Edson Samesima Tatsuo, Sergio Alexandre da Conceição, João Batista de Sousa e Sinara Mônica de Oliveira Leite, aprovou a defesa da Tese intitulada: "**LINFONODO-SENTINELA NO CÂNCER DE CÓLON: COMPARAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS *IN VIVO E EX VIVO*.**", apresentada pelo Doutorando **ANTONIO HILARIO ALVES FREITAS**, para obtenção do título de Doutor em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 15 de outubro de 2012.

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Orientador

Prof. Edson Samesima Tatsuo

Prof. Sergio Alexandre da Conceição

Prof. João Batista de Sousa

Profa. Sinara Mônica de Oliveira Leite



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DE **ANTONIO HILARIO ALVES FREITAS**, nº de registro 2008670745.

Às quatorze horas do dia 15 de outubro de dois mil e doze, reuniu-se na Faculdade de Medicina Universidade Federal de Minas Gerias, a Comissão Examinadora de tese indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **"LINFONODO-SENTINELA NO CÂNCER DE CÓLON: COMPARAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS IN VIVO E EX VIVO."**, requisito final para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Tarcizo Afonso Nunes, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final passou a palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença do candidato e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Tarcizo Afonso Nunes/Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovado</u>
Prof. Edson Samesima Tatsuo	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADO</u>
Prof. Sergio Alexandre da Conceição	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADO</u>
Prof. João Batista de Sousa	Instituição: UNB	Indicação: <u>APROVADO</u>
Prof. Sinara Mônica de Oliveira Leite	Instituição: FCMMG	Indicação: <u>APROVADO</u>

Pelas indicações, o candidato foi considerado Aprovado.

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 15 de outubro de 2012.

Prof. Tarcizo Afonso Nunes/Orientador _____
 Prof. Edson Samesima Tatsuo _____
 Prof. Sergio Alexandre da Conceição _____
 Prof. João Batista de Sousa _____
 Prof. Sinara Mônica de Oliveira Leite _____
 Prof. Marcelo Dias Sanches/Coordenador _____

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia Faculdade de Medicina/UFMG

Prof. Marcelo Dias Sanches
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia
Faculdade de Medicina/UFMG

Para **Norvinda Lamounier Alves, minha mãe,**
pela doação e sacrifícios de uma vida inteira. Valeu, mãe!

Para **João Hilário, meu filho,**
tanto amor que até provoca dor.

Para **Tatiana, minha esposa,**
mãe dedicada e companheira em todos os momentos.
Te amo!

Para **Brígida** (minha irmã), **Fernando** (meu cunhado) e **Bernardo** (meu afilhado),
pessoas que guardo no fundo do coração. Estaremos juntos sempre!

Para **Antônio Alves de Freitas, meu pai,**
incansável, mostra-me que conquistas são dependentes do trabalho.

Para **João Bruno e Ana Lúcia,**
queridos irmãos e colegas de profissão.

Para **Vó Nadica,**
sua presença nos dá vida.

Para **minhas famílias de Itapeçerica e Montes Claros,**
agradeço a Deus por vocês existirem.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes**, com o qual pude adquirir conhecimentos profissionais e pessoais. Minha eterna gratidão, professor.

Ao meu coorientador, **Dr. Alberto Julius Alves Wainstein**, por fazer-me acreditar na pesquisa científica.

Ao **Prof. Dr. Joel Alves Lamounier**, pelo apoio na vida, na graduação e na pós-graduação.

Aos médicos patologistas **Antônio Francisco de Souza e Rodrigo Assis de Paula**.

Aos meus mestres: **Hélio Fábio (*in memoriam*) e Silvério Couto**.

Aos cirurgiões preceptores da Santa Casa de Belo Horizonte: **Henrique Jacob (*in memoriam*)**, **Geraldo Martins, Paulo Henrique de Almeida, Guilherme Velloso, Olavo Gontijo e Leonardo Lucas**.

Aos coloproctologistas preceptores do Hospital Felício Rocho: **Antônio Lacerda Filho, Paulo Lamounier, Cláudio Filizzola, Victor Filizzola, Valdivino Alves Filho, Eliane Mansur, Maria Zuleime Carmona e Fábio Lopes**.

Aos colegas de Residência: **Leandra Carneiro, Rafael Jacob, Larissa Vilela, André Viotti, Guilherme Mendonça, Marcelo Simões, Rodrigo Gomes, Silvia Quick Doll e Renato Azevedo**.

Aos amigos da equipe de coloproctologia dos Hospitais Vera Cruz e Lifecenter: **Ramon Pires Maranhão, Hélio Antônio Silva, Juliano Alves Figueiredo, Fabrício Silúzio Pereira, Kanthya Arreguy de Sena Borges, Isabela Pessoa Elias, Luciana Goulart Kopke e Marcos Henrique Rocha Campos**.

Aos amigos da equipe de proctologia do Hospital Militar: **Helio Antônio Silva, Kanthya Arreguy de Sena Borges, Isabella Mendonça Alvarenga e Thaísa Barbosa da Silva.**

Aos amigos da equipe de endoscopia do Hospital Militar: **Derival Nelmo Afonso dos Santos, Roberta Nogueira de Sá, Elmar José Moreira, Geraldo Henrique Gouveia Miranda, Cassia de Melo Todeschi, Christiane Soares Poncinelli, Daniella Ribeiro Eistoss Korman, Isabella Mendonça Alvarenga e Kanthya Arreguy Senna Borges.** Aos residentes **Patrícia, Breno, Amaury e Sabrina.**

Aos diretores, cirurgiões, anestesistas, residentes, acadêmicos e funcionários dos **Hospitais Militar e Alberto Cavalcanti.**

A **todos** que involuntariamente foram omitidos e que de alguma forma ajudaram na realização da pesquisa.

A **Deus.**

**“Abra seus braços para as mudanças,
mas não abra mão de seus valores”.**

Dalai Lama.

RESUMO

No mundo, a cada ano são diagnosticados cerca de 1.200.000 casos de câncer colorretal. Pacientes com doença em estágio inicial, sem linfonodo metastático, evoluem com recorrência ou recidiva do tumor em até um quarto dos casos, por provável subestadiamento. O objetivo é pesquisar sobre linfonodo-sentinela em pacientes com adenocarcinoma de cólon, comparando as técnicas *in vivo* e *ex vivo* utilizadas na sua identificação, e detalhar o exame anatomopatológico com multisseção e imunoistoquímica desses linfonodos. Foram estudados 33 pacientes submetidos à cirurgia oncológica curativa. O marcador utilizado para identificação de linfonodo-sentinela foi o corante azul patente. Em 18 deles o corante foi injetado *in vivo* na subserosa peritumoral e em 15 foi injetado *ex vivo* na submucosa peritumoral. A identificação visual de linfonodo-sentinela com o corante foi possível *in vivo* em 72,2% e *ex vivo* em 33,3% dos pacientes. Na análise histopatológica de rotina, a sensibilidade para detecção de metástases nos linfonodos-sentinela foi de 66,7% *in vivo* e de 100% *ex vivo*; e o falso-negativo foi de 33,3% no grupo *in vivo* e zero no grupo *ex vivo*. Entre os pacientes sem metástases pelo exame histopatológico de rotina com hematoxilina-eosina, o exame com multisseção e imunoistoquímica dos linfonodos-sentinela diagnosticou metástase em um (9%) indivíduo do grupo *in vivo* e em um (14,3%) do grupo *ex vivo*, sendo considerados reestadiamentos. Concluiu-se que na identificação de linfonodo-sentinela a pesquisa *in vivo* obteve melhores resultados que a *ex vivo*. O diagnóstico de metástases pela histopatologia de rotina foi proporcionalmente o mesmo nos linfonodos-sentinela e nos não sentinela. As técnicas anatomopatológicas de multisseção e imunoistoquímica aprimoraram o estadiamento dos tumores em relação ao exame histopatológico de rotina.

Palavras-chave: Linfonodo-sentinela. *Ex vivo*. *In vivo*. Câncer colorretal. Metástases.

ABSTRACT

Each year, approximately 1,200,000 cases of colorectal cancer are diagnosed worldwide. Patients with early-stage disease, without lymph node metastatic, evolve with tumor recurrence or relapse in up to a quarter of cases, likely due to understaging. The objective is to research sentinel lymph nodes in patients with colon adenocarcinomas, comparing *in vivo* and *ex vivo* techniques used in their identification, and to detail anatomical-pathological examination, with multisection and immunohistochemistry, of these lymph nodes. Thirty-three patients undergoing curative cancer surgery were studied. The marker used to identify sentinel lymph nodes was patent blue dye. In 18 of these patients, the dye was injected *in vivo* into the peritumoral subserosa, while with 15 patients, it was injected *ex vivo* into the peritumoral submucosa. The visual identification of sentinel lymph nodes with the dye was possible in 72.2% of the *in vivo* cases, and in 33.3% of the *ex vivo* cases. In routine histopathological analysis, the sensitivity for detection of metastases in sentinel lymph nodes was 66.7% *in vivo*, and 100% *ex vivo*; false-negatives were 33.3% for the *in vivo* group, and zero *ex vivo*. Among patients without metastases by routine histopathological examination with hematoxylin-eosin, examination with multisection and immunohistochemistry of sentinel lymph nodes diagnosed metastases in one (9%) subject from the *in vivo* group and in one subject (14.3%) from the *ex vivo* group, leading to a consideration of restaging. We conclude that in the identification of sentinel lymph nodes, *in vivo* research yielded better results than the *ex vivo* approach. The diagnosis of metastases by routine histopathology was proportionally the same in sentinel and non-sentinel lymph nodes. The anatomical-pathological techniques of multisection and immunohistochemistry improved the staging of tumors, compared to routine histopathological examination.

Keywords: sentinel lymph node. *Ex vivo*. *In vivo*. Colorectal cancer. Metastases.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASA	<i>American Society of Anesthesiology</i>
CALGB	<i>Cancer and Leukemia Group B</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DP	Desvio-padrão
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
FHEMIG	Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais
HPM	Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais
IC	Intervalo de confiança
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IQ	Imunoistoquímica
LNS	Linfonodo não sentinela
MS	Multisseccção
NR	Não realizado
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TNM	Tumor-nodo-metástase

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

- FIGURA 1 - Fotografia digital mostrando a Injeção do corante azul patente na subserosa intestinal peritumoral, *in vivo*..... 26
- FIGURA 2 - Fotografia digital do mesentério intestinal, identificando-se vaso linfático (seta branca) e linfonodos-sentinela (setas pretas) corados pelo azul patente *in vivo*..... 27
- FIGURA 3 - Fotografia digital do cólon aberto, identificando-se os pontos de injeção do corante azul patente na submucosa peritumoral (setas)..... 28
- FIGURA 4 - Fotografia digital do mesentério intestinal com identificação dos linfonodos-sentinela corados pelo azul patente (setas) *ex vivo*... 28
- FIGURA 5 - Fotografia digital dos linfonodos-sentinela do mesentério intestinal dissecados da peça cirúrgica, marcados com fios cirúrgicos..... 29
- FIGURA 6 - Fotografia digital das lâminas resultantes da multisseção de um linfonodo-sentinela..... 30
- FIGURA 7 - Microfotografia de lâmina identificando-se célula tumoral (seta) isolada no linfonodo-sentinela depois da imunoistoquímica..... 30

Quadro

- QUADRO 1 - Características dos pacientes dos dois grupos (n=33)..... 25

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Acometimento dos linfonodos nas 18 peças cirúrgicas de câncer de cólon pela histopatologia de rotina com hematoxilina-eosina - grupo <i>in vivo</i> (n=238).....	34
TABELA 2 - Exame histopatológico dos linfonodos em pacientes com câncer de cólon, nos quais foram identificados linfonodos-sentinela - grupo <i>in vivo</i> (n=13).....	35
TABELA 3 - Acometimento dos linfonodos nas 15 peças cirúrgicas de câncer de cólon pelo exame histopatológico de rotina com hematoxilina-eosina - grupo <i>ex vivo</i> (n=215).....	36
TABELA 4 - Exame histopatológico dos linfonodos em pacientes com câncer de cólon, nos quais foram identificados linfonodos-sentinela – grupo <i>ex vivo</i> (n=5).....	36
TABELA 5 – Resultados da identificação de linfonodo-sentinela por meio do corante azul patente, e do estudo histopatológico entre os grupos de pacientes <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i>	38
TABELA 6 - Resultado geral do estudo <i>in vivo</i>	67
TABELA 7 - Resultado geral do estudo <i>ex vivo</i>	68

SUMÁRIO¹

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
3.1 Histórico da pesquisa sobre linfonodo-sentinela no câncer intestinal.....	20
3.2 Pesquisa sobre linfonodo-sentinela no Brasil.....	20
3.3 Pesquisa sobre linfonodo-sentinela <i>ex vivo</i> no câncer colorretal.....	21
3.4 Linfonodo-sentinela e micrometástases.....	22
4 PACIENTES E MÉTODO.....	23
4.1 Pacientes.....	24
4.1.1 Avaliação clínica e exames complementares.....	24
4.1.2 Critérios de inclusão e não inclusão	24
4.1.3 Casuística.....	25
4.2 Constituição dos grupos.....	25
4.3 Marcador de linfonodos.....	26
4.4 Identificação de linfonodo-sentinela.....	26
4.5 Exame anatomopatológico.....	29
4.6 Estadiamento anatomopatológico dos tumores de cólon.....	31
4.7 Variáveis estudadas e análise estatística.....	31
5 RESULTADOS.....	33
5.1 Identificação de linfonodos pelo corante azul patente.....	34
5.2 Identificação de linfonodo-sentinela e exame histopatológico.....	34
5.3 Estadiamento anatomopatológico antes e depois de aplicadas técnicas de multissecção e imunohistoquímica nos linfonodos-sentinela.....	37
5.4 Resultados entre os grupos <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i>	38

¹ Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com a ABNT NBR 14724 de 17.04.2011.

6 DISCUSSÃO.....	39
7 CONCLUSÕES.....	46
REFERÊNCIAS.....	48
ANEXOS E APÊNDICES.....	56

1 INTRODUÇÃO

O câncer colorretal tem incidência mundial de 1,2 milhão de casos ao ano e no Brasil é de aproximadamente 26.000 casos, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2008; INCA, 2012). Nos tumores colorretais a principal via de disseminação é a linfática. Assim, tanto o estadiamento quanto o prognóstico do paciente baseiam-se, também, no acometimento linfonodal. Dessa forma, o tratamento cirúrgico consiste em remover em bloco a neoplasia com margens amplas e o mesentério que contém o tecido linfático (GORDON *et al.*, 1999).

O aprimoramento das técnicas de diagnóstico de metástase linfonodal tem importância para o tratamento adequado do paciente com câncer colorretal. Nos casos em que são diagnosticadas metástases linfáticas, a quimioterapia adjuvante aumenta a sobrevida e o tempo livre de doença (WOLMARK *et al.*, 1996). Quando ocorre falha desse diagnóstico, os pacientes são considerados estadio inicial e, à luz do conhecimento atual, não há indicação de terapia adjuvante. Nesses casos, a incidência de óbito em cinco anos devido à recorrência local do tumor ou metástase à distância ocorre em até 25% dos pacientes (SAHA *et al.*, 2004a).

O linfonodo-sentinela é definido como o primeiro a receber drenagem linfática do tumor e o mais provável de conter metástases (MORTON *et al.*, 1992). A pesquisa desse linfonodo é rotina no tratamento do câncer de mama e do melanoma, entretanto, para outros tumores esse método ainda carece de estudos. Nos tumores colorretais, a técnica *in vivo* é factível e muito utilizada (BRAAT *et al.*, 2005), mas há menos experiência com a técnica *ex vivo* (WONG *et al.*, 2001). No Brasil, ainda não há publicação sobre o método *ex vivo*, sendo esse um dos motivos deste estudo.

A falha no estadiamento estimulou-nos a realizar pesquisas sobre identificação e estudo pormenorizado dos linfonodos mais prováveis de conter metástases, denominados sentinela. Dessa forma, decidimos comparar as técnicas de identificação de linfonodo-sentinela *in vivo* e *ex vivo* e aprofundar em pesquisas relacionadas ao diagnóstico das metástases linfonodais utilizando histopatologia de rotina, multisseção e imunohistoquímica, com possibilidade de estadiamento mais confiável e de tratamento mais adequado, com vista ao aumento do índice de cura dos pacientes.

2 OBJETIVOS

- Comparar as técnicas de identificação de linfonodo-sentinela *in vivo* e *ex vivo* em pacientes com adenocarcinoma de cólon.
- Comparar a incidência de metástase entre os linfonodos-sentinela e não sentinela pela histopatologia de rotina.
- Verificar a importância das técnicas de multisseção e imunoistoquímica nos linfonodos-sentinela para o estadiamento dos tumores.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Histórico da pesquisa sobre linfonodo-sentinela no câncer intestinal

Braithwaite (1923) foi pioneiro em realizar mapeamento linfático, por meio da injeção de corante índigo carmim no intestino. Na década de 1950, a baixa toxicidade do corante vital injetado nas proximidades do tumor foi citada nos trabalhos desenvolvidos por Weinberg *et al.* (1951) e Cohn, Leon e Strug (1958).

Joosten *et al.* (1999) e Saha *et al.* (2000; 2004b) identificaram linfonodo-sentinela mediante a injeção subserosa do corante azul no intraoperatório de tumores intestinais.

Pacientes com tumores de cólon foram avaliados por Nastro *et al.* (2002), que excluíram os localizados no reto, pelas dificuldades de injeção da substância marcadora na pelve e de identificação dos linfonodos no mesorreto.

Em revisão do Colégio Americano de Cirurgiões sobre cirurgia oncológica, Lafrenière (2004) afirmou que a pesquisa de linfonodo-sentinela era realidade nos melanomas e cânceres de mama e perspectiva para as neoplasias intestinais.

Utilizando o corante linfazurim e o colóide radioativo, Saha *et al.* (2004a) estudaram 209 pacientes com tumores colorretais. Ressaltaram que 23% dos pacientes classificados como linfonodos sem metástases (T3,N0) morrem pela doença, provavelmente devido ao subestadiamento.

Foram analisados 25 trabalhos sobre linfonodo-sentinela e adenocarcinoma colorretal, sendo que em 19 foi utilizado o corante como marcador de linfonodos e em quatro o corante associado ao radiofármaco e em dois somente o radiofármaco (DOEKHIE *et al.*, 2005). Os autores afirmaram que o método era factível, mas havia grande variação na técnica e na seleção dos doentes.

3.2 Pesquisa sobre linfonodo-sentinela no Brasil

A pesquisa de linfonodo-sentinela nos cânceres de mama e melanomas é rotina em nosso país, sendo padronizada pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Sua aplicação possibilitou avanços no tratamento desses tumores, uma vez que reduziu a radicalidade cirúrgica e manteve a eficácia.

Damin *et al.* (2003) identificaram linfonodo-sentinela inguinal mediante o uso de corante azul e radiofármaco em todos os 14 pacientes com carcinoma

espinocelular de canal anal e um deles foi reestadiado após multisseção e imunoistoquímica.

Linfonodo-sentinela foi identificado em tumores ginecológicos de colo uterino em 92% de 56 pacientes estudados por Silva *et al.* (2005).

No Instituto Nacional do Câncer (INCA), no Brasil, Basílio e Fonseca (2006) utilizaram corante azul patente e radiofármaco injetados *in vivo* em pacientes com câncer de cólon. Houve 100% de sucesso na identificação dos linfonodos-sentinela e 12,9% de reestadiamento por meio de imunoistoquímica.

Corante azul patente e radiofármaco fitato marcado com tecnécio foram empregados por Freitas *et al.* (2008) para identificação *in vivo* de linfonodo-sentinela em pacientes submetidos a tratamento cirúrgico de adenocarcinoma de cólon. Os resultados mostraram superioridade do radiofármaco.

3.3 Pesquisa sobre linfonodo-sentinela *ex vivo* no câncer colorretal

Wong *et al.* (2001) foram os primeiros a realizar pesquisa de linfonodo-sentinela *ex vivo* em pacientes com tumores intestinais. Consideraram o método factível e conseguiram reestadiamento anatomopatológico em quatro (15%) dos 26 pacientes estudados. Autores canadenses realizaram pesquisa similar e obtiveram resultados conclusivos em 88% dos casos, mas com alto índice de falso-negativo nos tumores retais (FRITZGERALD *et al.*, 2002). Outros pesquisadores naquele mesmo país estudaram 17 pacientes com tumores de cólon, com 94% de sucesso na identificação de linfonodo-sentinela e 12% de reestadiamento anatomopatológico (SMITH *et al.*, 2006).

A técnica *ex vivo* é considerada alternativa por Bell *et al.* (2005), Demirbas *et al.* (2004) e Smith *et al.* (2002; 2006), uma vez que não manipula o tumor no intraoperatório e pode reduzir a disseminação local. Essa abordagem, segundo eles, não altera o ritmo da operação e evita reações adversas aos marcadores, mas o procedimento altera a fisiologia de progressão nos vasos linfáticos.

Estudo *ex vivo* foi realizado por Pocard *et al.* (2005) em 31 pacientes com tumores apenas de reto, sendo a metade deles submetida à radioterapia pré-operatória. O linfonodo-sentinela foi identificado em 97% dos casos.

A factibilidade da técnica *ex vivo* foi atestado por Yagci *et al.* (2006) ao identificarem linfonodo-sentinela em 97% dos 47 pacientes com câncer colorretal.

Zaag *et al.* (2009) investigaram 132 pacientes com tumores intestinais por meio da técnica *ex vivo*, sendo 32 com neoplasia retal. Os piores resultados ocorreram em 13 pacientes com tumores de reto, nos quais não foram identificados linfonodos-sentinela, sendo que 11 destes tinham recebido radioterapia antes da operação. Para os autores, o método é aplicável nos tumores de cólon e menos confiável nos tumores de reto.

3.4 Linfonodo-sentinela e micrometástases

Ota (2000) sugeriu que a pesquisa de linfonodo-sentinela pode ser de grande valia para estadiamento mais confiável nos pacientes com câncer de cólon. O avanço alcançado com essa técnica possibilita estadiamento mais acurado do paciente (BENDAVID *et al.*, 2002; BILCHICK *et al.* 2001; DAHL *et al.*, 2005; WATERS *et al.*, 2000). Segundo Esser *et al.* (2001), ainda há limitações no exame microscópico quando a doença metastática é escassa, sendo necessária a imunoistoquímica.

O papel das micrometástases identificadas pela imunoistoquímica na evolução da doença e sobrevida dos indivíduos é questionado por Fazio *et al.* (2006) e Sticca (2006), para os quais o exame deve ser realizado somente em caráter de pesquisa até que seja validado.

No câncer intestinal, o objetivo é estudar melhor os pacientes considerados como estadio II (ausência de linfonodos metastáticos), uma vez que poderão beneficiar-se com terapia adjuvante caso a pesquisa de linfonodo-sentinela indique reestadiamento (CODIGNOLA *et al.*, 2005). O método ainda não foi validado, pelo fato de alguns trabalhos mostrarem alta porcentagem de falso-negativo (metástases em linfonodos não sentinela). Autores holandeses afirmaram que a realização da imunoistoquímica contribui para as decisões sobre o tratamento do câncer colorretal (VAN DER ZAAG *et al.*, 2010).

4 PACIENTES E MÉTODO

Este é um estudo prospectivo, descritivo e analítico sobre linfonodo-sentinela em pacientes com adenocarcinoma de cólon. As operações foram realizadas no período de abril de 2005 a abril de 2012, nas seguintes instituições: Hospital Alberto Cavalcanti, que pertence à rede pública de saúde da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), e Hospital da Polícia Militar do Estado de Minas Gerais, que atende policiais militares e seus dependentes.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FHEMIG, pareceres números 290 e 87/08; Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais (COEP-HPM/MG), parecer número 19; Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) pareceres números ETIC 168/06 e 282/08 (ANEXO A).

Os pacientes e/ou seus responsáveis foram informados e convidados a participar da pesquisa, assinando o documento “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” apresentado pelo pesquisador no pré-operatório (APÊNDICE A).

4.1 Pacientes

4.1.1 Avaliação clínica e exames complementares

Os pacientes foram submetidos à seguinte propedêutica: exame clínico e proctológico; exames laboratoriais (hemograma, coagulograma, ionograma, creatinina, antígeno carcinoembrionário); exames de imagem (radiografia ou tomografia de tórax, ultrassonografia ou tomografia abdominal, tomografia ou ressonância magnética pélvica); colonoscopia com biópsia e avaliação clínica segundo a classificação da *American Society of Anesthesiology* (ASA, 1963).

4.1.2 Critérios de inclusão e não inclusão

Foram incluídos os pacientes com adenocarcinoma de cólon, maiores de 21 anos de idade e que assinaram o termo de consentimento. Não foram

incluídos aqueles com evidência de metástase à distância e operações de urgência.

4.1.3 Casuística

A casuística foi composta de 33 pacientes com adenocarcinoma de cólon, sendo 18 (54,5%) mulheres e 15 (45,5%) homens. A idade variou de 28 a 83 anos, média de 60,5 anos.

4.2 Constituição dos grupos

Os 33 pacientes foram submetidos ao tratamento cirúrgico para adenocarcinoma de cólon e empregadas duas técnicas para a pesquisa do linfonodo-sentinela em duas etapas sequenciais: na primeira, foram estudados 18 pacientes pela técnica *in vivo* e, na segunda, 15 pacientes pela técnica *ex vivo*. Assim, foram constituídos dois grupos de pacientes, cujas características estão apresentadas no QUADRO 1.

QUADRO 1 - Características dos pacientes dos dois grupos (n=33)

Características	Grupos	
	<i>in vivo</i> n = 18	<i>ex vivo</i> n = 15
Masculino: feminino	7:11	7:8
Média de idade dos pacientes	61	60
Tamanho do tumor *	4,5 (1,4)	5 (0,5)
Localização do tumor		
- Cólon direito	08	12
- Cólon transverso	-	01
- Cólon esquerdo	04	-
- Cólon sigmóide	06	02
Estadiamento anatomopatológico		
- I/II	11	07
- III	07	08

* Média das medidas em centímetros (desvio-padrão)

4.3 Marcador de linfonodos

O corante azul patente na concentração a 1% foi empregado como marcador de linfonodos. A substância foi fabricada pela Citopharma Ltda. (Belo Horizonte – Minas Gerais), que é habilitada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

4.4 Identificação de linfonodo-sentinela

Os pacientes dos dois grupos foram submetidos a: anestesia geral, antisepsia e colocação de campos cirúrgicos, laparotomia mediana, exploração da cavidade abdominal e identificação do tumor. Em cada grupo o procedimento foi realizado como descrito a seguir:

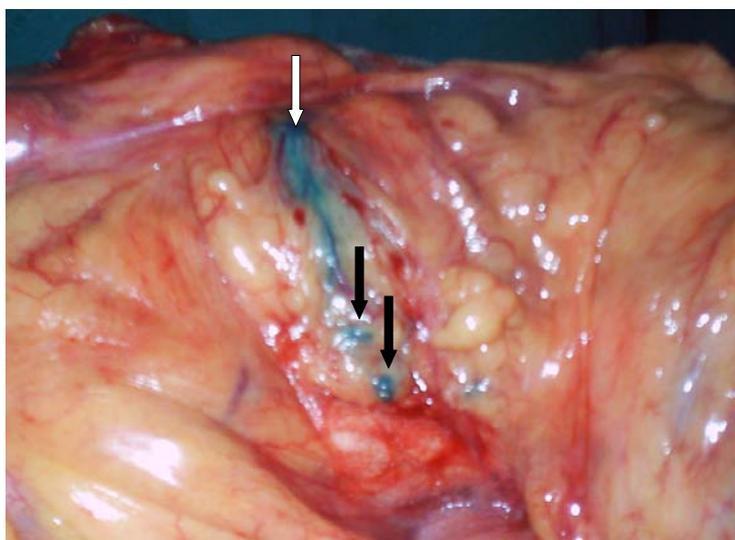
Grupo *in vivo* - após a identificação do tumor na cavidade abdominal, foi realizada injeção de 1 mL do corante azul patente a 1% na subserosa do intestino, cerca de 1 cm da borda do tumor, empregando-se seringa de 1 mL e agulha de 13 x 4,5 mm. O volume do corante foi dividido igualmente em quatro partes e aplicado nos quatro pontos cardeais adjacentes ao tumor (FIG. 1).

FIGURA 1 – Fotografia digital mostrando a injeção do corante azul patente na subserosa intestinal peritumoral, *in vivo*



Depois de cinco minutos, identificaram-se os primeiros linfonodos corados de azul no mesentério, considerados linfonodos-sentinela (FIG. 2), que foram marcados com fio cirúrgico.

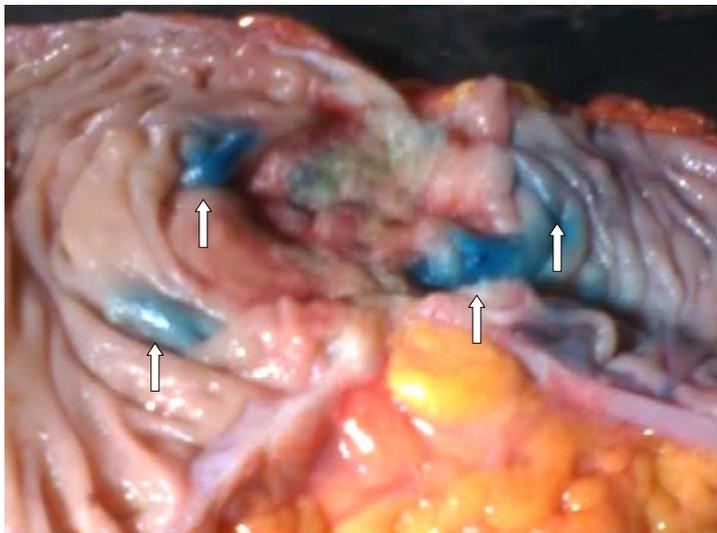
FIGURA 2 – Fotografia digital do mesentério intestinal, identificando-se vaso linfático (seta branca) e linfonodos-sentinela (setas pretas) corados pelo azul patente *in vivo*



Foi realizada a colectomia parcial incluindo o mesentério, revisada a cavidade abdominal e laparorrafia. A peça cirúrgica removida foi colocada em mesa auxiliar para a dissecação dos linfonodos. Todos os linfonodos-sentinela marcados com fios cirúrgicos foram removidos do mesentério e enviados separadamente em frascos numerados, juntamente com a peça cirúrgica, para o serviço de anatomia patológica.

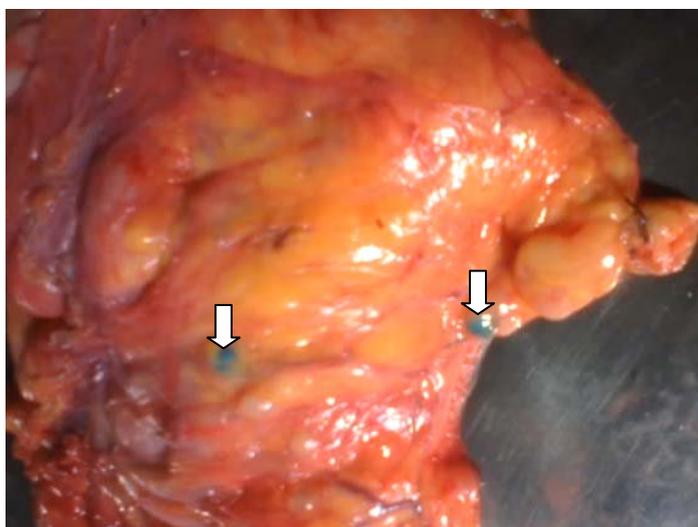
Grupo ex vivo - concluída a colectomia, a peça cirúrgica contendo o tumor e o mesentério foi colocada em uma mesa auxiliar para iniciar a pesquisa do linfonodo-sentinela. Inicialmente, foi realizada colotomia, identificado o tumor e injetado 1 mL do corante azul patente a 1% na submucosa peritumoral cerca de 1 cm da borda do tumor, cujo volume foi dividido igualmente em quatro partes e aplicado nos quatro pontos cardeais em torno da lesão, empregando-se seringa de 1 mL e agulha de 13 x 4,5 mm (FIG. 3).

FIGURA 3 – Fotografia digital do cólon aberto, identificando-se os pontos de injeção do corante azul patente na submucosa peritumoral (setas)



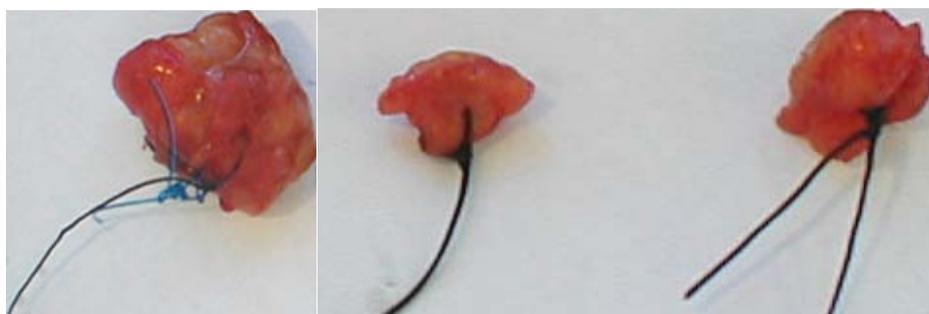
Em seguida, procedeu-se à massagem peritumoral durante cinco minutos para difusão do corante pelas vias linfáticas. Identificaram-se por visão direta os primeiros linfonodos azuis no mesentério, considerados linfonodos-sentinela, que foram marcados com fio cirúrgico (FIG. 4).

FIGURA 4 – Fotografia digital do mesentério intestinal com identificação dos linfonodos-sentinela corados pelo azul patente (setas) *ex vivo*



Todos os linfonodos-sentinela do mesentério marcados com fios cirúrgicos foram dissecados, removidos e enviados separadamente em frascos numerados para o serviço de anatomia patológica, juntamente com a peça cirúrgica (FIG. 5).

FIGURA 5 – Fotografia digital dos linfonodos-sentinela do mesentério intestinal dissecados da peça cirúrgica, marcados com fios cirúrgicos

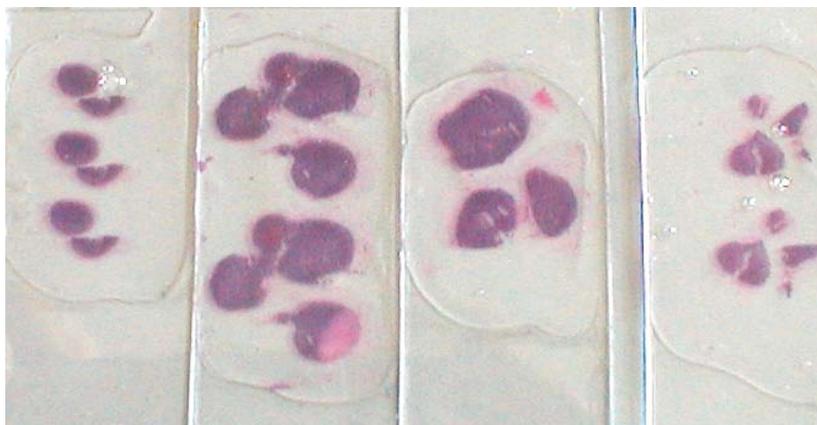


4.5 Exame anatomopatológico

O exame histopatológico de rotina foi realizado em todos os linfonodos, sentinela e não sentinela. Os linfonodos foram incluídos em blocos de parafina cortados com micrótomo com espessura de 2-3 μm , colocados em lâminas, corados com hematoxilina-eosina e examinados à microscopia de luz.

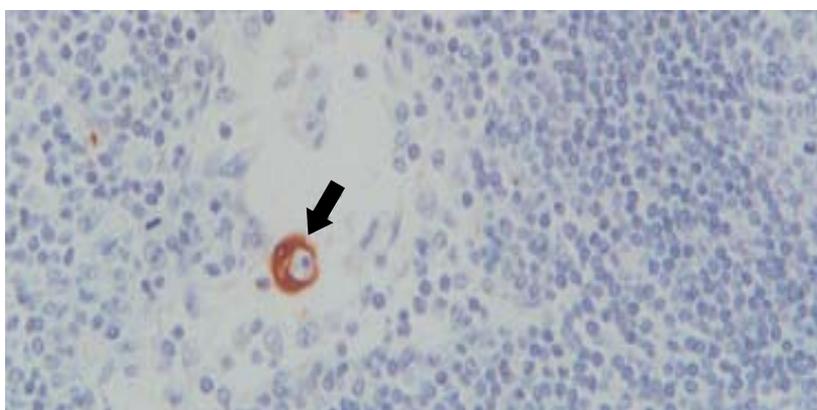
Nos linfonodos-sentinela nos quais não foram encontradas células neoplásicas pela histologia de rotina, foi aplicada a técnica de multisseccção, que consistiu na realização de múltiplos cortes escalonados em intervalos de 2-3 mm, do linfonodo incluído no bloco de parafina. Esses tecidos foram colocados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina, para o exame à microscopia de luz (FIG. 6).

FIGURA 6 – Fotografia digital das lâminas resultantes da multisseção de um linfonodo-sentinela



Nos linfonodos-sentinela nos quais não foram encontradas células neoplásicas pela histologia de rotina também se realizou a pesquisa imunohistoquímica utilizando-se citoqueratinas AE1/AE3 (Biogenex®). As fases do processo foram: corte escalonado do linfonodo a cada intervalo de 50 micra; imunoperoxidase; estreptavidina; biotina supersensitivo depois da reativação antigênica induzida pelo calor com tampão ácido etilenodiamino-tetracético (EDTA) acompanhado de colorações de controle (FIG. 7).

FIGURA 7 – Fotomicrografia de lâmina identificando-se célula tumoral (seta) isolada no linfonodo-sentinela depois da imunohistoquímica.



4.6 Estadiamento anatomopatológico dos tumores de cólon

Para o estadiamento foram seguidos os critérios anatomopatológicos de tumor-linfonodo-metástase (TNM) (EDGE *et al.*, 2010), quais sejam:

- **T** representa a invasão do tumor na parede do cólon
 - 0** - sem evidência de tumor primário;
 - is* - *in situ* – invasão intraepitelial ou da lâmina própria;
 - 1** - neoplasia invade a camada submucosa;
 - 2** - se já invade a camada muscular própria;
 - 3** - todas as camadas da parede intestinal afetadas;
 - 4** - acometendo órgãos adjacentes.
- **N** define a invasão linfonodal
 - 0** - ausência de metástases linfonodais;
 - 1** - quando um a três linfonodos estão acometidos;
 - 2** - quando mais de quatro linfonodos apresentam metástases.
- **M** define a presença de metástase em órgãos ou estruturas distantes
 - 0** - ausente;
 - 1** - presente.

O estadiamento TNM:

- Estadio 0 = Tis, N0, M0;
- estadio I = T1 ou T2, N0, M0;
- estadio II = T3 ou T4, N0, M0;
- estadio III = qualquer T, N1 ou N2, M0;
- estadio IV = qualquer T, qualquer N, M 1.

4.7 Variáveis estudadas e análise estatística

O programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) foi utilizado para realização dos cálculos.

Na identificação dos linfonodos pelo azul patente, foi medida a tendência central (média) e calculada a dispersão pelo desvio padrão (DP).

Para comparação entre proporções, foi empregado o teste do qui-quadrado e considerado o valor de $p < 0,05$ como limiar de significância estatística. E, quando houve casela com valor esperado abaixo de cinco foi usado o teste exato de Fisher.

No estudo de validade foram calculados sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia, com os respectivos intervalos de confiança a 95% (método de Fleiss quadrático).

A sensibilidade foi determinada pela identificação de metástases nos linfonodos-sentinela. O resultado falso-negativo significou que não houve metástases nos linfonodos-sentinela, mas elas ocorreram nos linfonodos não sentinela.

5 RESULTADOS

5.1 Identificação de linfonodos pelo corante azul patente

Grupo *in vivo* - nos 18 participantes foram isolados 238 linfonodos, média de 13,2 (DP=5,1) por paciente. O corante azul patente identificou linfonodo-sentinela em 13 (72,2%) indivíduos. Foram identificados 29 linfonodos-sentinela, média de 2,2 (DP=1,4) por paciente (TAB. 6 – APÊNDICE B).

Grupo *ex vivo* - nos 15 participantes foram isolados 215 linfonodos, média de 14,3 (DP=4,4) por paciente. O corante azul patente identificou linfonodo-sentinela em 5 (33,3%) indivíduos. Foram detectados 11 linfonodos-sentinela, média de 2,2 (DP=2,7) por paciente (TAB. 7 – APÊNDICE B).

5.2 Identificação de linfonodo-sentinela e exame histopatológico

Grupo *in vivo* - entre os 29 linfonodos-sentinela identificados pelo corante azul patente, o exame histopatológico de rotina com hematoxilina-eosina diagnosticou metástases em quatro (13,8%) e nos outros 25 (86,2%) ausência de metástases. Dos 209 linfonodos não sentinela, 24 (11,5%) continham metástases e 185 (88,5%) estavam livres delas. Portanto, a existência de metástases foi proporcionalmente semelhante nos linfonodos-sentinela e não sentinela e não apresentou diferença ($p=0,88$) (TAB. 1).

TABELA 1 – Acometimento dos linfonodos nas 18 peças cirúrgicas de câncer de cólon pela histopatologia de rotina com hematoxilina-eosina - grupo *in vivo* (n=238 linfonodos)

Linfonodos	Metástase (+)	Metástase (-)	Total
Sentinela	4 (13,8%)	25 (86,2%)	29 (100,0%)
Não sentinela	24 (11,5%)	185 (88,5%)	209 (100,0%)
Total	28	210	238

(+) = positivo para metástase; (-) = negativo para metástase; $p=0,88$.

Considerando o estudo de validade, nos 13 pacientes cujo corante azul patente identificou linfonodos-sentinela, o exame histopatológico de rotina diagnosticou metástase em três (23%) – pacientes números 5, 9 e 12. Destes, em

um (33,3%) as metástases encontravam-se exclusivamente nos linfonodos-sentinela, em um (33,3%) as metástases foram constatadas tanto no sentinela quanto no não sentinela e em um (33,3%) elas foram detectadas em linfonodos não sentinela, sendo que este representa o falso-negativo. Nos outros 10 pacientes, apesar de terem sido identificados linfonodos-sentinela, não foram diagnosticadas metástases.

Dessa forma, o resultado do exame histopatológico dos linfonodos-sentinela e não sentinela nos 13 pacientes do grupo *in vivo*, nos quais foi possível identificar linfonodos-sentinela, foi o seguinte: sensibilidade 66,7% (intervalo de confiança – IC 95% - 12,5% a 98,2%); especificidade 90% (IC 95% - 54,1% a 99,5%); valor preditivo positivo 66,7% (IC 95% - 12,5% a 98,2%); valor preditivo negativo 90,0% (IC 95% - 54,1% a 99,5%) e acurácia 84,6% (IC 95% - 53,7% a 97,3%) (TAB. 2).

TABELA 2 – Exame histopatológico dos linfonodos em pacientes com câncer de cólon, nos quais foram identificados linfonodos-sentinela - grupo *in vivo* (n=13 pacientes)

Linfonodos	Com Metástase	Sem Metástase	Total
Sentinela	2	1	3
Não sentinela	1	9	10
Total	3	10	13

Grupo *ex vivo* - entre os 11 linfonodos-sentinela identificados pelo corante azul patente, o exame histopatológico de rotina com hematoxilina-eosina diagnosticou metástases em um (9%) e nos outros 10 (91%) não foram encontrados sinais de metástases. Dos 204 linfonodos não sentinela, 19 (9,3%) continham metástases e 185 (90,7%) estavam livres delas. Portanto, a existência de metástases foi proporcionalmente semelhante nos linfonodos-sentinela e não sentinela ($p=1,00$) (TAB. 3).

TABELA 3 – Acometimento dos linfonodos nas 15 peças cirúrgicas de câncer de cólon pelo exame histopatológico de rotina com hematoxilina-eosina - grupo *ex vivo* (n=215 linfonodos)

Linfonodos	Metástase (+)	Metástase (-)	Total
Sentinela	1 (9,0%)	10 (91,0%)	11 (100,0%)
Não sentinela	19 (9,3%)	185 (90,7%)	204 (100,0%)
Total	20	195	215

(+) = positivo para metástase; (-) = negativo para metástase; p=1,00 (teste exato de Fisher).

Com base no estudo de validade, nos cinco pacientes do grupo *ex vivo*, cujo corante azul patente identificou linfonodos-sentinela, o exame histopatológico de rotina diagnosticou metástase em um (20%) – paciente número 14 - e nele foram detectadas metástases tanto no sentinela quanto no não sentinela, portanto, sem falso-negativo. Nos outros quatro pacientes, apesar de terem sido identificados linfonodos-sentinela, não foram diagnosticadas metástases.

Dessa forma, o resultado da histopatologia dos linfonodos-sentinela e não sentinela nos cinco pacientes do grupo *ex vivo*, nos quais foi possível a identificação de linfonodos-sentinela, foi o seguinte: sensibilidade 100% (IC 95% - 5,5% a 100,0%); especificidade 100% (IC 95% - 39,6% a 100,0%); valor preditivo positivo 100% (IC 95% - 5,5% a 100,0%); valor preditivo negativo 100,0% (IC 95% - 39,6% a 100,0%) e acurácia 100,0% (IC 95% - 46,3% a 100,0%) (TAB. 4).

TABELA 4 – Exame histopatológico dos linfonodos em pacientes com câncer de cólon, nos quais foram identificados linfonodos-sentinela – grupo *ex vivo* (n=5 pacientes)

Linfonodos	Com Metástase	Sem Metástase	Total
Sentinela	1	0	1
Não sentinela	0	4	4
Total	1	4	5

5.3 Estadiamento anatomopatológico antes e depois de aplicadas técnicas de multisseção e imunoistoquímica nos linfonodos-sentinela

Grupo *in vivo* - o exame histopatológico de rotina em todos os linfonodos dos 18 pacientes não diagnosticou metástase em 11 (61,1%), portanto, eles foram considerados estadio N0. Nos outros sete (38,9%) foram diagnosticadas metástases, sendo classificados no estadio N+.

Dessa forma, o estadiamento (TNM) inicial da amostra desse grupo foi:

- N0 = 11 pacientes (61,1%);
- N+ = 07 pacientes (38,9%).

Dos 11 pacientes sem metástase nos linfonodos-sentinela pelo exame histológico de rotina, as técnicas de multisseção e imunoistoquímica diagnosticaram metástase em um (9%), que representa o reestadiamento final desse grupo:

- N0 = 10 pacientes (55,5%);
- N+ = 08 pacientes (44,5%).

Grupo *ex vivo* - o exame histopatológico de rotina em todos os linfonodos dos 15 pacientes não diagnosticou metástase em sete (46,7%), logo, eles foram considerados estadio N0. Nos outros oito (53,3%) foram diagnosticadas metástases, sendo classificados no estadio N+.

Dessa forma, o estadiamento (TNM) inicial da amostra desse grupo foi:

- N0 = 7 pacientes (46,7%);
- N+ = 8 pacientes (53,3%).

Dos sete pacientes sem metástase nos linfonodos-sentinela pelo exame histológico de rotina, as técnicas de multisseção e imunoistoquímica diagnosticaram metástase em um (14,3%), que representa o reestadiamento final desse grupo:

- N0 = 6 pacientes (40%);
- N+ = 9 pacientes (60%).

5.4 Resultados entre os grupos *in vivo* e *ex vivo*

A identificação de linfonodo-sentinela ocorreu em 72,2% dos pacientes do grupo *in vivo* e 33,3% no grupo *ex vivo*. A média de linfonodos-sentinela por paciente foi 2,2 (DP=1,4) no grupo *in vivo* e 2,2 (DP=2,7) no grupo *ex vivo*.

No diagnóstico de metástases pelo estudo anatomopatológico de rotina, a acurácia foi de 84,6% no grupo *in vivo* e 100% no grupo *ex vivo*. A sensibilidade foi de 69,2% no grupo *in vivo* e 100% no grupo *ex vivo*. Falso-negativo foi de 33,3% no grupo *in vivo* e 0% no grupo *ex vivo*.

O reestadiamento depois da multisseção e imunoistoquímica nos linfonodos-sentinela ocorreu em 9% no grupo *in vivo* e em 14,3% no grupo *ex vivo* (TAB. 5).

TABELA 5 – Resultados da identificação de linfonodo-sentinela por meio do corante azul patente, e do estudo histopatológico entre os grupos de pacientes *in vivo* e *ex vivo*

Grupo de pacientes	Média de LS por paciente	Pacientes com LS identificado pelo corante	Acurácia	Sensibilidade	Falso-negativo	Reestadiamento
<i>In vivo</i>	2,2 ± 1,4	13/18 (72,2%)	11/13 (84,6%)	2/3 (66,7%)	1/3 (33,3%)	1/11 (9%)
<i>Ex vivo</i>	2,2 ± 2,7	5/15 (33,3%)	5/5 (100%)	1/1 (100%)	0/1 (0%)	1/7 (14,3%)

LS = linfonodo-sentinela

6 DISCUSSÃO

Os marcadores de linfonodos são substâncias que possuem tropismo pelas vias linfáticas quando injetados na região peritumoral no intraoperatório (*in vivo*) ou imediatamente após a remoção do tumor da cavidade abdominal (*ex vivo*). Essas substâncias progridem pelos vasos linfáticos e são apreendidos pelos macrófagos no interior dos linfonodos, onde permanecem por período que varia de minutos (corantes) a horas (radiofármacos) e assim possibilitam a identificação dos primeiros nodos marcados, denominados linfonodos-sentinela. A identificação é visual com os corantes, sendo a cor azul a opção na quase totalidade dos casos e, entre eles, os mais utilizados são linfazurim, azul patente, azul de metileno ou azul de Evans. Quanto aos fármacos radioativos, são empregados enxofre, albumina sérica e fitato marcados com tecnécio (SPRUNG; TULLY; ZISER, 2003).

Neste estudo foi utilizado o corante azul patente para identificação de linfonodo-sentinela em adenocarcinoma de cólon, sem complicações. Entre os marcadores de linfonodos, o corante tem sido utilizado pela maioria dos autores, pois o radiofármaco, apesar de mostrar superioridade em alguns casos, depende de logística complexa e adiciona custo de 600 dólares a cada linfocintilografia (FREITAS *et al.*, 2008). Na Europa, usam-se mais comumente o corante azul patente e os fármacos enxofre ou albumina marcados. Nos Estados Unidos, há preferência pelo linfazurim e pelo enxofre radioativo (NASTRO *et al.*, 2002; SAHA *et al.*, 2004b). Autores que defendem a utilização de corantes descrevem suas principais vantagens, que são execução simples e baixo custo. As prováveis causas de piores resultados são: falhas na injeção; estadio avançado da lesão; tipo histológico mucinoso; localização no reto; radioterapia prévia (BELL *et al.*, 2005; DEMIRBAS *et al.*, 2004; SMITH *et al.*, 2006; SOMMARIVA *et al.*, 2010).

Na presente pesquisa, foi encontrada média global de 13,7 linfonodos por paciente, sendo 13,2 no grupo cólon *in vivo* e de 14,3 no grupo cólon *ex vivo*. Esse número está dentro do parâmetro recomendado, que é o exame de no mínimo 10 linfonodos para estadiamento confiável (BENSON *et al.*, 2004; ROSSI *et al.*, 2006). Na análise de cada grupo observa-se que no grupo *in vivo*, entre os 18 pacientes estudados, em quatro não foi possível exame histopatológico de pelo menos 10 linfonodos. Já no grupo *ex vivo*, entre os 15 pacientes estudados, em dois examinaram-se menos de 10 linfonodos.

A quantidade de linfonodos examinados é de grande importância para o estadiamento e influencia diretamente o tratamento e a sobrevida em cinco anos

dos pacientes operados de adenocarcinoma de cólon, ou seja: 73% quando menos de 10 linfonodos examinados; 80% quando 11-20 linfonodos examinados; e 87% quando mais de 20 linfonodos analisados (WONG *et al.*, 2004). O *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) recomenda que pelo menos 7-14 linfonodos sejam examinados (GREENE *et al.*, 2002). Braat *et al.* (2005) analisaram 30 trabalhos sobre pesquisa de linfonodo-sentinela em tumores de cólon e reto, totalizando 803 casos no período de 1999 a 2002. Salientaram que quanto mais linfonodos dissecados e examinados, mais confiável é o estadiamento e, conseqüentemente, maior a sobrevida dos pacientes.

A localização do tumor é outro fator importante na pesquisa de linfonodo-sentinela. Neste trabalho, foram incluídos somente pacientes com tumores de cólon, pois o tempo de metabolização do corante é de apenas alguns minutos, insuficiente para que haja visualização dos linfonodos-sentinela azuis na gordura do mesorreto, que está disposta de forma concêntrica na estreita pelve, com a peça cirúrgica ainda dentro da cavidade abdominal (PARAMO *et al.*, 2002). Mesmo no cólon, pode haver diferenças, pois Zuber *et al.* (2003) observaram que nos tumores do cólon sigmóide a identificação do linfonodo-sentinela foi melhor que nos cólons direito e esquerdo, creditando esse fato a menor necessidade de mobilização do intestino durante a operação do sigmóide, o que poderia interferir na drenagem linfática e, assim, dificultar a identificação dos linfonodos.

Estudo clínico fase 2 desenvolvido nos Estados Unidos utilizou o corante *ex vivo* em 58 pacientes com tumores de reto, sendo que 88% deles receberam radio e quimioterapia neoadjuvantes. Identificaram linfonodo-sentinela em 85% dos casos, mas com 47% de falso-negativo. Nesses casos não houve benefício no estadiamento com multisseção e imunoistoquímica (FINAN *et al.*, 2010). Salienta-se, ainda, que os pacientes com tumores de reto geralmente recebem quimioterapia + radioterapia pré-operatórias, o que contribui para piorar os índices de sensibilidade e falso-negativo desse método. Há consenso de que a pesquisa de linfonodo-sentinela no reto é mais difícil, tanto para o pesquisador como para o patologista (FINAN *et al.*, 2010; SOMMARIVA *et al.*, 2010; ZAAG *et al.*, 2009).

Nesta pesquisa, foram comparados os métodos *in vivo* e *ex vivo* na identificação de linfonodo-sentinela. Inicialmente, optou-se pela técnica *in vivo*, pois a literatura apresentava numerosos trabalhos mostrando fácil aprendizado, enquanto a técnica *ex vivo* ainda era incipiente. Posteriormente, foi constituído

outro grupo de pacientes e empregada a técnica *ex vivo*. O índice de sucesso foi de 72,2% quando adotado o método *in vivo* e de 33,3% com o método *ex vivo*. Em revisões de trabalhos relevantes em que foram consideradas diferentes técnicas, a identificação de linfonodo-sentinela variou de 71 a 100% (DE HAAS *et al.*, 2007; DESS GUETZ *et al.*, 2007).

A maior parte dos trabalhos publicados utiliza injeção subserosa dos marcadores de linfonodos (corantes e/ou fármacos radioativos) no intraoperatório (DOEKHIE *et al.*, 2005). Em alguns estudos, o procedimento foi realizado depois de removida a peça cirúrgica do abdome, com o argumento de evitar efeitos indesejados dessas substâncias ao indivíduo. A crítica principal ao método *ex vivo* é que o exame na peça cirúrgica pode não reproduzir o comportamento fisiológico da progressão do corante no ser vivo (BELL *et al.*, 2005; DEMIRBAS *et al.*, 2004; SMITH *et al.*, 2002; 2006).

Os pesquisadores que defendem a técnica *ex vivo* enumeram fatores favoráveis adicionais, tais como: não aumenta o tempo operatório; obedece ao princípio oncológico de manipulação mínima do tumor; não acrescenta risco de efeito adverso do marcador e ainda pode ser utilizado de forma complementar quando há falhas na técnica *in vivo*. Por outro lado, esses autores concordam que os resultados são piores com o método *ex vivo* por provável alteração na drenagem linfática fisiológica, com dificuldade de progressão do marcador após ligadura dos vasos e remoção da peça cirúrgica (BELL *et al.*, 2005; DEMIRBAS *et al.*, 2004; SMITH *et al.*, 2006; SOMMARIVA *et al.*, 2010).

Schaik *et al.* (2007) acompanharam 44 pacientes submetidos à injeção de corante *ex vivo*. Obtiveram êxito na identificação de linfonodo-sentinela em 96% nos tumores de cólon e 94% nos de reto. Park *et al.* (2009) compararam as técnicas de injeção *in vivo* com *ex vivo* em 69 pacientes distribuídos em dois grupos com características uniformes, alcançando bons resultados, com ligeira vantagem do procedimento realizado *ex vivo*. Enfatizaram a simplicidade do procedimento com possível aplicabilidade na rotina, exceto pacientes com tumores de reto médio e inferior. Sommariva *et al.* (2010) avaliaram, por meio de análise multivariada, os fatores que poderiam acarretar piores resultados na pesquisa de linfonodo-sentinela *ex vivo*. Verificaram que a localização tumoral no reto e o tipo histológico mucinoso são variáveis independentes e aumentam os índices de falso-negativos. Ceranic *et al.* (2010) identificaram linfonodo-sentinela

ex vivo em 91% dos 45 pacientes e encontraram 33% desses linfonodos sem células neoplásicas à histologia. Märkl *et al.* (2010) realizaram pesquisa similar acrescentando-se também injeção intra-arterial do corante, com resultados satisfatórios. Tuech *et al.* (2006), em pesquisa *in vivo*, repetiram a injeção do corante *ex vivo* para comparação de resultados. As técnicas apresentaram resultados semelhantes.

Neste estudo, uma das possibilidades esperadas seria mais concentração de metástases no linfonodo-sentinela, mas a incidência foi proporcionalmente a mesma nos sentinelas e não sentinelas. Entre os grupos de pacientes, considerando o diagnóstico de metástases nos linfonodos pelo exame histopatológico de rotina, o índice de falso-negativo foi de 33,3% no grupo *in vivo* e no grupo *ex vivo* foi zero. A sensibilidade foi 66,7% no grupo *in vivo* e 100% no grupo *ex vivo*. Nos trabalhos de revisão, a taxa global média de falso-negativo é de 33%, variando de zero a 63%, enquanto a sensibilidade é de 40 a 100% (DESS GUETZ *et al.*, 2007; DOEKHIE *et al.*, 2005; JOOSTEN *et al.*, 1999; KITAGAWA *et al.*, 2002; TIFFET *et al.*, 2007; TUECH *et al.*, 2004).

Nos tumores de mama e melanomas, em que esse método é usado rotineiramente, a sensibilidade média é de 80% e o falso-negativo de 8%. No cólon é pouco provável que taxas como essas sejam alcançadas, pois os tumores são de maior tamanho e a identificação dos linfonodos à palpação é mais difícil. Diferentemente do que acontece com neoplasias de mama e melanoma, cuja eficácia é mantida mesmo quando diminuída a radicalidade cirúrgica, no caso específico da pesquisa de linfonodo-sentinela para tumores de cólon, o alto índice de falso-negativo não interfere no resultado, visto que a linfadenectomia radical é mantida, independentemente da presença ou ausência de metástases nos linfonodos regionais.

Sabe-se que quanto mais avançado for o tumor, mais alto deverá ser o índice de falso-negativo e menor a sensibilidade. Portanto, outra possível justificativa para tais resultados é que aproximadamente 45% dos pacientes dos dois grupos encontravam-se no estágio III (linfonodos com metástases) depois da histopatologia de rotina com hematoxilina-eosina.

Neste estudo, em um paciente de cada grupo (9% *in vivo* e 14,3% *ex vivo*) foi encontrada micrometástase no linfonodo-sentinela depois da realização de técnicas de multisseção e imunoistoquímica. Outros autores mostraram

reestadiamento com variação de 4 a 50% (CODIGNOLA *et al.*, 2005; DOEKHIE *et al.*, 2005; TUECH *et al.*, 2004).

A avaliação correta de metástase linfonodal é importante, porque, quando presentes, esses pacientes devem ser submetidos à quimioterapia, com comprovada diminuição da recorrência e aumento da sobrevida (GORDON *et al.*, 1999; WOLMARK *et al.*, 1996). Wainstein, Barroso e Belfort (2004) sugerem que, em vez de elevado número de linfonodos examinados com poucos cortes à microscopia, poderia ser realizado exame pormenorizado dos linfonodos mais prováveis de conter metástases. O empenho do patologista em examinar maior número possível de linfonodos, incluindo técnicas de multisseções e imunohistoquímica, aumentaria a sensibilidade do exame anatomopatológico e promoveria estadiamento mais adequado do paciente. Acredita-se que menos de 0,5% do tecido removido seja alvo do exame histopatológico de rotina, daí a necessidade de serem repensados os cuidados e as técnicas de exames anatomopatológicos nas neoplasias malignas de cólon (PARAF; SABOURIN; TSCHMELITSCH, 2000).

Micrometástases são definidas como depósitos isolados ou grupos de células tumorais contidas nos linfonodos (HUVUS; HUTTER; BERG, 1971). Segundo Cohen *et al.* (1998), o diagnóstico de micrometástases poderia significar real benefício da pesquisa de linfonodo-sentinela, pois a doença é diagnosticada quando as chances de proporcionar a cura com quimioterapia adjuvante seriam maiores. Na busca do diagnóstico de micrometástases, Bembenek *et al.* (2005) adicionaram exame histológico pormenorizado em todos os linfonodos, tanto sentinela quanto não sentinela. Mas, por ser trabalhoso e de alto custo, tornou-se inviável para ser utilizado em todos os casos.

Quando diagnosticadas micrometástases, Bilchik *et al.* (2002), Bertoglio *et al.* (2004) e Saha *et al.* (2006) consideram necessária quimioterapia adjuvante. Tuech *et al.* (2004) estudaram 14 trabalhos sobre o papel das micrometástases no prognóstico dos pacientes com adenocarcinoma de cólon, sendo que em cinco deles a conclusão foi de que houve benefício com a quimioterapia e em oito não se obteve vantagem. Diante disso, são necessários mais trabalhos para avaliar a importância das micrometástases na sobrevida dos pacientes, assim como o benefício da quimioterapia adjuvante.

Estudo sobre o impacto nos custos em saúde na Holanda obteve economia de um milhão de Euros no ano de 2007, com a realização de exame histopatológico pormenorizado nos linfonodos-sentinela, portanto, resultando em estadiamento mais confiável no câncer colorretal. Esse fato ocorreu porque 92 pacientes com classificação em estadio II deixaram de receber quimioterapia (VAN STEENBERGEN *et al.*, 2009).

Fatores dificultadores na pesquisa de linfonodo-sentinela foram listados por vários autores como responsáveis por falhas na pesquisa de linfonodo-sentinela: experiência da equipe; reduzido número de pacientes avaliados; erros na técnica de injeção; volume insuficiente de corante nos grandes tumores; obstrução linfática por células tumorais impedindo a progressão dos marcadores (*skip metastasis*); diferentes técnicas de identificação e de exame histopatológico dos linfonodos (BERTAGNOLLI *et al.*, 2004; BRAAT *et al.* 2005; PARAMO *et al.*, 2002; POCARD *et al.*, 2006; READ; FLESHMAN; REDSTON *et al.*, 2006; STICCA, 2006). Além disso, foram relacionados possíveis efeitos colaterais depois da utilização do corante, tais como urticária, urina azul e interferência na leitura do oxímetro (DOEKHIE *et al.*, 2005). Neste estudo, dois pacientes do grupo *in vivo*, um apresentou urina azul e em outro observou-se interferência na leitura do oxímetro.

Acredita-se que os trabalhos futuros serão realizados com estratificação das amostras, iniciando pela seleção dos pacientes com câncer de cólon na sua fase inicial e separados em subgrupos de acordo com a localização topográfica dos tumores. Outra medida seria o aumento do volume do corante azul patente injetado peritumoral de acordo com o tamanho do tumor, que poderia contribuir para melhorar os índices de sucesso na identificação de linfonodos-sentinela. Além disso, é necessária a padronização dos critérios de diagnóstico de metástases pelo exame histopatológico de rotina, uma vez que é inviável a realização de multisseção e imunoistoquímica em todos os linfonodos dissecados. Para a realização desses exames são preparadas e examinadas dezenas ou até centenas de lâminas de cada paciente, o que demandaria tempo excessivo e custo elevado. É necessário, também, definir o papel das micrometástases linfonodais na evolução dos pacientes com adenocarcinoma de cólon.

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados da pesquisa sobre linfonodo-sentinela em pacientes com adenocarcinoma de cólon, foram observados:

- A técnica de identificação de linfonodo-sentinela *in vivo* foi superior à *ex vivo*.
- A incidência de metástase pelo exame histopatológico de rotina foi proporcionalmente semelhante nos linfonodos-sentinela e não sentinela.
- As técnicas de multisseção e imunoistoquímica aprimoraram o estadiamento dos tumores em relação ao exame anatomopatológico de rotina.

REFERÊNCIAS

AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGY (ASA), 1963. Disponível em: <http://www.asahq.org/clinical/physicalstatus.htm>. Acesso em: maio de 2012.

BASÍLIO, P.; FONSECA, L.M.B. Detecção de linfonodo-sentinela no câncer colorretal. **Arq Gastroenterol**, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 163-167, 2006.

BELL, S.W.; MOURRA N.; FLEJOU J.F. Ex vivo sentinel lymph node mapping in colorectal cancer. **Dis Colon Rectum**, New York, v. 48, p. 74-79, 2005.

BEMBENEK, A.E.; SCHNEIDER U.; GRETSCHEL S.; FISCHER J.; SCHALAG P.M. Detection of lymph node micrometastases and isolated tumor cells in sentinel and nonsentinel lymph nodes of colon cancer patients. **World J Surg**, New York, v. 29, p. 1172-1175, 2005.

BENDAVID, Y.; LATULIPPE J.F.; YOUNAN R.J.; LECLERC Y.E.; DUBE S.; HEYEN F.; MORIN M.; GIRARD R.; BASTIEN E.; FERREIRA J.; CERINO M.; DUBE P. Phase I study on sentinel lymph node mapping in colon cancer: a preliminary report. **J Surg Oncol**, New York, v. 79: p. 81-84, 2002.

BENSON, A.B.; SCHRAG D.; SOMERFIELD M.R.; COHEN A.M.; FIGUEREDO A.T.; FLYNN P.J.; KRZYZANOWSKA M.K.; MAROUN J.; MCALLISTER P.; CUTSEM E.V.; BROUWERS M.; CHARRETTE M.; HALLER D. American society of clinical oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. **J Clin Oncol**, Toronto, p. 22, n. 16: p. 3408-3419, 2004.

BERTAGNOLLI, M.; MIEDEMA B.; REDSTON M.; DOWELL J.; NIEDZWIECKI D.; FLESHMAN J.; BEM J.; MAYER R.; ZINNER M.; COMPTON C. Sentinel node staging of resectable colon cancer. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 240, n. 4, p. 624-630, 2004.

BERTOGLIO, S.; SANDRUCCI S.; PERCIVALE P.; GOSS M.; GIPPONI M.; MORESCO L.; MUSSA B.; MUSSA A. Prognostic value of sentinel lymph node biopsy in the pathologic staging of colorectal cancer patients. **J Surg Oncol**, New York, v.85: p.166-170, 2004.

BILCHIK, A.J.; NORA D.; TOLLENAAR R.A.E.M.; VELDE V.; WOOD T.; TURNER R.; MORTAN D.L.; HOON D.S.B. Ultrastaging of early colon cancer using lymphatic mapping and molecular analysis. **Eur J Cancer**, Aviano, v. 38, n. 7, p. 977-985, 2002.

BILCHIK, A.J.; NORA, D.T.; WIESE D.; STONECYPHER J.A.; WOOD T.F.; SOSTRIN S.; TURNER R.R.; WANG H.; MORTON D.L.; HOON D.S.B. Molecular staging of early colon cancer on the basis of sentinel node analysis: a multicenter phase II trial. **J Clin Oncol**, Toronto, v. 19, n. 4, p. 1128-1136, 2001.

BRAAT, A.E.; OOTERHUIS W.A.; VRIES J.E.; TOLLENAAR R.A.E.M. Lymphatic staging in colorectal cancer: pathologic, molecular sentinel node techniques. **Dis Colon Rectum**, New York, v. 48, p. 371-383, 2005.

BRAAT, A.E.; OOTERHUIS W.A.; MOLL F.C.P.; VRIES J.E. Successful sentinel node identification in colon carcinoma using patent blue V. **Eur J Surg Oncol**, Copenhagen, v. 30, n. 6, p. 633-637, 2004.

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

CERANIC, M.S.; KECMANOVIC D.M.; PAVLOV M.J.; NALE D.P.; MICEU M.T.; KOVACEVIC P.A.; STAMENKOVIC A.B. Validation and feasibility of ex vivo sentinel lymph node "mapping" by methylene blue in colorectal cancer. **Hepatogastroenterology**, v. 57, n. 102-103, p. 1113-1118, Sep-Oct., 2010.

CODIGNOLA, C.; ZORZI F.; ZANIBONI A.; MUTTI S.; RIZZI A.; PADOLECCHIA E.; MORANDI G.B. Is there any role for sentinel node mapping in colorectal cancer staging? Personal experience and review of the literature. **Jpn J Clin Oncol**, Osaka, v. 35, n. 11, p. 645-650, 2005.

COHEN, A.M.; KELSEN D.; SALTZ L. Adjuvant therapy for colorectal cancer. **Curr Prob Cancer**, Philadelphia, v. 22, p. 5-65, 1998.

COHN, I.; LEON, W.; STRUG, L.H. Vital staining of the thoracic duct. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 148, p. 867-870, 1958.

DAHL, K.; WESTLIN J.; KRAAZ W.; WINQVIST O.; BERGKVIRST L.; THÖRN M. Identification of sentinel nodes in patients with colon cancer. **Eur J Soc Oncol**, Copenhagen, v. 31, p. 381-385, 2005.

DAMIN, D.C.; ROSITO, M. A.; GUS, P.; SPIRO, B. L.; AMARAL, B. B.; MEURER, L.; CARTEL, A.; SCHWARTSMANN, G. Sentinel lymph node procedure in patients with epidermoid carcinoma of the anal canal: early experience. **Dis Col Rectum**, New York, v. 46, n. 8, p. 1032-1037, 2003.

DE HAAS, R.J.; WICHERTS D.A.; HOBELINK M.G.; BOREL I.H.; SCHIPPER M.E.; VAN DER ZEE J.A.; VAN HILLEGERSBERG R. Sentinel lymph node mapping in colon cancer: current status. **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v. 14, p. 1070-1080, 2007.

DEMIRBAS, S.; INCE M.; BALOGLU H.; ÇELENK T. Should sentinel lymph node mapping be performed for colorectal cancer? **Turk J Gastroenterol**, Ankara, v. 5, n. 1, p. 39-44, 2004.

DESS GUETZ, G.; UZZAN B.; NICOLAS P.; CUCHERAT M.; DE MESTIER P.; MORERE J.F.; BREU J.L.; PERRET G. Is sentinel lymph node mapping in colorectal cancer a future prognostic factor ? A meta-analysis. **World J Surg**, New York, v. 31, p. 1304-1312, 2007.

DOEKHIE, F.S.; PEETERES K.C.M.J.; KUPPEN P.J.K.; MESKER W.E.; TANKE H.J.; MORREAU H.; VELDE V.; TOLLENAAR R.A.E.M. The feasibility and reliability of sentinel node mapping in colorectal cancer. **Eur J Soc Oncol**, Copenhagen, v. 31, p. 854-862, 2005.

EDGE, S.B.; BYRD, D.R.; COMPTON, C.C. AJCC cancer staging manual (7th ed). New York, NY: **Springer**; 2010.

ESSER, S.; REILLY T.; RILEY L.B.; EYVAZZADEH C.; ARCONA S. The role of sentinel lymph node mapping in staging of colon and rectal câncer. **Dis Colon Rectum**, New York, v. 44, p. 850-856, 2001.

FAZIO, V.W.; CONNOR J.; DELANEY C.P.; MUKERJEE A.; SENAGORE A.J.; MADBOULY K.M. Does immunostaining effectively upstage colorectal cancer by identifying micrometastatic nodal disease? **Int J Colorectal Dis**, Heidelberg, Original article, 2006.

FINAN, K.R.; LEWIS J.S.; WINSLOW E.; MUTCH M.G.; BIRNBAUM E.H.; FLESHMAN J.W. Ex vivo sentinel lymph node mapping in patients undergoing proctectomy for rectal cancer. **Dis Colon Rectum**, New York, v. 53, n. 3, p. 243-250, Mar. 2010.

FREITAS, A.H.A. NUNES T.A.; WAINSTEIN A.J.A. Pesquisa de linfonodo-sentinela em pacientes com adenocarcinoma de cólon. **Rev Bras Coloproct**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 2, p. 170-177, 2008.

FRITZGERALD, T.L.; KHALIFA M.A.; AL ZHRANI M.; LAW C.H.L.; SMITH A.J. Ex vivo sentinel lymph node biopsy in colorectal cancer: a feasibility study. New York. **J Surg Oncol**, n. 80, p. 27-32, 2002.

GORDON, P.H.; NIVATVONGS S. **Principles and practice of surgery for the colon, rectum, and anus**, 2th ed. St Louis, Missouri: Quality medical Publishing, Inc., 1999.

GREENE, F.L.; PAGE D.L.; FLEMING, I.D. **American Joint Commettee on Cancer: cancer staging handbook, TNM classification of malignant tumors**. New York: Springer-Verlag, 2002, p. 129.

HUVUS, A.G.; HUTTER, R.V.; BERG, J.W. Significance of axillary macrometastases and micrometástases in mammary cancer. **Ann Surg**, Philadelphia, v.173: p.44-46, 1971.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA), 2006. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>. Acesso em: abril de 2012.

JOOSTEN, J.J.A.; STOBBE L.J.A.; WAUTERS C.A.P.; PRUSZCZYNSKI M.; WOBBS T.; RUERS T.J.M. Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma. **Br J Surg**, London, v. 86, p. 482-486, 1999.

KITAGAWA, Y.; WATANABE M.; HASEGAWA H.; YAMAMOTO S.; FUJII H.; YAMAMOTO K.; MATSUDA J.; MUKAI M.; KUBO A.; KITAJIMA M. Sentinel node mapping for colorectal cancer with radioactive tracer. **Dis Colon Rectum**, New York, v. 45, p. 1476-1480, 2002.

LAFRENIÈRE, R. What's new in general surgery: surgical oncology. **J Am Coll Surg**, New York, v. 198, n. 6, p. 966-988, 2004.

MÄRKL, B. ARNHOLDT H.M.; JÄHNIG H.; SPATZ H.; ANTHUBER M.; ORUZIO D.V.; KERWEL T.G. A new concept for the role of ex vivo sentinel lymph nodes in node-negative colorectal cancer. New York, **Ann Surg Oncol**, v. 17, n. 10, p. 2647-2655, Oct. 2010. Epub 2010 Mar 24.

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

NASTRO, P.; SODO M.; DODARO C.A.; GARGIULO S.; ACAMPA W.; BRACALE U.; RENDA A. Intraoperative radiochromoguided mapping of sentinel lymph node in colon câncer. **Tumori**, Milão, v. 88, p. 352-353, 2002.

OTA, D.M. Is intraoperative lymph node mapping and sentinel lymph node biopsy for colorectal carcinoma necessary? **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v. 7, n. 2, p. 82-84, 2000.

PARAF, F.; SABOURIN, J.C.; TSCHMELITSCH, J. Optimal lymph node number and occult lymph node metastases in colorectal cancer: the pathologists view. **Gastroenterol Clin Biol**, Paris, v. 24, p. 423-459, 2000.

PARAMO, J.C.; SUMMERALL J.; POPPITI R.; MESKO T.W. Validation of sentinel node mapping in patients with colon cancer. **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v. 9, n. 6, p. 550-554, 2002.

PARK, J.S.; CHANG, I.T.; PARK S.J.; KIM, B.G.; CHOI Y.S.; CHA S.J.; PARK E.S.; KWON G.Y. Comparison of ex vivo and in vivo injection of blue dye in sentinel lymph node mapping for colorectal cancer. **World J Surg**, Toronto, v. 33, n. 3, p. 539-546, Mar. 2009.

POCARD, M.; DUCREUX M.; MALKA D.; ELIAS D.; DUVILLARD P.; BOIGE V.; SABOURIN J.C.; LASSER P.; BATON O. Ex vivo sentinel lymph node study for rectal adenocarcinoma: preliminary study. **World J Surg**, New York, v. 29, p. 1160-1170, 2005.

POCARD, M.; EYNDE V.; GOERE D.; BOIGE V.; MALKA D. Sentinel lymph node sampling and analysis in colon cancer: what is the question. **J Clin Oncol**, New York, v. 24, n. 22, p. 3712-3713, 2006.

READ, T.E.; FLESHMAN, J.W.; CAUSHAJ, P.F. Sentinel lymph node mapping for adenocarcinoma of the colon does not improve staging accuracy. **Dis Colon Rectum**, New York, v. 48, p. 80-85, 2005.

REDSTON, M.; CAROLYN C.C.; BRENT W.M.; DONNA N.; DOWELL J.M.; JEWELL S.D.; FLESHMAN J.M.; BEM J.; MAYER R.J.; BERTAGNOLLI M.M. Analysis of micrometastatic disease on sentinel lymph nodes from respectable colon cancer: results of Cancer and Leukemia Group B trial 80.001. **J Clin Oncol**, Toronto, v. 24, p. 878-883, 2006.

ROSSI, B.M.; LOPES A.; NAKAGAWA W.T.; AGUIAR S.; SANTOS E.M.M.; FERREIRA F.O.; BEPU P. Number of dissected lymph nodes in colorectal cancer patients submitted to radical surgery: the quality of oncology treatment. **Applied Cancer Research**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 27-33, 2006.

SAHA, S.; SEGHAL R.; PATEL M.; DOAN K.; DAN A.; BILCHICK A.; BEUTLER T.; WIESE D.; BASSILY N.; YEE C. A multicenter trial of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer: prognostic implications for nodal staging and recurrence. **Am J Surg**, Bethesda, 191:305-310, 2006.

SAHA, S.; DAN A.G.; BEUTLER T.; WIESE D.; SCHOCHET E.; BADIN J.; BRANIGAN T.; NG P.; BASSILY N.; DAVID D. Sentinel lymph node mapping technique in colon cancer. **Semin Oncol**, Philadelphia, v.31, n.3: p.374-381, 2004a.

SAHA S.; DAN A.G.; BERMAN B.; WIESE D.; SCHOCHET E.; BARBAR K.; CHOUDHRI S.; KAUSHAL S.; GANATRA B.; DESAI D.; NAGARAJU M.; MANNAM S. Lymphazurin 1% versus (99m) tc sulfur colloid for lymphatic mapping in colorectal tumors: a comparative analysis. **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v.11: p.21-26, 2004b.

SAHA, S.; WIESE D.; BADIN J.; BEUTLER T.; NORA D.; GANATRA B.K.; DESAI D.; KAUSHAL S.; NAGARAJU M.; ARORA M.; SINGH T. Technical details of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer and its impact on staging. **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v.7, n.2: p.120-124, 2000.

SCHAIK, J.C.; LINDEN, V.D.; ERNST, M.F.; GELDERMAN, W. A. H.BOSSCHA K. Ex vivo sentinel lymph node "mapping" in colorectal cancer. **EJSO**, Copenhage, v. 33, p. 1177-1182, 2007.

SILVA, L.B.; SILVA-FILHO, A.L.; TRAIMAN, P. Sentinel node detection in cervical cancer with (99m)Tc-phytate. **Gynecol Oncol**, New York, v. 97, p. 588-595, 2005.

SMITH, A.J.; FITZGERALD, T.L.; KHALIFA, M.A.; AL ZHRANI, M.; LAW, C.H. Ex vivo sentinel lymph node biopsy in colorectal cancer: a feasibility study. **J Surg Oncol**, New York, v. 80, p. 27-32, 2002.

SMITH, J.; HWANG H.; WISEMAN K.W.; FILIPENKO D.; PHANG, P.T. Ex vivo sentinel lymph node mapping in colon cancer: improving the accuracy of pathologic staging? **Am J Surg**, Bethesda, v. 191, p. 665-668, 2006.

SOMMARIVA, A. DONISI P.M.; GNOCATO B.; VIANELLO R.; PANSA V.S.; ZANINOTTO G. Factors affecting false-negative rates on ex vivo sentinel lymph node mapping in colorectal cancer. **Eur J Surg Oncol (EJSO)**, Copenhagen, v. 36, n. 2, p. 130, 2010.

SPRUNG, J.; TULLY, M.J.; ZISER, A. Anaphilatic reactions to isosulfan blue dye during sentinel node lymphadenectomy for breast cancer. **Anesth Analg**, Cleveland, v. 96, p. 1051-1053, 2003.

STICCA, R.P. Is there clinical value to sentinel lymph node sampling in colon cancer? **J Clin Oncol**, Toronto, v. 6, p. 841-842, 2006.

TIFFET, O.; KACZMAREK D.; CHAMBONNIERE M.L.; GUILLAN T.; BACCOT S.; PREVOL N.; BAGEACU S.; BOURGEOIS E.; CASSAGNAU E.; LEHUR P.A.; DUBOIS F. Combining radioisotopic and blue-dye technique does not improve the false-negative rate in sentinel lymph node mapping for colorectal cancer. **Dis Col Rectum**, New York, v. 50, p. 962-970, 2007.

TUECH, J.J.; PESSAUX P.; DI FIORE F.; NITU V.; LEFEBURE B.; COLSON A.; MICHOT F. Sentinel lymph node mapping in colon cancer. **Surg Endosc**, Copenhagen, v. 18, p. 1721-1729, 2004.

TUECH, J.J.; PESSAUX P.; REGENET N.; BERGAMASCHI R.; COLSON A. Sentinel node mapping in colon carcinoma: in-vivo versus ex-vivo approach. **Eur J Soc Oncol**, Copenhagen, v. 32, p. 158-161, 2006.

VAN DER ZAAG, E.S.; BUSKENS C.J.; KOOIJ N.; AKOL H.; PETERS H.M.; BOUMA W.H.; BEMELMAN W.A. Diagnosing occult tumour cells and their predictive value in sentinel nodes of histologically negative patients with colorectal cancer. **Eur J Surg Oncol**, Copenhagen, v. 36, n. 4, p. 350-357, Apr. 2010. Epub 2010 Feb 16.

VAN STEENBERGEN, L.N. *et al.* Improving lymph node detection in colon cancer in community hospitals and their pathology department in southern Netherlands. **Eur J Surg Oncol**, Copenhagen, v. 36, n. 2, p. 135-140, Feb. 2009. Epub 2010 Jul 2.

WAINSTEIN, A.J.A.; BARROSO, A.A.; BELFORT, A.F. Significado do linfonodo-sentinela no câncer do aparelho digestivo. **Tópicos em Gastroenterologia 14**. Rio de Janeiro: Medsi, 2004.

WATERS, G.S.; GEISINGER K.R.; GARSKE D.D.; LOGGIE B.W.; LEVINE E.A. Sentinel lymph node mapping for carcinoma of the colon: pilot study. **Am Surg**, Atlanta, v. 66, n. 10, p. 943-946, 2000.

WEINBERG, J.; GREANEY, E.M.; RAWLINGS, B. The use and toxicity of pontamine sky blue. **Science**, Washington, v. 114, p. 41-42, 1951.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2008. Disponível em: <http://www.who.int/cancer>. Acesso em: maio de 2012.

WOLMARK, N.; ROCKETTE, H.; MANOUNAS, E.P. The relative efficacy of 5-FU + leucovorin (FU-LV), 5-FU + levamisole (FU-Lev) and 5-FU + leucovorin + levamisole (FU-LV-Lev) in patients with Dukes B and C carcinoma of the colon: first report of NSABP C-04 [abstract 460]. **Proc Am Soc Clin Oncol**, New York, v. 15, p. 205, 1996.

WONG, J.H.; STEINEMAN S.; CALDERIA C.; BOWLES j.; NAMIKI T. Ex vivo sentinel node mapping in carcinoma of the colon and rectum. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 233, n. 4, p. 515-521, 2001.

WONG, J.H.; JOHNSON, D.S.; NAMIKI, T.; TAUCHI-NISHI, P. Validation of ex vivo lymphatic mapping in hematoxylin-eosin node-negative carcinoma of the colon and rectum. **Ann Surg Oncol**, New York, v. 11, p. 772-777, 2004.

YAGCY, G.; UNLU A.; KURT B.; CAN M.F.; KAYMAKCIOGLU N.; CETINER S.; TUFAN T.; SEN D. Detection of micrometástases and skip metastases with ex vivo sentinel node mapping in carcinoma of the colon and rectum. **Int J Colorectal Dis**, Heidelberg, v. 384, p.132-137, 2006.

ZAAG, E.S.; BUSKENS, C.J.; NOOIJ, N. AKOL, H.; PETERS, H.M.; BOUMA, W.H.; BEMELMAN, W.A. Improving staging accuracy in colon and rectal cancer by sentinel lymph node mapping: a comparative study. **EJSO**, Copenhage, v. 35, p. 1065-1070, 2009.

ZUBER M.; HARDER F.; SPICHTIN H.P.; TERRACCIANO L.; STAMMBERGER U.; EISNER L.; GULLER U.; MARTI W.R.; HAMEL C.H.; VIEHL C.T. Identification of sentinel nodes in colon cancer depends on the amount of dye injected relative to tumor size. **World J Surg**, Toronto, v.27: p.1285-1290, 2003.

ANEXOS E APÊNDICES

ANEXO A – Pareceres éticos**Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da
Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG)****Parecer nº 290**

Interessados: Antônio Hilário Alves Freitas

Hospital: Hospital Alberto Cavalcanti

DECISÃO:

O Comitê de Ética em Pesquisa da FHEMIG (CEP-FHEMIG) aprovou no dia 04 de abril de 2005 o projeto de pesquisa intitulado « **Pesquisa de linfonodo sentinela e estudo anátomo-patológico comparativo em pacientes com adnocarcinoma do cólon** ». O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao CEP-FHEMIG um ano após o início do projeto.


Dr. Robespierre Queiroz da Costa Ribeiro
Presidente do CEP-FHEMIG

PARECER N°87/08

Registro CEP/FHEMIG: 87/08 (este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto).

CAAE: 0282.0.203.287-08

Data: 06/10/08

Hospital Alberto Cavalcanti.

Pesquisadores Responsáveis: Tarcizo Afonso Nunes, Antônio Hilário Alves Freitas.

DECISÃO:

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/FHEMIG), **aprovou** no dia 04 de Setembro de 2008 o projeto de pesquisa intitulado, « “Pesquisa de Linfonodo-Sentinela Ex Vivo em Adenocarcinoma Colorretal” ».

Comunicamos a devolução do Protocolo de pesquisa pela CONEP em 24/09/2008 – registro de expediente – 25000.156619/2008-64, recebido no CEP em 01 de Outubro de 2008.

Esclarecemos que houve uma incorreção no registro do documento Folha de Rosto. Não se trata de projeto da área temática especial (‘NOVOS PROCEDIMENTOS’ – GRUPO I), mas sim, do GRUPO II.3 (‘NOVOS FÁRMACOS, VACINAS E **TESTES DIAGNÓSTICOS**’). Este Comitê excluiu da Folha de Rosto a área temática especial “NOVOS PROCEDIMENTOS”.

Esclarecemos ainda que, a alteração não acarretará em nenhum prejuízo para a realização da pesquisa.

Relatórios parciais e finais devem ser encaminhados ao CEP/FHEMIG com um intervalo mínimo de seis meses (entre os relatórios), a partir da data de início do estudo.


P/ **Inês Ferreira e Mello Teixeira Dias**
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

Setembro → 0028695 - 2270 | 2008 - 7

**Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital (COEP) da
Polícia Militar do Estado de Minas Gerais (HPM/MG)**

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DO HOSPITAL DA
POLÍCIA MILITAR DE MINAS GERAIS (COEP-HPM/MG)**

PARECER CONSUBSTANCIADO SOBRE PROJETO DE PESQUISA

Belo Horizonte, 28 de outubro de 2010.

PARECER Nº 19.

Pesquisadores: TEN Antônio Hilário (HPM), Tarcizo Afonso Nunes (UFMG) e Alberto Julius A. Wainstain (UFMG).

Título do Projeto: “Pesquisa de linfonodo-sentinela *ex vivo* em adenocarcinoma colorretal”

Data de recebimento do Projeto pelo relator: 01 de outubro de 2010.

Apresentação do Projeto de Pesquisa

Trata-se de estudo prospectivo, descritivo e analítico, envolvendo peças cirúrgicas de pacientes com adenocarcinoma de cólon e reto, sem evidência de doença avançada localmente ou à distância.

Quanto ao título: O título está adequado e bastante objetivo.

Quanto à introdução: O embasamento científico é satisfatório, embora não haja descrição detalhada do fundamento teórico da pesquisa do linfonodo-sentinela.

Quanto aos objetivos:

O pesquisador pretende avaliar a viabilidade e o índice de sucesso na identificação *ex vivo* de linfonodo-sentinela nos pacientes com adenocarcinoma colorretal, utilizando corante azul patente como marcador de linfonodos. Não haverá grupos comparativos.

Além disso, pretende verificar a presença de metástase pela histologia de rotina nos linfonodos-sentinela e não-sentinela; e também aplicar técnicas de multisseção de

linfonodos e imunoistoquímica no linfonodo-sentinela, para melhorar o estadiamento tumoral.

Quanto à justificativa:

O pesquisador consegue justificar de maneira satisfatória a relevância do estudo, já que:

- O estudo dos linfonodos da peça cirúrgica de pacientes com câncer colorretal é fundamental, pois, caso haja metástase linfática, a complementação com quimioterapia adjuvante aumenta a sobrevida global e livre de doença.
- Além disso, 25% dos pacientes com adenocarcinoma colorretal considerados como estadio inicial e sem linfonodos comprometidos à histologia de rotina (portanto, sem indicação de quimioterapia adjuvante), evoluem para óbito em até 5 anos por recidiva local ou metástase à distância. Tal fato impõe a necessidade de identificar e examinar os linfonodos de forma mais aprimorada, evitando-se o subestadiamento.
- A técnica de pesquisa do linfonodo-sentinela é baseada na avaliação da *ordem de progressão das células tumorais pelo sistema linfático*, com identificação do linfonodo-sentinela, que é considerado o primeiro a receber drenagem linfática do tumor e, desta forma, o mais provável de conter metástases. O método de exame habitual do linfonodo-sentinela utiliza técnicas de multiseção e imunoistoquímica, que seriam inviáveis e de alto custo para serem realizadas em todos os linfonodos dissecados. Neste sentido, a pesquisa do linfonodo-sentinela tem como objetivo facilitar e aumentar as chances de identificação destes linfonodos metastáticos pelo patologista.

Quanto à hipótese: É apresentada a hipótese de que a utilização do corante azul patente, injetado nas peças cirúrgicas (*ex vivo*), permitirá a localização dos linfonodos-sentinela, aumentando as chances de identificação de metástases e micrometástases linfonodais.

Quanto à metodologia:

- O local de pesquisa e a origem da amostra foram especificados (ambulatório de coloproctologia e bloco cirúrgico do HPM).

- Os critérios de inclusão e seleção dos indivíduos candidatos ao estudo foram bem definidos, assim como os critérios de exclusão.
- O plano de coleta de dados foi esclarecido. De acordo com a descrição, os indivíduos serão avaliados para inclusão no estudo pelos oficiais proctologistas do HPM.
- O tamanho da amostra foi especificado como sendo de 60 pacientes, com previsão de término da coleta em 2012.
- A análise estatística dos dados foi bem especificada no projeto.

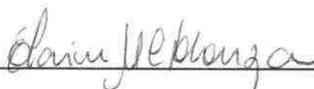
Análise do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE):

- O termo está de acordo com os princípios da resolução 196/96 e princípios bioéticos.
- Os meios de contato com o pesquisador responsável e com o COEP foram especificados.

Resultado da Análise:

- Não há evidência de conflitos de interesse
- O projeto descreve estudo com potencial relevância clínica

Parecer Final: Aprovado



Elaine M do C Zanolla Dias de Souza, Maj PM QOS
Coordenadora COEP-HPM/MG

**Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)**

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP

Parecer nº. ETIC 0168/06

**Interessado: Prof. Tarcizo Afonso Nunes
Departamento de Cirurgia
Faculdade de Medicina-UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou, *ad referendum*, no dia 11 de setembro de 2006, depois de atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Pesquisa de linfonodo sentinela e estudo anátomo-patológico comparativo em pacientes com adenocarcinoma de cólon"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


**Prof. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Presidente do COEP/UFMG**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 282/08

Interessado(a): Prof. Tarcizo Afonso Nunes
Departamento de Cirurgia
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 19 de novembro de 2008, o projeto de pesquisa intitulado "**Pesquisa de linfonodo-sentinela ex vivo em adenocarcinoma colorretal**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG



670-amaral

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR COMO PACIENTE EM PESQUISA

Título: Pesquisa de linfonodo-sentinela em pacientes com adenocarcinoma de cólon

Investigador principal: Dr. Antônio Hilário Alves Freitas
Rua Paracatu 838 – Sala 206, Belo Horizonte, MG
Tel.: (31) 3337 9988 9956 1363

Comitê de Ética: COEP – UFMG
Av. Antônio Carlos 6.627 – Unidade Administrativa II
Campus Pampulha - Belo Horizonte, MG
Tel.: (31) 3499 4592

Ao assinar este documento você concorda em participar como paciente no estudo citado acima. Todos os seus exames bem como seus prontuários serão mantidos confidenciais e você não será identificado de maneira escrita ou verbal em nenhum trabalho, documento ou fotografia. Salvo quando haja regulamentação de órgão governamental ou empresas envolvidas como patrocinadoras dos custos. Estes terão acesso aos dados clínicos, mas também se comprometem a manter a confiabilidade.

Você concorda que qualquer dano físico ou psicológico causado pelo tratamento em questão receberá atendimento clínico no hospital em que você foi operado. Em nenhuma hipótese será oferecida compensação financeira.

Você está ciente de que este é um estudo em que não se pode prever sucesso ou benefícios diretos para os pacientes envolvidos.

Você concorda que leu todo este formulário e ouviu todas as explicações sobre o estudo. Caso você não saiba ler, todas as informações foram lidas e explicadas oralmente para você. Você recebeu uma cópia deste formulário independentemente do consentimento para participar deste estudo.

Você concorda que fez todas as perguntas que julgou necessário para esclarecer suas dúvidas e recebeu respostas para todas, não existindo questões pendentes.

Proposta do estudo

Você foi informado de que tem uma neoplasia de intestino grosso.

A principal via de disseminação da neoplasia intestinal é a linfática, assim, é necessário um estadiamento preciso e confiável dos linfonodos nos pacientes operados. A detecção dos linfonodos com metástase pode favorecer o tratamento adjuvante, visando ao aumento da sobrevivência dos pacientes com adenocarcinoma de cólon.

Dados de literatura indicam que entre 20 e 25% dos pacientes operados por esse motivo são classificados como não portadores de metástases nos linfonodos, mas com exame mais pormenorizado sofrem modificação para o

estadio com metástase. Diante desse quadro, o projeto propõe um estudo com o objetivo de avaliar a viabilidade da identificação de linfonodos-sentinela no adenocarcinoma colorretal com a utilização de corante, possibilitando exame anatomopatológico de rotina e com multisseção e imunoistoquímica.

Descrição dos procedimentos

As cirurgias contarão com a participação do investigador desse projeto. Não haverá mudança nos tempos da cirurgia. O procedimento cirúrgico é o seguinte:

- Laparotomia mediana e inventário da cavidade abdominal;
- Mobilização do colon, injeção do corante azul (azul patente), na subserosa *in vivo* ou na submucosa *ex vivo*, do intestino.
- Após 5-10 min da injeção do azul, detecta-se o corante nos linfonodos sob visão direta.
- Prossegue-se a cirurgia de colectomia com linfadenectomia e retira-se a peça cirúrgica.
- Laparorrafia.
- A seguir, os nódulos são removidos e processados para as análises de anatomia patológica.
- O estudo anatomopatológico será feito em laboratório de acordo com os três métodos: rotina, multisseção e imunoistoquímica.

Riscos

A injeção do corante azul *in vivo* pode causar alterações na leitura do oxímetro de pulso durante a cirurgia. O anestesista deve estar informado. Poderá haver alterações na coloração da urina durante algumas horas. Reações alérgicas são raras.

Custos potenciais para você

Trata-se de um estudo investigacional, sem qualquer custo ao paciente participante, com todas as despesas cobertas pelas instituições e profissionais envolvidos.

Benefícios

Até o presente momento, não é possível prever se você vai ou não se beneficiar de sua participação neste estudo. E mesmo que haja, é desconhecida qual a magnitude desses benefícios. Se durante este estudo novas modalidades de tratamento mostrarem-se melhor para o seu caso, este tratamento será interrompido e essas outras opções serão discutidas com você.

Consentimento adicional para coleta e estudo de tecidos

Em adição, os investigadores podem também estudar exemplos do seu tumor em pesquisas adicionais. Você concorda em não receber dinheiro ou qualquer compensação financeira pelo uso e estudo desses materiais biológicos.

Desistência

Você não é obrigado a participar deste estudo. Se você decidir por não participar, a condução atual e futura de seu caso não será prejudicada de maneira alguma. Você não será punido nem perderá benefícios por não participar deste estudo.

Caso você decida participar deste estudo, você poderá a qualquer momento desistir e cancelar seu termo de consentimento informado. Essa decisão não afetará você, seus registros médicos ou sua relação com os médicos ou instituições envolvidos.

Declaração de participação

Você atesta ter lido todo o texto acima, em todas as três páginas e recebeu respostas para todas as suas dúvidas e você de livre e espontânea vontade concorda em participar neste estudo. Assinando este termo, você receberá uma cópia.

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador

Data

Testemunha 1

Data

Testemunha 2

Data

APÊNDICE B - Tabelas de resultados

TABELA 6 - Resultado geral do estudo *in vivo*

Paciente	Tamanho do tumor (cm)	Local do tumor	LNS azul	Total LN	Metas em _NS (H-E)	Metas em LNNS (H-E)	Estadio TNM	MS	IQ
1-	6,5	direito	01	12	00/01	00/11	II	Negativa	Negativa
2-	5	sigmoide	00	14	00/00	01/14	III	NR	NR
3-	5,5	direito	01	12	00/01	00/11	II	Negativa	Negativa
4-	7	direito	00	14	00/00	02/14	III	NR	NR
5-	4	direito	03	09	03/03	00/06	III	NR	NR
6-	5	esquerdo	04	12	00/04	00/08	II	POSITIVA	POSITIVA
7-	3,5	sigmoide	00	12	00/00	08/12	III	NR	NR
8-	3,5	esquerdo	01	06	00/01	00/05	II	Negativa	Negativa
9-	4	sigmoide	04	14	00/04	01/10	III	NR	NR
10-	4	esquerdo	03	13	00/03	00/10	II	Negativa	Negativa
11-	4	sigmoide	02	15	00/02	00/13	II	Negativa	Negativa
12-	6	direito	02	15	01/02	05/13	III	NR	NR
13-	2	direito	04	24	00/04	00/20	I	Negativa	Negativa
14-	2	esquerdo	00	07	00/00	00/07	I	NR	NR
15-	4	direito	01	24	00/01	00/23	II	Negativa	Negativa
16-	4	sigmoide	02	04	00/02	00/02	II	Negativa	Negativa
17-	6	sigmoide	00	16	00/00	07/16	III	NR	NR
18-	6	direito	01	15	00/01	00/14	II	Negativa	Negativa
Total			29	238	04/29	24/209			

Legenda:

LN = linfonodo, LNS = linfonodo-sentinela, LNNS = linfonodo não sentinela; H-E = hematoxilina-eosina (exame histológico de rotina), MS = multisseção de linfonodos. IQ = imunoistoquímica de linfonodos, NR = não realizado. Azul = captante de corante.

TABELA 7 - Resultado geral do estudo *ex vivo*

Paciente	Tamanho do tumor (cm)	Local do tumor	LNS azul	Total LN	Metas em LNS (H-E)	Metas em LNNS (H-E)	Estadio TNM	MS	IQ
1-	11	direito	00	12	00/00	01/12	III	NR	NR
2-	5,5	direito	02	19	00/02	00/17	II	POSITIVA	POSITIVA
3-	4	sigmoide	06	15	00/06	00/09	I	Negativa	Negativa
4-	5	direito	00	14	00/00	01/14	III	NR	NR
5-	6	direito	00	08	00/00	01/08	III	NR	NR
6-	4	direito	01	17	00/01	00/16	I	Negativa	Negativa
7-	5,5	sigmoide	00	15	00/00	00/15	II	NR	NR
8-	4	direito	01	16	00/01	00/15	II	Negativa	Negativa
9-	6,5	direito	00	15	00/00	00/15	II	NR	NR
10-	6	direito	00	17	00/00	00/17	II	NR	NR
11-	3	direito	00	25	00/00	06/25	III	NR	NR
12-	3	direito	00	12	00/00	03/12	III	NR	NR
13-	5	direito	00	14	00/00	01/14	III	NR	NR
14-	2,5	transverso	01	06	01/01	01/05	III	NR	NR
15-	3,5	direito	00	10	00/00	05/10	III	NR	NR
Total			11	215	01/11	19/204			

Legenda:

LN = linfonodo, LNS = linfonodo-sentinela, LNNS = linfonodo não sentinela, H-E = hematoxilina-eosina (exame histológico de rotina), MS = multisseção de linfonodos, IQ = imunoistoquímica de linfonodos, NR = não realizado, Azul = captante de corante.