

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

**PESQUISA DE LINFONODO-SENTINELA
EM PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA DE CÓLON**

ANTÔNIO HILÁRIO ALVES FREITAS

Belo Horizonte

2007

ANTÔNIO HILÁRIO ALVES FREITAS

**PESQUISA DE LINFONODO-SENTINELA
EM PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA DE CÓLON**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Medicina.

Orientador: Tarcizo Afonso Nunes.

Co-orientador: Alberto Julius Alves Wainstein.

Área de concentração: Anatomofisiopatogenia cirúrgica

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

Universidade Federal de Minas Gerais

Faculdade de Medicina

Belo Horizonte

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG

REITORIA

Reitor: Prof. Ronaldo Tadêu Pena

Vice-Reitora: Profa. Heloísa Maria Murgel Starling

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Jaime Arturo Ramirez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação da FMUFMG: Prof. Carlos Faria Santos Amaral

COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

Prof. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Andy Petroianu

Prof. Edson Samesima Tatsuo (coordenador)

Prof. Marcelo Dias Sanches (sub-coordenador)

Prof. Marco Antônio Gonçalves Rodrigues

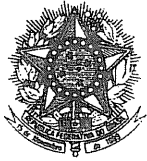
Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Representante Discente: Juliano Alves Figueiredo

FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS - FHEMIG

Presidente: Luís Márcio Araújo Ramos

Diretora do Hospital Alberto Cavalcanti: Dalze Lohner Maia



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 7009
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, Alberto Julius Alves Wainstein, Mauro de Souza Leite Pinho e Antônio Lacerda Filho, aprovou a defesa da dissertação intitulada: **“PESQUISA DE LINFONODO-SENTINELA EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA DE CÓLON”**, apresentada pelo mestrando **ANTÔNIO HILÁRIO ALVES FREITAS** para obtenção do título de mestre em Cirurgia, pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 10 de dezembro de 2007.


Prof. Tarcizo Afonso Nunes
(orientador)


Prof. Alberto Julius Alves Wainstein
Co-orientador


Prof. Mauro de Souza Leite Pinho


Prof. Antônio Lacerda Filho



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 7009
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



UFMG

13

ATA DA CENTÉSIMA TRIGÉSIMA SEXTA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO do aluno **ANTÔNIO HILÁRIO ALVES FREITAS**, nº de registro 2005210425. Às quatorze horas do dia dez do mês de dezembro de dois mil e sete, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG a Comissão Examinadora de dissertação, indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho final intitulado: **“PESQUISA DE LINFONODO-SENTINELA EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA DE CÓLON”** requisito final para a obtenção do Grau de Mestre em Cirurgia, pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia. 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. Alberto Julius Alves Wainstein/co-orientador	Instituição: BIOCÂNCER	Indicação: <u>APROVADO</u>
Prof. Mauro de Souza Leite Pinho	Instituição: UNIVILLE	Indicação: <u>APROVADO</u>
Prof. Antônio Lacerda Filho	Instituição: UFMG	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 reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 10 de dezembro de 2007.

Prof. Tarcizo Afonso Nunes/orientador _____
Prof. Alberto Julius Alves Wainstein/co-orientador _____
Prof. Mauro de Souza Leite Pinho _____
Prof. Antônio Lacerda Filho _____
Prof. Edson Samesima Tatsuo/Coordenador _____

PROF. EDSON SAMESIMA TATSUO

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e o carimbo do coordenador.

Para **Tatiana**,
minha esposa, companheira de momentos reais e de sonhos.

Para **Norvinda Alves de Freitas**,
minha mãe, professora de escola e de vida. Obrigado, mãe!

Para **Antônio Alves de Freitas**,
meu pai, trabalhador e caridoso.

Para **Brígida, minha irmã**,
presente em todos os momentos.

Para **João Bruno e Ana Lúcia**,
meus irmãos.

Para **Vó Nadica**,
exemplo de amor verdadeiro.

Para **Tio Beto**,
nosso anjo bom.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes**, pessoa que reúne grandes qualidades pessoais e profissionais; capaz de transformar ideal em realidade. Obrigado, professor.

Ao **Prof. Dr. Joel Alves Lamounier**, exemplo de formação, acompanhando meus passos na vida, incentivando e abrindo portas na graduação e pós-graduação.

Ao meu co-orientador, **Dr. Alberto Julius Alves Wainstein**, capaz de superar obstáculos e nos fazer acreditar na pesquisa científica.

Ao médico **Adelanir Antônio Barroso e sua equipe**, que apóiam de maneira incondicional e estimulam a pesquisa em medicina nuclear.

Aos médicos **Omar de Paula Ricardo Filho, Marco Antônio Dias, Marco Antônio Dias Filho**, que não pouparam esforços no laboratório de patologia, tendo sido fundamentais ao trabalho.

Aos meus mestres: **Silvério Couto**, pelo aprendizado em cirurgia na Santa Casa de Belo Horizonte; e ao saudoso **Hélio Fábio**, pelos ensinamentos em coloproctologia nos Hospitais Felício Rocho e Vera Cruz.

Aos cirurgiões preceptores da Santa Casa de Belo Horizonte: **Henrique Jacob, Geraldo Martins, Paulo Henrique de Almeida, Guilherme Velloso, Olavo Gontijo e Leonardo Lucas**. Competentes e dedicados, fazem da cirurgia geral uma arte.

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**. Amigos e eternos conselheiros no exercício da especialidade.

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

Aos amigos da equipe de coloproctologia dos Hospitais Vera Cruz e Lifecenter: **Fábio Lopes, Ramon Pires Maranhão, Helio Antônio Silva, Juliano Alves Figueiredo, Fabrício Silúzio, Kanthya Arreguy de Sena, Isabela Pessoa, Luciana Goulart**. Confio plenamente na capacidade desta equipe. O dia-a-dia fica melhor com a presença de vocês.

Aos amigos da equipe de proctologia do Hospital Militar: **Derival Nelmo Santos, Helio Antônio Silva, Gustavo Ambrosi, Kanthya Arreguy de Sena, Isabella Mendonça, Thaísa Barbosa**. Crescendo juntos para mostrar que boas sementes dão bons frutos.

Ao médico **Eliazor Campos Caixeta**, ex-diretor do Hospital Alberto Cavalcanti, que não poupou esforços para a execução do projeto.

Aos cirurgiões, anestesistas, residentes, acadêmicos e funcionários do **Hospital Alberto Cavalcanti**, companheiros na trajetória de realização da pesquisa. Agradecimento especial ao colega coloproctologista **Cláudio Okawa**.

Ao amigo **Juliano Alves Figueiredo**, coloproctologista, pelo apoio ao trabalho.

Ao acadêmico de Medicina da UFMG, **Waldemar Nascimento Brandão Penna**, pelo espírito científico e pela participação na pesquisa.

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

A **minha família**, símbolo de união, da qual tenho orgulho.

A **Deus**, pela vida e por nascer em Itapecerica.

**“ Escrever é reescrever.”
(Guimarães Rosa)**

RESUMO

O câncer colorretal é responsável por cerca de 8.000 óbitos/ano no Brasil. Acredita-se que haja subestadiamento pós-operatório. O objetivo deste trabalho é pesquisar sobre linfonodo-sentinela em pacientes com adenocarcinoma de cólon, através de marcadores de linfonodos (corante Azul Patente e radiofármaco Fitato marcado com ^{99m}Tecnécio) quanto a: viabilidade, segurança e índice de sucesso da técnica de mapeamento de linfonodos por meio de marcadores; comparar a capacidade de captação do corante azul patente e do radiofármaco; mostrar o valor da linfocintilografia da peça cirúrgica para confirmar a captação do radiofármaco pelo linfonodo; comparação da captação intra-operatória dos marcadores com o resultado do exame histológico dos linfonodos; verificação de alterações no estadiamento dos pacientes depois dos exames dos linfonodos-sentinela pela histologia de rotina, multisseção e imunoistoquímica. A amostra foi composta de 18 pacientes, todos com diagnóstico de adenocarcinoma de cólon submetidos a: laparotomia; mapeamento linfático com injeção dos marcadores de linfonodos na subserosa peritumoral; identificação peroperatória dos linfonodos mediante visão direta do corante azul e presença de radioatividade através da sonda captadora. Todos os linfonodos foram examinados à histologia de rotina corados com hematoxilina-eosina, e aos linfonodos-sentinela sem metástases foram adicionados os exames com multisseção e imunoistoquímica. Resultados: a identificação intra-operatória de linfonodo-sentinela com os marcadores ocorreu em 16 (88,8%) dos casos. Considerando-se que 13 pacientes tiveram linfonodos-sentinela identificados pelo marcador no intra-operatório e realizou-se linfocintilografia, 12 (92,3%) destes apareceram na imagem. A sensibilidade global do método foi de 66,7%, e falso-negativo 33,3%. Depois do exame histológico com multisseção e imunoistoquímica de 11 pacientes, foi diagnosticada micrometástase em um (9%) caso, sendo considerado ultra-estadiamento. Conclusões: pode-se afirmar que o procedimento é viável, seguro e com índice de sucesso elevado; a associação dos marcadores é benéfica, porém o radiofármaco é mais eficaz; a linfocintilografia da peça cirúrgica é capaz de certificar a presença de captação de radiofármaco pelo linfonodo; a incidência de metástases linfonodais é, proporcionalmente, a mesma nos linfonodos-sentinela e não-sentinela, portanto, a linfadenectomia radical deve ser realizada em todos os casos; as técnicas de multisseção e imunoistoquímica contribuem para melhorar a acuidade diagnóstica de metástase linfonodal.

Palavras-chave: Linfonodo-sentinela. Câncer. Cólon. Metástases.

ABSTRACT

The colorectal cancer is responsible for 8.000 deaths per year in Brazil. It is believed that there is sub staging in the post operative. The objective of this study is to research on the sentinel lymph node in patients with colon cancer through markers (patent blue dye and radioisotopic 99m technetium labeled phytate); showing the value of lymphoscintigraphy to confirm the capturing of radioisotopic by the lymph nodes in the surgical process; checking the alterations in the staging of patients after the exams of sentinel lymph nodes by the routine histology, multilevel section and immunohistochemical. The sample was composed by 18 patients, all of them diagnosed with cancer subjected to: laparotomy, lymphatic mapping with injection of the markers of lymph nodes in the peritumoral subserosa and peroperative identification of the nodes by direct vision of the dye, and capture of radioactivity with gamma probe. All of the lymph nodes were examined with routine pathology done by hematoxilin-eosin stained, and the patients without nodes metastases were added to the examinations with multilevel section and immunohistochemical to the sentinel. Results: the intraoperative identification of sentinel lymph nodes with the marker occurred in 16 (88,8%) of the cases. Considering that 13 patients with marker in sentinel node were lymphoscintigraphy was obtained, 12 (92,4%) of them were identified by images. The global sensitivity of this method was 66,7% and the false negative was 33,3%. After the histological examination with multilevel section and immunohistochemical of 11 patients, one (9%) case of micrometastasis was diagnosed, being considered ultrastaging. Conclusions: It can be said that the procedure is viable, safe and with a high level of success; the association of the markers is beneficial, but the radioisotopic is more effective; the lymphoscintigraphy of the surgical specimen is capable of certifying the presence of absorption of the radioisotopic marker by the lymph node; the incidence of lymph node metastasis is, proportionally, the same in the sentinel and non sentinel nodes, therefore, the radical lymphadenectomy must be done in all patients; the techniques of the multilevel section and immunohistochemical contribute to improve the effectiveness of the lymph node metastases diagnose.

Key words: Sentinel lymph node. Cancer. Colon. Metastases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fotografia digital da sonda captadora de radiação.....	36
Figura 2 - Fotografia digital da gama-câmara	36
Figura 3 - Fotografia digital da injeção do radiofármaco peritumoral.....	37
Figura 4 - Fotografia digital da injeção do corante azul peritumoral.....	38
Figura 5 - Fotografia digital da identificação visual do corante nos linfáticos.....	38
Figura 6 - Fotografia digital da identificação peroperatória dos linfonodos captantes de radiação com o gama-probe.....	39
Figura 7 - Linfocintilografia da peça cirúrgica com imagem da área de injeção do radiofármaco sem linfonodos-sentinela.....	40
Figura 8 – Linfocintilografia da peça cirúrgica com imagem da área de injeção do radiofármaco e dos linfonodos-sentinela.....	40
Figura 9 - Fotografia digital de linfonodos-sentinela marcados com fio cirúrgico.....	41
Figura 10 - Seqüência de análise histológica dos linfonodos-sentinela.....	41
Figura 11 - Fotografia digital de lâminas resultantes da multisseção de um linfonodo-sentinela.....	42
Figura 12 - Fotografia digital do grupo de células tumorais isoladas no linfonodo-sentinela depois da imunistoquímica	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Captação de corante azul patente e radiofármaco pelos linfonodos no intra-operatório	45
Tabela 2 - Comparação entre linfocintilografia e exame histológico nos pacientes com metástases nos linfonodos.....	46
Tabela 3 – Resultado da histologia de rotina com hematoxilina-eosina dos linfonodos nas 18 peças cirúrgicas.....	47
Tabela 4 - Histologia nos pacientes com câncer de cólon, nos quais foram identificados linfonodos-sentinela.....	48
Tabela 5 – Comparação entre os marcadores e o exame histológico de rotina nos pacientes com metástases nos linfonodos.....	48
Tabela 6 – Correlação entre os marcadores nos pacientes com metástases nos linfonodos.....	49
Tabela 7 – Resultados	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
ANEA	Agência Nacional de Energia Atômica
ASA	<i>American Society of Anesthesiology</i>
ASCO	<i>American Society of Clinical Oncology</i>
CALGB	<i>Cancer and Leukemia Group B</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CNEN	Conselho Nacional de Energia Nuclear
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DP	Desvio-padrão
FHEMIG	Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais
HE	Hematoxilina-eosina
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IPEN	Instituto de Pesquisa de Energia Nuclear
IQ	Imunoistoquímica
LNS	Linfonodo não-sentinela
LS	Linfonodo-sentinela
MS	Multisseccção
Nr	Não realizado
PCR	Reação em cadeia polimerase
TNM	Tumor-nodo-metástase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVO.....	19
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	21
3.1 Vias linfáticas do cólon.....	22
3.2 Estadiamento e número de linfonodos.....	22
3.3 Marcadores de linfonodos.....	23
3.4 Linfonodo-sentinela.....	25
3.5 Linfonodo-sentinela no cólon.....	26
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	33
4.1 Pacientes.....	34
4.1.1 Avaliação pré-operatória.....	34
4.1.2 Critérios de inclusão.....	35
4.1.3 Critérios de exclusão.....	35
4.2 Métodos.....	35
4.2.1 Materiais e equipamentos.....	35
4.2.1.1 Marcadores.....	35
4.2.1.2 Equipamentos.....	36
4.2.2 Procedimento cirúrgico e identificação do linfonodo-sentinela.....	37
4.2.3 Linfocintilografia	40
4.2.4 Exames histológicos	41
4.2.5 Estadiamento	43
4.2.6 Análise estatística	43
5 RESULTADOS.....	44
5.1 Identificação dos linfonodos pelo azul patente e radiofármaco.....	45
5.2 Linfocintilografia	46
5.3 Marcadores de linfonodos e histologia	47

5.4 Estadiamento dos pacientes	49
6 DISCUSSÃO.....	50
6.1 Identificação dos linfonodos.....	51
6.2 Marcadores.....	52
6.3 Linfocintilografia	52
6.4 Captação dos marcadores e histologia.....	53
6.5 Falso-negativo e sensibilidade.....	54
6.6 Estadiamento	55
6.7 Linfonodo-sentinela no adenocarcinoma de reto.....	57
6.8 Novas perspectivas	58
6.8.1 Linfonodo-sentinela e operação laparoscópica.....	58
6.8.2 Novo método de exame histológico	59
6.8.3 Considerações finais	59
7 CONCLUSÕES.....	61
REFERÊNCIAS.....	63
ANEXO E APÊNDICES.....	70

1 INTRODUÇÃO

A incidência de câncer colorretal no Brasil é de aproximadamente 26.000 casos por ano, sendo causa de cerca de 8.000 mortes anualmente, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (2006). O tratamento de escolha para tumores de cólon é a remoção em bloco da neoplasia e de todos os tecidos envolvidos na drenagem linfática, que é a principal via de disseminação desses tumores (GORDON *et al.*, 1999). Os estadiamentos clássicos propostos têm como principal objetivo verificar a presença de metástases nos linfonodos. O diagnóstico de linfonodo acometido pelo tumor é importante para a terapêutica e prognóstico do paciente. Uma vez constatada a presença de metástase linfonodal, está comprovado que a quimioterapia adjuvante aumenta o tempo livre de doença e a sobrevida (WOLMARK *et al.*, 1996). O estudo dos linfonodos, portanto, é fundamental no manejo dos indivíduos com câncer de cólon.

Sabe-se que um quarto dos pacientes operados por adenocarcinoma de cólon e sem linfonodos comprometidos à histologia de rotina, portanto, sem indicação de terapia adjuvante, evolui para óbito em até cinco anos por recorrência local do tumor ou metástase à distância. A dissecação e identificação de todos os linfonodos de uma peça cirúrgica pode ser imprecisa. E, mesmo quando identificado grande número de linfonodos, o exame pormenorizado pode ficar prejudicado, pois são preparadas poucas lâminas de cada linfonodo encontrado (BILCHICK *et al.*, 2002; BERTOGLIO *et al.*, 2004; SAHA *et al.*, 2006). Diante disso, é necessário aprimorar o estadiamento dos pacientes.

A pesquisa de linfonodo-sentinela é utilizada há mais de uma década em diversos tipos de tumores, sendo que em mama e melanoma trouxe melhor entendimento do envolvimento linfático, reduzindo a extensão da operação. O linfonodo-sentinela é considerado o primeiro a receber drenagem linfática do tumor e, desta forma, o mais provável de conter metástases (MORTON *et al.*, 1992). Para identificação do linfonodo-sentinela são utilizados marcadores (corante e/ou radiofármaco), e para exame histológico emprega-se meios diagnósticos mais pormenorizados (multissecação e imunoistoquímica), inviáveis e de alto custo para serem realizadas em todos os linfonodos dissecados.

Diante desses fatos, este trabalho se propõe a avaliar a pesquisa de linfonodo-sentinela nos tumores do intestino grosso, com o objetivo de melhorar o estadiamento final dos pacientes e, assim, contribuir para aumentar o índice de cura dessa afecção.

2 OBJETIVO

Pesquisar sobre linfonodo-sentinela no perioperatório de pacientes com adenocarcinoma de cólon por meio de corante e radiofármaco, quanto aos aspectos seguintes:

- Viabilidade, segurança e índice de sucesso.
- Captação dos marcadores pelos linfonodos.
- Linfocintilografia da peça cirúrgica para confirmar a captação do radiofármaco pelos linfonodos.
- Presença de metástase diagnosticada pela histologia de rotina nos linfonodos-sentinela e não-sentinela.
- Técnicas de multisseção de linfonodos e imunoistoquímica para melhorar o estadiamento.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Vias linfáticas do cólon

A drenagem linfática do cólon, cujo conhecimento é essencial para o tratamento cirúrgico de neoplasias, inicia-se nos folículos linfáticos da lâmina própria, ao longo da camada muscular da mucosa, e torna-se abundante nas camadas submucosa e muscular (GORDON *et al.*, 1999). Não é descrito caso de metástase quando o carcinoma está confinado à lâmina própria, ficando o termo carcinoma invasivo reservado para tumores que invadem a camada muscular da mucosa. No plano extramural, vasos linfáticos e linfonodos acompanham as artérias regionais. O fluxo retrógrado é retardado por numerosas válvulas nestas vias (STEWART; RANKIN, 1933).

Os linfonodos são classificados em quatro grupos: epicólicos, paracólicos, intermediários e principais. Os epicólicos localizam-se juntos à parede intestinal, sob o peritônio, e são mais numerosos em indivíduos jovens. Os paracólicos situam-se ao longo do cólon, entre a parede intestinal e a arcada marginal, exercendo importante papel na filtração e seleção de antígenos e patógenos que devem ser reconhecidos pelo sistema imunológico. Os intermediários estão junto das artérias cólicas. E os principais, localizados próximos à origem das artérias mesentéricas superior e inferior, recebem drenagem de todos os aferentes descritos e freqüentemente de vasos diretamente do intestino (JAMESON; DOBSON, 1909).

3.2 Estadiamento e número de linfonodos

A classificação patológica do tumor-nodo-metástase (TNM), preconizada por Hensen e Hutter (1988) do *American Joint Committee for Cancer*, é a seguinte:

- “T” representa a invasão do tumor na parede do cólon, sendo “1” neoplasia contida na mucosa, “2” se já invade a submucosa, “3” todas as camadas da parede intestinal afetadas e “4” acometendo órgãos adjacentes;

- “N” define a invasão linfonodal, sendo “1” quando até três linfonodos estão acometidos, “2” quando mais de três nodos apresentam metástases e “3” caso haja mais de três linfonodos positivos e localizados na raiz dos principais troncos vasculares do cólon;
- “M” classificado como “0” (zero) quando não há metástases em órgãos distantes ou “1” (um) quando estas estão presentes.

O estadiamento proposto por Hensen e Hutter (1988):

Estadio I = T1 ou T2, N0, M0;

Estadio II = T3, N0, M0;

Estadio III = qualquer T, N1 ou N2, M0;

Estadio IV = qualquer T, qualquer N, M positivo.

Esser *et al.* (2001) verificaram que pacientes estadiados como T3, N0, M0 (tumor invasivo restrito à parede do cólon, sem metástases em linfonodos ou órgãos distantes) com mais de 10 linfonodos examinados apresentaram sobrevida maior que aqueles com menos de 10 linfonodos avaliados, mediante análise de curva de sobrevida cumulativa.

Wong *et al.* (2002) e LeVoyer *et al.* (2003) encontraram sobrevida de cinco anos de aproximadamente 73% quando menos de 10 linfonodos foram examinados, de 80% quando 11-20 linfonodos, e de 87% com mais de 20 linfonodos analisados.

O *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) recomenda que pelo menos 7-14 linfonodos devam ser examinados (GREENE *et al.*, 2002). A *American Society of Clinical Oncology* (ASCO) pelo menos de 13 linfonodos para estadiamento confiável (BENSON *et al.*, 2004). Rossi *et al.* (2006), no Brasil, consideram necessário exame de no mínimo 12 linfonodos para estadiamento confiável.

3.3 Marcadores de linfonodos

Ao longo dos anos, métodos clínicos e laboratoriais foram propostos para tentar estabelecer a ordenação da drenagem linfática fisiológica, tais como:

- Anatomia: leva em conta a proximidade do tumor ao linfonodo. É passível de falha, já que nem sempre o linfonodo mais próximo do tumor é o que recebe primeiro a drenagem linfática (OMGO; PIETER; BIN, 2001).
- Corante: injeção no intra-operatório de substância peritumoral, com afinidade pelas vias linfáticas, quando há subsequente progressão pelos canais e apreensão do corante pelos macrófagos nos linfonodos, possibilitando sua identificação visual. Na quase totalidade dos casos, a opção é por um corante azul (BRAAT *et al.*, 2004; VIEHL *et al.*, 2003).
- Radioguiada: injeta-se no intra-operatório um marcador radioativo peritumoral. A intensidade de radiação emitida pelo linfonodo é captada por uma sonda especial e transformada em sons e números. O equipamento tem uma ponteira semelhante a uma caneta, com cabo conectado ao aparelho e registra quantitativamente num painel a radiação, sincronizado a alarme sonoro, emitindo som proporcional à intensidade de radiação captada (OMGO; PIETER; BIN, 2001).
- Linfocintilografia: depois da prévia injeção no tecido de um fármaco radioativo com tropismo por vias linfáticas, os macrófagos dos linfonodos capturam-no e o retêm por várias horas. Pode-se levar o tecido ou o indivíduo até a gama câmara, onde a radiação é representada por imagem. Em nosso meio, as substâncias utilizadas são o fitato ou enxofre marcado com o tecnécio (^{99m}Tc), traçador que se comporta como colóide depois de ser injetado em seres humanos, com comprovada eficiência para avaliação dos linfonodos. A radiação é usada em doses mínimas, abaixo dos limites permitidos pela Agência Nacional de Energia Atômica (ANEA) e pelo Conselho Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Pode haver mais de um linfonodo captante do radiofármaco (DOEKHIE *et al.*, 2005).
- Método combinado: injeção peritumoral do radiofármaco e do corante visa a aumentar a precisão de detecção de linfonodos. Neste caso, há possibilidade de identificar os linfonodos azuis, captar radiação com a sonda (dupla captação) e, ainda, obter imagens cintilográficas do espécime cirúrgico ressecado (OMGO; PIETER; BIN, 2001).

3.4 Linfonodo-sentinela

A primeira citação sobre mapeamento linfático foi realizada com injeção de corante índigo carmim no nível da válvula ileocecal, descrita por Braithwaite (1923). Cohn, Leon e Strug (1958) e Weinberg *et al.* (1951) mostraram a baixa toxicidade do corante vital injetado próximo ao tecido tumoral e também iniciaram estudos em pacientes com carcinomas gástrico e pulmonar a fim de aumentar-se a radicalidade da linfadenectomia.

Cabañas (1977) introduziu o conceito de linfonodo-sentinela no estudo do câncer de pênis. Baseou-se na coincidência do local de acometimento do linfonodo próximo ao órgão genital, afirmando que a ordem da drenagem linfática pode ser previsível.

A redefinição de linfonodo-sentinela foi elaborada por Morton *et al.* (1992), que levaram em conta a ordem de progressão das células tumorais na cadeia linfática. É considerado linfonodo-sentinela o primeiro linfonodo que recebe drenagem aferente do tumor primário, portanto, o mais provável de conter metástases e de predizer a situação linfática de maneira mais confiável. Seus trabalhos propuseram a utilização desse método em melanomas, que é realizado rotineiramente nos dias atuais para o estadiamento desses pacientes.

Visto que a progressão das metástases nos tumores sólidos com drenagem linfática é previsível, a busca por doença metastática linfonodal é facilitada por esse conhecimento. Isso levou, nos anos seguintes, à sua aplicação com sucesso no estadiamento de cânceres de mama e melanomas.

Na Universidade Federal de Minas Gerais foi desenvolvido projeto com linfonodo-sentinela em tumores ginecológicos (SILVA *et al.*, 2005); e na Universidade Federal do Rio Grande do Sul em carcinomas de canal anal (DAMIN *et al.*, 2003).

Há décadas sabe-se que o envolvimento linfonodal é fator prognóstico na evolução do paciente com neoplasia maligna. Como o linfonodo-sentinela é o primeiro nodo a receber drenagem tumoral, também é maior a probabilidade de o mesmo conter metástases. Desta forma, ao invés de um grande número de linfonodos examinados com poucos cortes à microscopia, poderia ser feito exame pormenorizado dos linfonodos mais prováveis de conter metástases. Mais atenção seria dedicada por parte do patologista, com realização de multissecções

e/ou testes imunoistoquímicos, aumentando a sensibilidade do método e promovendo estadiamento mais adequado do paciente, com melhor relação custo-efetividade (WAINSTEIN; BARROSO; BELFORT, 2004). Diante disto, o linfonodo-sentinela seria uma alternativa para aumentar a sensibilidade da identificação de doença metastática, tendo em vista que a principal informação, presença ou não de metástase, estaria contida em menor número de linfonodos examinados.

3.5 Linfonodo-sentinela no cólon

Joosten *et al.* (1999) publicaram a pesquisa de linfonodo-sentinela para tumores de cólon e reto. nos quais o corante azul foi injetado subseroso no intra-operatório, com os primeiros resultados desapontadores e identificação de somente 70% e ultra-estadiamento de apenas 4% dos casos.

Bendavid *et al.* (2002), Bilchick e Nora (2002), Waters *et al.* (2000) e Dahl *et al.* (2005) mapearam pacientes submetidos à colectomia por neoplasia. Injetaram substância azul nos quatro quadrantes peritumorais e quando o primeiro linfonodo era corado, cerca de cinco minutos depois da a injeção, o mesmo era retirado, enviado para exame histológico e denominado sentinela. Primeiramente, o linfonodo era submetido a exame histológico corado com hematoxilina-eosina e, caso negativo para metástases, realizava-se ainda exames histológicos adicionais com multisseção e imunoistoquímica. Os autores mostraram que o avanço científico alcançado com essa técnica é a possibilidade de estadiamento mais acurado do paciente. Benbenek *et al.* (2005) adicionaram exame histológico pormenorizado em todos os linfonodos, tanto sentinela quanto não-sentinela.

Braat *et al.* (2004) publicaram estudo utilizando o corante azul patente, já que o linfazurim largamente utilizado em linfonodos nos Estados Unidos não é registrado na Europa.

Depois de dissecarem e extraírem o linfonodo corado pelo azul, Levine *et al.* (2003) submetiam-no a exame de esfregaço citológico fresco, servindo para ampliação da ressecção caso algum linfonodo positivo estivesse situado fora da área planejada para ser removida.

Saha *et al.* (2000) utilizaram somente o corante azul injetado na subserosa adjacente ao tumor no intra-operatório e justificaram o emprego da técnica mostrando diminuição de 20-30% na sobrevida em cinco anos quando há metástases linfáticas no câncer colorretal. Salientaram, ainda, que aproximadamente um quarto dos pacientes considerados em estadio inicial e, portanto, que não fazem quimioterapia complementar morre por metástase distante ou recidiva tumoral local, reforçando o provável subestadiamento histológico. Ota (2000) sugeriu que a pesquisa de linfonodo-sentinela pode ser de grande valia para estadiamento mais confiável dos pacientes com câncer de cólon. Tais afirmações foram corroboradas por Bilchik *et al.* (2002), Bertoglio *et al.* (2004) e Saha *et al.* (2006), que acreditam ser necessária quimioterapia adjuvante em pacientes com micrometástases nos linfonodos.

O corante azul foi usado no intra-operatório de pacientes com neoplasia colorretal por Esser *et al.* (2001). Mediante análise na curva de sobrevida, concluíram que no estadio III (linfonodos com metástases) houve significância estatística, com aumento na sobrevida quando mais de 10 linfonodos foram examinados. Enumeraram erros na análise de linfonodos quando o patologista examina poucos cortes ou número insuficiente de linfonodos, que afeta tanto o tratamento quanto o prognóstico do paciente. E afirmam que há ainda limitações no exame microscópico quando a doença metastática é escassa, sendo a imunohistoquímica, neste caso, de grande auxílio.

Segundo Paramo *et al.* (2002), as possíveis causas de falhas técnicas são: injeção intraluminal; grandes tumores que podem necessitar de mais volume de corante; e linfáticos repletos de tumor impedindo o fluxo do azul até o linfonodo. Zuber *et al.* (2003) publicaram estudo apontando fatores que poderiam prejudicar a identificação do linfonodo-sentinela. Obtiveram resultado significativo: o volume do corante em relação ao tamanho do tumor e a localização da neoplasia. Os autores sugerem que o volume do azul injetado deve ser de aproximadamente 0,5 mL para cada centímetro de extensão tumoral, ou seja, num tumor de 5 cm, injeção de 2,5 mL, no sentido de diminuir o número de falso-negativos. Observaram que nos tumores do cólon sigmóide a identificação do linfonodo-sentinela foi melhor que nos cólons direito e esquerdo, creditando este fato à maior mobilidade e menor necessidade de mobilização do intestino durante

a operação do sigmóide, que poderia interferir na drenagem linfática e dificultar a identificação dos linfonodos.

Como possíveis explicações para as divergências nas publicações acerca do linfonodo-sentinela nos tumores intestinais, Sticca (2006) sugere: experiência da equipe; diferentes técnicas de identificação e de exame histológico dos linfonodos; critérios desiguais para positividade na imunohistoquímica; pequeno número de pacientes estudados. Questionaram também o significado das micrometástases, já que não há grandes séries de casos com análises estatísticas que possibilitem consenso na literatura a respeito da sua importância na evolução da doença. Apontam para o futuro, com avançadas pesquisas de expressão genética tumoral ajudando a solucionar muitas questões atuais. Fazio *et al.* (2006) estudaram pacientes com tumor de reto e de cólon, seguidos por um período médio de cinco anos. O objetivo foi avaliar o papel das micrometástases identificadas pela imunohistoquímica na sobrevida dos indivíduos com câncer intestinal. Concluíram que o método deve ser realizado somente em caráter de pesquisa até que seja validado.

Braat *et al.* (2005) publicaram extensa revisão da literatura, analisando os resultados dos 30 trabalhos mais importantes envolvendo pesquisa de linfonodo-sentinela em tumores de cólon e reto. Selecionaram séries com 20 ou mais pacientes estudados, totalizando 803 casos de 1999 a 2002. Mostraram que quanto mais linfonodos dissecados e examinados, mais acertado o estadiamento e, conseqüentemente, maior a sobrevida. Chamam a atenção para linfonodos menores que 5 mm que também foram sítios de metástases e puderam ser detectados mais precisamente com a técnica do linfonodo-sentinela, fato já observado por Mönig *et al.* (2002). Segundo eles, o corante linfazurim mostrou-se superior ao azul patente em alguns trabalhos. Discutem acerca das quatro principais causas de falhas para encontrar o linfonodo-sentinela metastático: obstrução linfática por células tumorais impedindo a progressão dos marcadores (*skip metastasis*); falhas no exame anatomopatológico, que examina de rotina apenas 0,04% do tecido; lesão de vias linfáticas na dissecação intra-operatória do intestino; erros na técnica de injeção do marcador. Concluíram que o linfonodo-sentinela tem alto potencial para aperfeiçoar o estadiamento, faltando ainda resultados de estudos para verificar a real importância das micrometástases no câncer colorretal (BRAAT *et al.*, 2005).

Read, Fleshman e Caushaj (2005) questionam a validade da pesquisa de linfonodo-sentinela no adenocarcinoma de cólon com injeção do azul intra-operatória. Trata-se de estudo multicêntrico envolvendo 25 cirurgiões em 13 instituições nos Estados Unidos, protocolo 8001, parte do estudo denominado *Cancer and Leukemia Group B* (CALGB), baseando-se nos bons resultados obtidos com linfonodo-sentinela em melanomas e tumores de mama. Os resultados foram desapontadores para análise das micrometástases nos linfonodos-sentinela de câncer de intestino grosso. Calculou-se que seriam necessários 1.200 pacientes com estadiamento N0 (sem linfonodos metastáticos) e cerca de 14.400 linfonodos submetidos a exame imunoistoquímico para estudo conclusivo.

Um grupo francês comentou as prováveis causas de insucesso do CALGB: muitos cirurgiões inexperientes com o método (18 com menos de cinco casos) - (BERTAGNOLLI *et al.*, 2004; POCARD *et al.*, 2006; REDSTON *et al.*, 2006). Codignola *et al.* (2005) reafirmaram que o objetivo principal da pesquisa de linfonodo-sentinela no câncer colorretal é identificar pacientes no estadio II (ausência de linfonodos metastáticos) que poderão beneficiar-se com terapia adjuvante caso a pesquisa de linfonodo-sentinela indique ultra-estadiamento; e que o método ainda não foi validado pelo fato de alguns trabalhos mostrarem alta porcentagem de falso-negativos (metástases em linfonodos não-sentinela).

O método combinado com injeção intra-operatória de azul associado ao radiocolóide na subserosa peritumoral foi utilizado pela primeira vez por Merrie *et al.* (2001). Avaliaram o sucesso na identificação do linfonodo-sentinela e a concordância entre azul e radiação. Realizaram, ainda, imagens linfocintilográficas da peça cirúrgica *ex vivum* na gama-câmara.

O marcador radioativo para pesquisa de linfonodo-sentinela em pacientes com câncer de cólon foi empregado por Kitagawa *et al.* (2002). Foram estudados indivíduos com tumores localizados no reto e no sigmóide, nos quais o radiofármaco foi injetado na submucosa peritumoral por meio de colonoscopia realizada duas horas antes da operação. Uma sonda manual captadora de radiação foi utilizada para identificar os linfonodos-sentinela no intra-operatório.

O estudo de Nastro *et al.* (2002) chamado de técnica radiocromoguiada envolveu pacientes com tumor de cólon, submetidos à injeção peritumoral subserosa no intra-operatório de azul patente associado a radiofármaco (albumina

marcada com tecnécio). Os linfonodos azuis eram identificados e marcados depois de cinco minutos da injeção e os chamados linfonodos captantes (quentes), por conterem radiação, identificados com ajuda de uma sonda depois de 30 minutos da injeção. Excluíram os tumores de reto pela dificuldade de injeção das substâncias na pelve e também por dificuldade de identificação dos linfonodos no mesorreto. Empregaram técnicas histopatológicas com utilização de multisseção e exame imunoistoquímico.

Pacientes com adenocarcinoma colorretal foram estudados por Trocha *et al.* (2003), utilizando a técnica combinada com injeção intra-operatória peritumoral de azul e de radio colóide. Pesquisa realizada em conjunto com os departamentos de cirurgia, oncologia, patologia e medicina nuclear no Texas, Estados Unidos, utilizaram o corante e o radiotraçador no intra-operatório. O objetivo foi determinar se a adição de radiofármaco e imunoistoquímica poderia melhorar os resultados para o estadiamento do câncer de cólon (FEIG *et al.*, 2004).

O estudo com maior número de casos descritos até o momento, de Saha *et al.* (2004a), envolveu 209 pacientes, com análise comparativa do mapeamento linfático de tumores colorretais utilizando o corante linfazurim e o colóide radioativo. Mostraram que 23% dos pacientes classificados como linfonodos sem metástases (T3,N0) morrem pela doença, reiterando a possibilidade de subestadiamento. Destacaram a importância do exame pormenorizado dos linfonodos no câncer de cólon, mas, por ser tecnicamente inviável a utilização da multisseção e imunoistoquímica em todos os linfonodos, fica evidente o benefício da pesquisa do linfonodo-sentinela, segundo a qual somente o mais provável de conter metástase é submetido a exame pormenorizado.

O artigo de revisão de Cochran, Roberts e Saída (2003) faz referência à utilização já consolidada da técnica de linfonodo-sentinela nos melanomas e cânceres de mama, aumentando a precisão diagnóstica e diminuindo a radicalidade cirúrgica. Discute-se o uso desse método nos tumores geniturinários e gastrintestinais, entre estes últimos os de cólon, no qual a radicalidade cirúrgica deverá ser mantida, mas poderá existir ganho com estadiamento mais confiável.

Conforme Maurer *et al.* (2004), os fatores prognósticos para pacientes operados de câncer colorretal são: cirurgião especializado; extensão da

resseccão linfática; técnica cirúrgica com mínima manipulação do tumor (*no-touch*); ressecção em bloco caso haja aderência da neoplasia a órgãos adjacentes; ooforectomia somente nos casos onde o ovário está anormal ou aderido ao cólon; operação laparoscópica com mesmos resultados oncológicos que na técnica convencional; técnica de linfonodo-sentinela para aumentar a confiabilidade no estadiamento.

Revisão do Colégio Americano de Cirurgiões abordando a cirurgia oncológica creditou o aumento da expectativa de vida somado aos avanços da medicina ao crescimento do número de pessoas com neoplasias diagnosticadas e tratadas. Nos tumores de cólon, a colonoscopia e a tomografia com emissão de pósitrons (PET-SCAN) significaram avanços propedêutico e diagnóstico; e a quimioterapia o aumento de 33% na sobrevida nos pacientes com linfonodos acometidos. Para estadiamento, a pesquisa de linfonodo-sentinela apresenta-se como realidade nos melanomas e cânceres de mama e como perspectiva futura para as neoplasias intestinais (LAFRENIÈRE, 2004).

Autores franceses fizeram levantamento bibliográfico dos trabalhos envolvendo pesquisa de linfonodo-sentinela em tumores colorretais, utilizando como base de dados MEDLINE, EMBASE e COCHRANE. Analisaram trabalhos prospectivos envolvendo mais de 20 pacientes, *in vivo* ou *ex vivo* (TUECH *et al.*, 2004). Concluíram que ainda são necessários mais estudos e com maior tempo de seguimento dos pacientes para validar a pesquisa de linfonodo-sentinela no câncer de cólon.

Em trabalho de revisão realizado por Doekhie *et al.* (2005) envolvendo pesquisas com linfonodo-sentinela e adenocarcinoma colorretal, de 25 trabalhos encontrados, 19 empregaram o corante com marcador, quatro o corante e o radiotraçador e dois somente o radiofármaco. Observou-se que nos trabalhos americanos o corante adotado foi o linfazurim e nos europeus o azul patente; e como radiotraçador predominou o Tecnécio colóide nos dois continentes. Enfatizou-se que raros efeitos colaterais leves, como urticária, urina azul e interferência na leitura do oxímetro, puderam ser constatados depois da utilização do corante; e que com o radiotraçador não foi relatado qualquer tipo de efeito adverso. Enumeraram-se as causas de insucesso da técnica: injeção inadequada do marcador; volume insuficiente injetado em grandes tumores; e inclusão de neoplasias avançadas nas pesquisas. Ressaltou-se a falta de padronização do

exame histopatológico, que é realizado de diferentes maneiras entre os linfonodos-sentinela e não-sentinela no mesmo trabalho e que também diferem entre diversos autores. Depois da utilização de imunoistoquímica, confirmou-se que a presença de células metastáticas é maior nos linfonodos-sentinela que nos não-sentinela, justificando as pesquisas envolvendo este tema. Portanto, a pesquisa de linfonodo-sentinela para câncer colorretal é factível e há larga variação envolvendo tanto técnica quanto seleção dos doentes nos trabalhos.

Basílio e Fonseca (2006) observaram, no Brasil, dois grupos de pacientes, injetando em um deles somente o corante azul e no outro a combinação de radiofármaco e corante. Houve 100% de sucesso na identificação dos linfonodos-sentinela. O ultra-estadiamento por meio de imunoistoquímica foi 12,9%.

Bell *et al.* (2005), Demirbas *et al.* (2004), Pocard *et al.* (2005), Smith *et al.* (2002; 2006), Tuech *et al.* (2006), Wong *et al.* (2001) e Yagci *et al.* (2006), em trabalhos com pacientes operados de câncer de cólon, realizaram metodologia diferente com a peça levada fresca para o Departamento de Patologia, onde o corante azul foi injetado *ex-vivum* peritumoral. Faziam, então, massagem local e os linfonodos azuis eram identificados como sentinela. Foram examinados inicialmente de forma rotineira com hematoxilina-eosina e, se negativos para metástases, submetidos à multisseção e imunoistoquímica. Conforme os autores, esta é uma forma alternativa, já que não manipula o tumor no intra-operatório e pode diminuir o risco de disseminação local. Defendem que esta abordagem não altera o ritmo da operação e pode evitar riscos de reações adversas dos marcadores, mas admitiram não ser fisiológica.

4 PACIENTES E MÉTODOS

Trata-se de estudo prospectivo, descritivo e analítico, sobre linfonodo-sentinela em indivíduos com adenocarcinoma de cólon, operados exclusivamente pelo autor desta pesquisa, no período de abril de 2005 a fevereiro de 2007, no Hospital Alberto Cavalcanti, que pertence à rede pública estadual de saúde da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), Belo Horizonte, Brasil. Essa instituição oferece todos os requisitos necessários à realização do estudo, visto que esse procedimento é rotina nos pacientes com câncer de mama e melanoma.

O projeto desta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), sob parecer número 290; Câmara Departamental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina e Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) sob parecer número ETIC 0168/06 (ANEXO A). O paciente e/ou seu responsável legal foram informados e convidados a participar da pesquisa, assinando o documento “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” apresentado pelo cirurgião no pré-operatório (APÊNDICE A).

4.1 Pacientes

A amostra foi composta de 18 pacientes, 11 mulheres (61,11%) e sete homens (38,89%). Idade mínima de 34 e máxima de 83 anos, média de 61 anos.

4.1.1 Avaliação pré-operatória

Todos os pacientes foram submetidos à seguinte propedêutica: exame clínico e proctológico; exames laboratoriais (hemograma, coagulograma, ionograma, creatinina, antígeno carcino-embrionário); teste de gravidez para mulheres em idade fértil; exames de imagem (radiografia de tórax, ultrasonografia ou tomografia abdominal); colonoscopia com biópsia; avaliação clínica com risco cirúrgico segundo a classificação da *American Society of Anesthesiology* (ASA) 1 – paciente sem distúrbio fisiológico, 2 - distúrbio leve ou moderado controlado, 3 - distúrbio sistêmico importante com influência na anestesia e cirurgia, 4 - desordem sistêmica grave, 5 - moribundo.

4.1.2 Critérios de inclusão

- Pacientes com adenocarcinoma de cólon;
- maiores de 21 anos de idade;
- adesão ao termo de consentimento.

4.1.3 Critérios de exclusão

- Evidência de metástase linfonodal ou distante;
- tumor de origem não identificada nos últimos cinco anos;
- gravidez;
- condição médica que pudesse levar risco ao paciente;
- operação prévia na região do tumor, que pudesse alterar a drenagem linfática local;
- cirurgias de urgência;
- recusa do paciente em participar do estudo.

4.2 Métodos

4.2.1 Materiais e equipamentos

4.2.1.1 Marcadores

- Corante: azul patente, volume de 1 mL, concentração a 1%, fabricado pela Citopharma Ltda (Belo Horizonte – Minas Gerais), que fornece medicamentos à rede de hospitais da FHEMIG.
- Fármaco radioativo: fitato marcado com tecnécio (Fitato 99m - Tc) na dose de 1,2 mCi em volume de 0,8 mL, liofilizado, estéril, apirógeno, produzido e distribuído pelo Instituto de Pesquisa de Energia Nuclear (IPEN) – (São Paulo – S.P.).

4.2.1.2 Equipamentos

- Seringa de injeção de 1 mL, com agulha 13 x 4,5 mm;
- Sonda captadora de radiação, marca Eurorad, modelo Europrobe System® (FIG. 1).



FIGURA 1 - Fotografia digital da sonda captadora de radiação.

- Gama-câmara (FIG. 2).



FIGURA 2 - Fotografia digital da gama-câmara.

4.2.2 Procedimento cirúrgico e identificação do linfonodo-sentinela

Depois dos procedimentos de anestesia geral, anti-sepsia e colocação de campos cirúrgicos, iniciou-se a operação com os tempos seguintes:

- laparotomia mediana ampla e exploração da cavidade abdominal;
- identificação do tumor;
- injeção de 1,2 mCi em 0,8 mL de fitato marcado com o tecnécio (Fitato 99m - Tc) na subserosa do intestino, que é dividido entre os quatro pontos cardeais adjacentes ao tumor, empregando-se seringa de 1 mL e agulha 13 x 4,5 mm. (FIG. 3).



FIGURA 3 - Fotografia digital da injeção do radiofármaco peritumoral.

- Injeção de 1 mL do corante azul patente a 1%, utilizando-se a mesma técnica e o mesmo material descrito no item anterior, e depois de 5-10 minutos, identificaram-se os primeiros linfonodos azuis, que são considerados os sentinelas, sendo marcados com fio cirúrgico azul prolene 2.0 (FIG. 4 e 5).



FIGURA 4 - Fotografia digital da injeção do corante azul peritumoral.

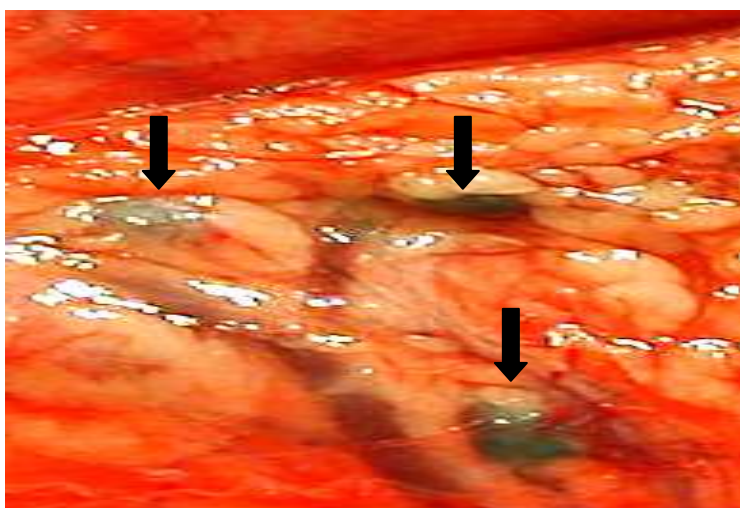


FIGURA 5 - Fotografia digital da identificação visual do corante nos linfáticos.

- prosseguiu-se a operação de forma habitual até 20-30 minutos depois da injeção do radiofármaco, quando foi pesquisado linfonodo-sentinela por meio de uma sonda que capta radiação (gama-probe), envolta em material esterilizado no campo cirúrgico; a sonda foi conectada ao aparelho que converte a radiação em sinal visual numérico e sonoro, de intensidade proporcional à captação (FIG. 6).



FIGURA 6 - Fotografia digital da identificação peroperatória dos linfonodos captantes de radiação com o gama-probe.

- os linfonodos captantes foram considerados sentinela e marcados com fio de seda 2.0;
- retirou-se a peça cirúrgica composta pelo tumor e o mesocólon;
- depois dos cuidados finais com a cavidade abdominal, fez-se a laparorrafia.

4.2.3 Linfocintilografia

A peça cirúrgica fresca, constituída pelo segmento do cólon e mesocólon com linfonodos regionais, foi levada à gama-câmara para a obtenção de imagem cintilográfica, para mostrar se os linfonodos-sentinela identificados no intra-operatório com o gama-probe foram incluídos na ressecção (FIG. 7 e 8).

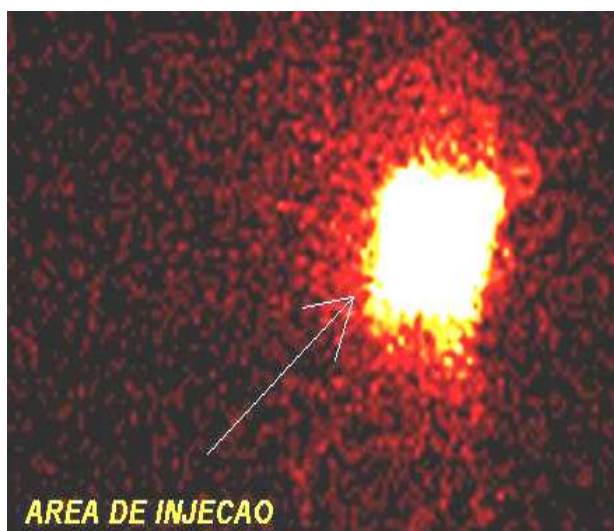


FIGURA 7 - Linfocintilografia da peça cirúrgica com imagem da área de injeção do radiofármaco sem linfonodos-sentinela.

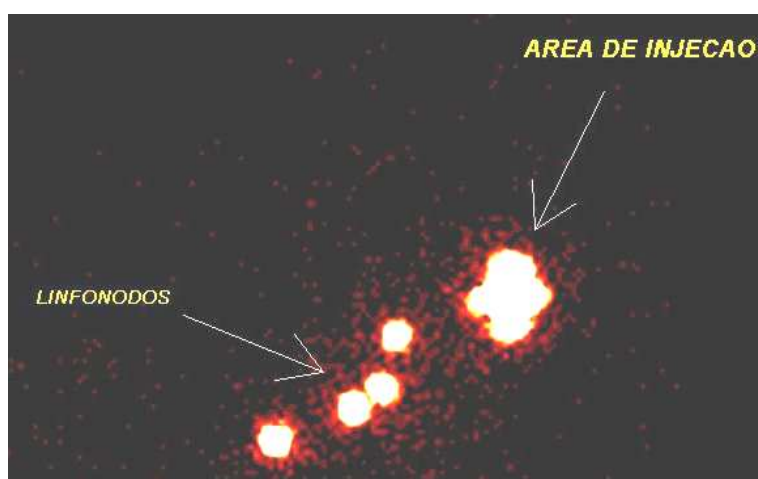


FIGURA 8 - Linfocintilografia da peça cirúrgica com imagem da área de injeção do radiofármaco e dos linfonodos-sentinela.

Todos os linfonodos-sentinela marcados com fio foram removidos do mesocólon e enviados em frascos numerados, juntamente com a peça cirúrgica, para o serviço de anatomia patológica (FIG. 9).



FIGURA 9 - Fotografia digital de linfonodos-sentinela marcados com fio cirúrgico.

4.2.4 Exames histológicos

O exame dos linfonodos-sentinela iniciou-se com a histologia de rotina. 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. Na ausência de metástases por esse método, os linfonodos foram enviados para exames de multisseção e imunoistoquímica (FIG.10).

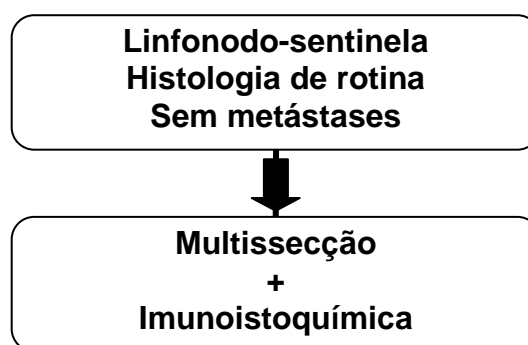


FIGURA 10 – Seqüência de análise histológica dos linfonodos-sentinela.

A técnica denominada multisseção consistiu em múltiplos cortes escalonados do bloco de parafina contendo o linfonodo, a cada intervalo 2-3 mm, que em seguida foram corados com hematoxilina-eosina e examinados de forma mais pormenorizada à microscopia de luz (FIG. 11).



FIGURA 11 - Fotografia digital de lâminas resultantes da multisseção de um linfonodo-sentinela.

Nos casos estudados, nos quais a busca por células neoplásicas foi negativa com a histologia de rotina, além do procedimento de multisseção, realizou-se a pesquisa imunistoquímica 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 EDTA, acompanhado de colorações de controle (FIG. 12).

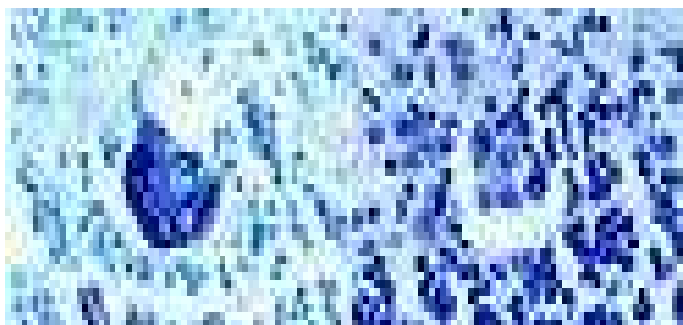


FIGURA 12 - Fotografia digital do grupo de células tumorais isoladas no linfonodo-sentinela depois da imunistoquímica.

4.2.5 Estadiamento

O tamanho dos tumores variou de 2 a 7 cm, com média de 4,5 cm (DP=1,4) e a localização no cólon foi a seguinte: direito, oito (44,4%); esquerdo, quatro (22,2%); e sigmóide, seis (33,3%) - (APÊNDICE B).

Os pacientes foram estadiados segundo a classificação patológica do tumor-nodo-metástase (TNM), preconizada por Hensen e Hutter (1988).

4.2.6 Análise estatística

- Utilizado o programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) para realização dos cálculos.
- Na identificação dos linfonodos pelo azul e radiofármaco, foi medida a tendência central (média) e calculada a dispersão (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.
- 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).
- Para a concordância entre os marcadores foi calculado o Índice Kappa.

5 RESULTADOS

5.1 Identificação dos linfonodos pelo azul patente e radiofármaco

Dos 18 pacientes, foram identificados 46 linfonodos-sentinela no intra-operatório por meio do corante e radiofármaco em 16 (88,8%), com média de 2,8 (DP=0,9) por paciente. O azul patente identificou 29 linfonodos-sentinela, média de 2,2 (DP=1,4), em 13 (72,2%) indivíduos, enquanto o radiofármaco identificou 43 linfonodos-sentinela, média de 2,6 (DP=1,2), em 16 (88,8%) casos. O radiofármaco, portanto, identificou linfonodo-sentinela em mais três pacientes. E, em dois pacientes não foram identificados linfonodos-sentinela por nenhum dos marcadores.

Nas peças cirúrgicas dos 18 participantes, foram isolados 238 linfonodos, média de 13,2 (DP=5,1) por paciente, sendo 46 linfonodos-sentinela, média de 2,8 (DP=0,9) e 192 linfonodos não-sentinela, média de 10,6 (DP=5) por paciente (TAB. 1).

TABELA 1

Captação de corante azul patente e radiofármaco
pelos linfonodos no intra-operatório (n=18)

Pacientes	Total de linfonodos	Total de linfonodos-sentinela	Linfonodo azul	Linfonodo radiocaptante
1-EPR	12	04	01	04
2-MJC	14	00	00	00
3-GFL	12	02	01	02
4-GAS	14	01	00	01
5-MAR	09	03	03	01
6-VLM	12	04	04	04
7-MJD	12	01	00	01
8-PAS	06	01	01	01
9-RCSJ	14	04	04	04
10-ANF	13	03	03	03
11-ALM	15	03	02	02
12-MLCS	15	04	02	04
13-COM	24	04	04	04
14-ROG	07	00	00	00
15-SAS	24	04	01	04
16-JRA	04	02	02	02
17-ACC	16	02	00	02
18-MVA	15	04	01	04
Total	238	46	29	43

Não foram identificados linfonodos corados ou captantes fora da área de ressecção e por isso a extensão da operação, que foi oncológica e radical, não teve de ser ampliada em nenhum dos pacientes avaliados. Dois apresentaram urina azul após injeção do corante, que desapareceu em aproximadamente quatro horas, não acarretando qualquer consequência posterior. Não houve qualquer outro evento adverso decorrente da pesquisa de linfonodo-sentinela.

5.2 Linfocintilografia

Foram obtidas imagens das peças cirúrgicas de 15 (83,3%) pacientes. Em três (16,7%) isto não foi possível por problemas logísticos. Nos dois (12,2%) casos em que os linfonodos-sentinela não foram identificados no intra-operatório, também não foram detectadas imagens de linfonodos por cintilografia.

Treze pacientes tiveram linfonodos-sentinela identificados no intra-operatório e também foram realizadas imagens na gama-câmara. Em 12 (92,3%) destes apareceram linfonodos na imagem e em apenas um caso (7,7%) a linfocintilografia não mostrou imagem de linfonodo (TAB. 7 – APÊNDICE B).

Realizaram-se linfocintilografias em cinco dos sete pacientes com linfonodos metastáticos, salientando-se que em todos eles apareceram imagens de linfonodos-sentinela. Nos outros dois casos, como citado anteriormente, problemas operacionais impossibilitaram a realização de imagem da peça cirúrgica (TAB. 2).

TABELA 2

Comparação entre linfocintilografia e exame histológico nos pacientes com metástases nos linfonodos (n=7)

Paciente	Imagem de Linfonodo	Metástase HE
2- MJC	Sim	(-) LS e (+) LNS
4- GAS	<i>Nr</i>	(+) LS e (-) LNS
5- MAR	Sim	(+) LS e (-) LNS
7- MJD	Sim	(+) LS e (-) LNS
9- RCSJ	Sim	(-) LS e (+) LNS
12- MLCS	Sim	(+) LS e (-) LNS
17- ACC	<i>Nr</i>	(-) LS e (+) LNS

Nr = não realizada; HE = histologia de rotina utilizando hematoxilina-eosina

LS = linfonodo-sentinela; LNS = linfonodo não-sentinela

(+) = presença de metástase; (-) = ausência de metástase

5.3 Marcadores de linfonodos e histologia

Entre os 46 linfonodos-sentinela identificados pelos marcadores, o exame histológico de rotina com hematoxilina-eosina diagnosticou metástases em seis (13,0%) e nos outros 40 (87,0%) não foram encontrados sinais de metástases. Dos 192 linfonodos não-sentinela, 24 (12,5%) continham metástases e 168 (87,5%) estavam livres de metástases (TAB. 3).

TABELA 3
Resultado da histologia de rotina com hematoxilina-eosina
dos linfonodos nas 18 peças cirúrgicas (n=238)

Linfonodos	Metástase (+)	Metástase (-)	Total
Sentinela	6 (13,0%)	40 (87,0%)	46 (100,0%)
Não-sentinela	24 (12,5%)	168 (87,5%)	192 (100,0%)
Total	30	208	238

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

Considerando o estudo de validade, nos 16 pacientes cujos marcadores identificaram linfonodos-sentinela, o exame histológico de rotina diagnosticou metástase em seis (37,5%). Em quatro (66,7%) deste grupo, as metástases encontravam-se nos linfonodos-sentinela e em dois (33,3%) em linfonodos não-sentinela, sendo que este último índice representa o falso-negativo. Nos outros 10 pacientes, apesar de terem sido identificados linfonodos-sentinela, não foram diagnosticadas metástases pela histologia de rotina com hematoxilina-eosina (TAB. 4).

TABELA 4
Histologia nos pacientes com câncer de cólon,
nos quais foram identificados linfonodos-sentinela (n=16)

Linfonodos	Com Metástase	Sem Metástase	Total
Sentinela	4	0	4
Não-sentinela	2	10	12
Total	6	10	16

Sensibilidade = 66,7% (IC 95% - 24,1% a 94,0%)
 Especificidade = 100% (IC 95% - 65,5% a 100%)
 Valor Preditivo Positivo = 100% (IC 95% - 39,6% a 100%)
 Valor Preditivo Negativo = 83,3% (IC 95% - 50,9% a 97,1%)
 Acurácia = 87,5% (IC 95% - 60,4% a 97,8%)

IC – intervalo de confiança

Nos 18 pacientes do estudo, o exame histológico de rotina encontrou metástases em sete, sendo seis do grupo de 16 que exibiam linfonodos-sentinela e um entre os dois pacientes sem identificação dos linfonodos pelos marcadores. Desses sete com linfonodos metastáticos, três (42,8%) apresentaram linfonodo-sentinela negativo e não-sentinela positivo para metástase, índice que representa o falso-negativo para este grupo (TAB. 5).

TABELA 5
Comparação entre os marcadores e o exame histológico de rotina
nos pacientes com metástases nos linfonodos (n=7)

Paciente	LS azul	LS radio	Metástase HE
2- MJC	<i>Não</i>	<i>Não</i>	(-) LS e (+) LNS
4- GAS	<i>Não</i>	Sim	(+) LS e (-) LNS
5- MAR	Sim	Sim	(+) LS e (-) LNS
7- MJD	<i>Não</i>	Sim	(+) LS e (-) LNS
9- RCSJ	Sim	Sim	(-) LS e (+) LNS
12- MLCS	Sim	Sim	(+) LS e (-) LNS
17- ACC	<i>Não</i>	Sim	(-) LS e (+) LNS

Azul = linfonodo que captou corante
 Radio = linfonodo que captou radiofármaco
 HE = histologia de rotina utilizando hematoxilina-eosina
 LS = linfonodo-sentinela
 LNS = linfonodo não-sentinela
 (+) = presença de metástase
 (-) = ausência de metástase

Analisando a concordância entre os marcadores neste grupo de sete pacientes cujos linfonodos continham metástases ao exame histológico de rotina com hematoxilina-eosina, seis (85,7%) tiveram linfonodos captantes de radiofármaco e três (42,8%) tiveram linfonodos corados pelo azul (TAB. 6).

TABELA 6
Correlação entre os marcadores nos pacientes
com metástases nos linfonodos (n=7)

Pacientes	Azul (+)	Azul (-)	Total
Fitato (+)	3	3	6
Fitato (-)	0	1	1
Total	3	4	7

(+) = captante de marcador
(-) = não captante de marcador
Índice Kappa = 22%

5.4 Estadiamento dos pacientes

O exame histológico de rotina não diagnosticou metástase em 11 (61,1%) dos 18 pacientes, portanto, eles foram considerados estadiado N0. Nos outros sete (38,9%), foram diagnosticadas metástases, sendo classificados no estadiado N1 ou N2 (TAB. 7 – APÊNDICE B). Dessa forma, o estadiamento (TNM) inicial da amostra foi:

- Estadio I = 02 pacientes (11,1%);
- Estadio II = 09 pacientes (50,0%);
- Estadio III = 07 pacientes (38,9%).

No grupo dos 11 pacientes sem metástases pela histologia de rotina (estádios I ou II), os exames por multissecção e imunoistoquímica diagnosticaram metástase em apenas um (9,0%) - (TAB. 7 – APÊNDICE B). O estadiamento (TNM) final, então, foi:

- Estadio I = 02 pacientes (11,1%);
- Estadio II = 08 pacientes (44,45%);
- Estadio III = 08 pacientes (44,45%).

6 DISCUSSÃO

6.1 Identificação dos linfonodos

O mapeamento linfático do câncer de cólon é realizado pela maioria dos autores com injeção subserosa dos marcadores de linfonodos (corantes e/ou fármacos radioativos) no intra-operatório, método utilizado no presente estudo. Em alguns trabalhos, o procedimento é feito depois da retirada da peça cirúrgica do abdome, cujo argumento é a ausência de efeitos indesejados dessas substâncias ao indivíduo. A crítica principal é que o exame na peça cirúrgica pode não reproduzir o comportamento fisiológico no ser vivo. Os corantes azuis utilizados são linfazurim, azul patente, azul de metileno ou azul de Evans, sendo que os dois primeiros representam quase a totalidade dos trabalhos publicados. Quanto aos fármacos radioativos, são utilizados enxofre, albumina sérica e fitato marcados com tecnécio (SPRUNG; TULLY; ZISER, 2003). Na Europa, utiliza-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.*, 2004a).

Neste estudo, empregou-se a técnica combinada (corante e radiofármaco), pois não há consenso de qual seria o melhor marcador. Apesar de mais trabalhosa, ainda foi acrescida a linfocintilografia, na busca por melhores resultados. O índice de sucesso na identificação de linfonodos-sentinela em adenocarcinomas de cólon foi de 88,8%. Isto mostra a viabilidade técnica, já que mesmo no projeto piloto com os quatro primeiros casos não houve dificuldade com o método empregado, fato verificado por Paramo *et al.* (2002), que calcularam a curva de aprendizado, sendo necessários cinco pacientes.

Saha *et al.* (2004b), equipe com a maior experiência mundial nesse método, afirmaram que a utilização da técnica combinada, apesar de mais trabalhosa, pode aumentar os índices de acurácia na detecção de linfonodos-sentinela em pacientes com tumores de cólon. Já Patten *et al.* (2004) discordam, uma vez que em sua avaliação a sensibilidade permaneceu inalterada quando se utilizou corante associado ao fármaco radioativo.

Doekhie *et al.* (2005) revisaram 25 estudos, nos quais 19 utilizaram o corante azul como marcador, em quatro técnicas combinadas de azul mais radiofármaco e em apenas dois o fármaco radioativo isoladamente. O sucesso

global na identificação dos linfonodos-sentinela nos pacientes foi 89%, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho.

Em recentes revisões de trabalhos relevantes, levando-se em consideração diferentes técnicas, a identificação de linfonodo-sentinela variou de 71 a 100% (DE HAAS *et al.*, 2007; DESS GUETZ *et al.*, 2007).

6.2 Marcadores

Neste estudo, o desempenho do fitato radioativo foi melhor que o do corante azul patente para identificação de linfonodos-sentinela, sendo que 13 (72,2%) pacientes tiveram 29 linfonodos-sentinela corados pelo azul no intra-operatório, com média de 2,2 (DP=1,4); e 16 (88,8%) tiveram 43 linfonodos que captaram radiofármaco, com média de 2,6 (DP=1,2) por paciente. A concordância entre os marcadores foi fraca, índice Kappa=22%. Todos aqueles com linfonodos metastáticos e que tiveram linfonodos corados de azul foram também captantes de radiofármaco, ou seja, o fármaco radioativo foi mais eficiente e agregou valor na identificação de linfonodo-sentinela.

Hipótese que poderia explicar tal fato seria a desvantagem da farmacocinética do corante azul com rápida passagem pelo linfonodo e metabolização instantânea pelo sistema imunológico. O fármaco radioativo possui partículas de maior tamanho, fica retido por mais tempo nos macrófagos dentro dos linfonodos, aumentando as chances de identificação dos linfonodos-sentinela. Falhas técnicas também podem acontecer, como erro no local de injeção dos marcadores ou mesmo volume dos marcadores desproporcional e insuficiente para o tamanho de alguns tumores (FEIG *et al.*, 2001; MERRIE *et al.*, 2001; VIEHL *et al.*, 2003).

6.3 Linfocintilografia

Foram obtidas imagens das peças cirúrgicas levadas à gama-câmara de 15 (83,3%) pacientes envolvidos no trabalho, que serviram para certificação da captação pelos linfonodos do radiofármaco injetado no intra-operatório. Nos dois

(12,2%) pacientes em que os linfonodos-sentinela não foram identificados pelos métodos intra-operatórios, também não foi detectada imagem de linfonodo no mesocólon. Nos outros 13 pacientes, nos quais os linfonodos-sentinela foram identificados no intra-operatório e foi realizada linfocintilografia, 12 (92,3%) exibiram linfonodos na imagem e em apenas um (7,7%) isto não ocorreu.

Poucos trabalhos foram publicados sobre este tema, provavelmente devido ao alto custo, que seria o fator limitante principal, já que o valor de cada linfocintilografia é de aproximadamente 600 dólares ou 1.200 reais. Merrie *et al.* (2000) fizeram linfocintilografia objetivando localizar os linfonodos radiocaptantes no mesocólon do espécime cirúrgico e obtiveram resultados favoráveis.

6.4 Captação dos marcadores e histologia

O número de linfonodos obtidos do espécime cirúrgico é de grande importância para estadiamento, tratamento e prognóstico dos pacientes operados de adenocarcinoma de cólon. Nos 18 casos estudados, foram encontrados 238 linfonodos, com média de 13,2 (DP=5,1) linfonodos por paciente. De acordo com a literatura, estes achados são suficientes para estadiamento confiável.

Em 16 deles, utilizando-se a técnica combinada com corante e radiofármaco, foram identificados 46 linfonodos-sentinela no intra-operatório, com média de 2,8 (DP=0,9) por paciente. Não existiu correlação significativa ($p=0,88$) entre linfonodo-sentinela e a presença de metástase.

O *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) recomenda que pelo menos 7-14 linfonodos devam ser examinados para estadiamento patológico confiável (GREENE *et al.*, 2002). Publicação da *American Society of Clinical Oncology* (ASCO) orienta quimioterapia adjuvante em pacientes com câncer de cólon estadiado II (sem linfonodos comprometidos = N0) com menos de 13 linfonodos encontrados, pois considera número insuficiente de linfonodos analisados para obter estadiamento confiável pela técnica de rotina com hematoxilina-eosina (BENSON *et al.*, 2004). Rossi *et al.* (2006), no Brasil, consideram necessário exame de no mínimo 12 linfonodos para estadiamento confiável.

6.5 Falso-negativo e sensibilidade

O resultado falso-negativo significa que não há metástases nos linfonodos-sentinela, mas os linfonodos não-sentinela as contêm. No presente estudo, o índice de falso-negativo foi 33,3%, salientando que esse alto valor não tem importância sob o ponto de vista da terapêutica, já que a linfadenectomia cirúrgica radical é mantida nas operações de adenocarcinomas de cólon, independentemente da presença ou ausência de metástases nos linfonodos regionais. De acordo com os trabalhos de revisão, a taxa global média de falso-negativo é de 33%, variando de 0 a 63%. Quando observados somente os trabalhos que utilizaram o método combinado (corante e radiofármaco), como nesta avaliação, a taxa média foi 28%, variando de 0 a 50% (TUECH *et al.*, 2004; DOEKHIE *et al.*, 2005; TIFFET *et al.*, 2007).

De acordo com o estudo de validade deste trabalho, a sensibilidade foi 66,7%, enquanto na literatura varia de 40 a 100% (DOEKHIE *et al.*, 2005; TUECH *et al.*, 2004). Alguns fatores podem explicar estes achados, tais como: obstrução da drenagem linfática de vasos ocluídos por neoplasia forçando a drenagem por outras vias (*skip metastasis*); perda do tempo ideal entre a injeção e a migração dos marcadores, com linfonodo secundário considerado sentinela; falta de padronização da quantidade ideal de linfonodos que devem ser considerados sentinela, cujo número varia de quatro a oito (KITAGAWA *et al.*, 2002); e falhas técnicas na injeção dos marcadores, quando em alguns casos foi observado corante no lúmen do cólon, destacando-se a importância da curva de aprendizado como forma de minimizar tal acontecimento (JOOSTEN *et al.*, 1999).

Há consenso que quanto mais avançado for o tumor, mais alto deverá ser o índice de falso-negativo e menor a sensibilidade. Como este trabalho foi desenvolvido em hospital público e os pacientes geralmente têm dificuldade para realização de propedêutica, esta seria uma provável causa para justificar os valores encontrados. Ressalta-se que 38,9% dos pacientes já se encontravam no estadio III (linfonodos com metástases) depois da histologia de rotina com hematoxilina-eosina. Em tumores de mama e melanomas, onde esse método já é utilizado rotineiramente, a sensibilidade média é acima de 80% e o falso-negativo está em torno de 8%. No cólon é pouco provável que taxas como estas sejam alcançadas, pois os tumores são de maior tamanho e os linfonodos não são

identificados à palpação tão facilmente como naqueles tumores. É importante ressaltar que, ao contrário do que acontece com mama e melanomas, o alto índice de falso-negativo não interfere no estadiamento nem na conduta cirúrgica, já que a linfadenectomia para cânceres do intestino grosso é sempre oncológica e radical.

6.6 Estadiamento

Foram isolados linfonodos nos 18 pacientes operados e examinados pelo método histológico de rotina, corados em lâmina pela hematoxilina-eosina.

Em 11 indivíduos (61,1%), tanto linfonodos-sentinela quanto não-sentinela não continham metástases, sendo estadiados como grupo N0. Nos outros sete (38,9%), foram diagnosticadas metástases em linfonodos-sentinela ou não-sentinela, estadiados como grupo N1 ou N2. O estadiamento do câncer de cólon baseado na invasão de linfonodos é aceito como preditor de sobrevida. Os números deste estudo deram suporte e confiabilidade para o estadiamento dos pacientes, em conformidade com a literatura.

De acordo com o padrão de exame histológico de rotina, o tecido é examinado por meio de secção simples do linfonodo. Estima-se que o material levado a exame microscópico corado pela hematoxilina-eosina corresponda a menos de 1% do tecido do linfonodo, podendo ser motivo potencial de erro (PARAF; SABOURIN, 2000; TSCHMELITSCH; KLIMSTRA; COHEN, 2000).

Neste estudo, a histologia de rotina com hematoxilina-eosina não diagnosticou metástases nos linfonodos de 11 (61,1%) pacientes. Em 10 (91%) deles os linfonodos-sentinela foram identificados e não continham metástases, sendo que em um (9%) foi encontrada micrometástase em linfonodo-sentinela depois da realização de exame histológico complementar, utilizando técnicas de multisseção dos linfonodos e de imunoistoquímica. Segundo Cohen *et al.* (1998), esse paciente poderia representar um caso de provável subestadiamento, já que, pelo preconizado na literatura até o momento, não recebe quimioterapia adjuvante, e faria parte de um estadio considerado inicial, no qual $\frac{1}{4}$ apresenta recidiva tumoral.

Esse seria o perfil do paciente que se beneficiaria da pesquisa de linfonodo-sentinela por ter o diagnóstico de sua doença ainda micrometastática, quando as chances de proporcionar a cura com quimioterapia adjuvante seriam maiores por atacar o tumor em fase inicial. Especificamente um paciente como este só receberia a quimioterapia adjuvante por ter sido ultra-estadiado.

O ultra-estadiamento por meio de multisseção e imunoistoquímica foi 4-47% na revisão de Tuech *et al.* (2004); de 37,5% segundo Codignola *et al.* (2005); e variou de 0-50% na revisão de Doekhie *et al.* (2005).

Na tentativa de melhora na sensibilidade do diagnóstico e de aprimorar o estadiamento dos pacientes, são disponibilizadas técnicas de multisseções, com microscopia de várias lâminas de um mesmo linfonodo e de imunoistoquímica com citoqueratinas. As publicações tratam deste tema como micrometátases, que por definição são depósitos isolados ou grupos de células tumorais (HUVUS; HUTTER; BERG, 1971).

Na década de 80, publicações apresentando resultados conflitantes tentaram esclarecer o real papel das micrometástases na evolução da doença e na sobrevida dos pacientes com câncer de cólon. O'Brien *et al.* (1981) objetivaram melhorar o estadiamento dos linfonodos utilizando método imunoistoquímico para diagnóstico de micrometástases. Para avaliar o papel do ultra-estadiamento, 14 trabalhos foram analisados, ou seja, a presença de micrometástases foram detectadas depois da análise histológica pormenorizada dos linfonodos (multisseção e/ou imunoistoquímica) no prognóstico. Verificou-se que em cinco estudos os resultados foram favoráveis e em nove não foram observados efeitos na evolução dos pacientes (TUECH *et al.*, 2004). Wong *et al.* (2004) verificaram que nos linfonodos-sentinela há mais presença de metástases ocultas que nos não-sentinela, mas como utilizaram metodologias diferentes para exame dos linfonodos, tiveram a validade de seus achados muito questionada.

Portanto, são necessários mais trabalhos confiáveis e com grandes amostras para avaliação do real papel das micrometástases na evolução, na sobrevida e também a aplicabilidade prática, para que possa ser respondido se os pacientes operados de adenocarcinoma de cólon deveriam ou não receber terapia adjuvante nessas situações especiais (BEMBENEK *et al.*, 2007; BENDAVID *et al.*, 2002). Na literatura, o índice de ultra-estadiamento é de 0-50%, sendo muito variáveis também as formas de cálculo utilizadas pelos autores. Neste estudo,

esse índice foi 9%. Como ainda não há consenso acerca deste tema, o paciente deste trabalho está sendo acompanhado clinicamente pela coloproctologia e oncologia, sem receber quimioterapia adjuvante, apresentando boa evolução, sem sinais de recidiva local ou metástases à distância até o momento.

6.7 Linfonodo-sentinela no adenocarcinoma de reto

No presente trabalho, verificou-se mais dificuldade na dissecação e identificação dos linfonodos-sentinela no tumor de cólon sigmóide distal, mais próximo do reto, pela disposição concêntrica do mesorreto neste local, impedindo fácil visualização direta dos linfonodos.

Paramo *et al.* (2002) destacaram a dificuldade dessa técnica nos tumores de reto, onde o mesorreto é circunferencial e algumas vezes impede a identificação dos linfonodos. A posição anatômica desse segmento final do intestino na estreita pelve exige dissecação cirúrgica mais demorada e elaborada. No caso do corante azul, que apresenta rápida progressão pelos linfonodos somada às particularidades morfológicas descritas, torna-se praticamente impossível o uso desse marcador *in vivo*, já que é pouco provável identificar linfonodos corados em meio ao mesorreto em tão curto espaço de tempo (intervalo injeção-identificação é de cerca de cinco minutos).

Na linfocintilografia, quando a injeção de fármaco radioativo é realizada na submucosa do reto por via endoscópica, há tempo suficiente para que seja feita a identificação dos linfonodos, pois o radiofármaco necessita de longo tempo para progressão-fixação. Bembenek *et al.* (2005) e Kitagawa *et al.* (2002) publicaram trabalhos utilizando essa técnica no reto. Reportaram que esse procedimento é factível (sucesso na identificação de linfonodo-sentinela acima de 90%) e dependente do estadiamento tumoral, com índice de falso-negativo mais baixo nos tumores iniciais. Chamam a atenção para o fato de alguns pacientes apresentarem linfonodos captantes fora do mesorreto, alguns destes com metástases depois do exame histológico, o que caracteriza uma vantagem adicional na identificação de linfonodos metastáticos fora da área cirúrgica

planejada, necessitando de ampliação da ressecção. Este fato é raramente presenciado nos trabalhos envolvendo tumores de cólon.

6.8 Novas perspectivas

6.8.1 Linfonodo-sentinela e operação laparoscópica

Acredita-se que o padrão-ouro para aplicação da técnica de linfonodo-sentinela para tumores de cólon seja, por exemplo, para pólipos de cólon ressecados por meio de vídeocolonosopia, cuja anatomia patológica revele já se tratar de um adenocarcinoma, não se podendo descartar a possibilidade de metástases em linfonodos. Depois do diagnóstico de uma situação com a descrita, seria feita injeção de marcadores por colonoscopia e os linfonodos então identificados e retirados do mesocólon por laparoscopia. Caso não fossem encontradas metástases pela histologia desses linfonodos removidos, esse paciente seria poupado de colectomia.

A pesquisa de linfonodo-sentinela em cólon pela abordagem laparoscópica foi iniciada por Wood *et al.* (2001a; b). Até o momento, poucos trabalhos utilizaram essa técnica. Os autores descrevem que, pela laparoscopia, as substâncias poderiam ser injetadas por colonoscopia no intra-operatório ou através dos orifícios dos trocateres por onde o instrumental é introduzido. Críticas éticas são feitas a esta primeira forma, acrescentando-se mais tempo e risco adicionados pela necessidade de mais uma colonoscopia.

Bilchik *et al.* (2003), em estudo inovador, acompanharam pacientes com tumores ou pólipos malignizados de intestino grosso que foram submetidos à colectomia laparoscópica. Wood *et al.* (2001 a; b) utilizaram laparoscopia em tumores de cólon, mostrando que a identificação do linfonodo-sentinela é factível e com acurácia similar à da operação por laparotomia. Afirmam que é mais vantajosa quando utilizada em tumores pequenos e em estadios precoces.

Asao *et al.* (2003), em trabalho pioneiro para localização intra-operatória com gama-probe de pequenos tumores de estômago e intestino, administraram injeção de radiofármaco na submucosa peritumoral por via endoscópica 16 horas antes da operação. Justificaram que para ressecções

laparoscópicas em que não se pode palpar a neoplasia nem os linfonodos, essa técnica poderá ser útil quando os aparelhos e instrumentais aperfeiçoarem-se.

Trabalho experimental foi feito em nove porcos, nos quais foi testado novo marcador radioativo (*Lymphoseek*) injetado em associação com o corante azul, via colonoscopia, na submucosa do cólon do animal, a 20 cm da margem anal. Esse radiofármaco possui partículas de menor tamanho, que migram mais rapidamente pelos linfáticos, atingindo os linfonodos em aproximadamente 10 minutos, onde permanecem por cerca de três horas. Essa característica é importante, uma vez que o Tecnécio leva o dobro do tempo para atingir os linfonodos, aumentando um pouco mais o tempo cirúrgico quando é utilizado na pesquisa de linfonodo-sentinela para tumores colorretais. No momento da injeção, sonda laparoscópica especial com captador lateral de radiação (42 cm de comprimento e 11 mm de diâmetro) já estava posicionada na cavidade abdominal através de um trocater de 12 mm (WALLACE *et al.*, 2006).

6.8.2 Novo método de exame histológico

Um novo método utilizando reação em cadeia polimerase (PCR) é capaz de analisar 100% do tecido do linfonodo, aumentando, assim, as chances de detecção de células metastáticas. Mas, primeiramente, há necessidade de definir-se o papel das micrometástases para que se possa aplicá-lo de forma rotineira nos pacientes com adenocarcinoma de cólon.

Bilchik *et al.* (2001), em trial multicêntrico fase II, descreveram estadiamento histológico em nível molecular com utilização de PCR depois da identificação do linfonodo-sentinela com corante intra-operatório. A maior relevância dessa técnica é que ela utiliza todo o linfonodo para exame, ao contrário do exame de hematoxilina-eosina de rotina ou da multisseção ou mesmo da imunistoquímica, que utilizam somente partes dos tecidos.

6.8.3 Considerações finais

O Colégio Americano de Cirurgiões publicou extensa revisão a respeito do tema: linfonodo-sentinela no cólon e sua aplicação prática. Descreve toda a

literatura e mostra: a importância do estadiamento correto; ganho de sobrevida com adjuvância; número de linfonodos obtidos na peça cirúrgica influenciando sobrevida; definição anatomopatológica de micrometástase; e ainda técnicas de imunohistoquímica e PCR como sendo de alto custo e muito trabalhosas, portanto, impraticáveis para aplicação em todos os linfonodos. O azul isosulfan é o corante de escolha para tumores de cólon. Mostra reação PCR como promessa futura, pois examina o linfonodo inteiro e não somente partes dele, minimizando erros. Informa que o radiotraçador tem sido de grande utilidade quando somado ao corante, mas o custo, o tempo e a simplicidade do método, validado por grandes trabalhos multicêntricos, dão preferência ao uso apenas do azul como marcador (STOJADINIVIC *et al.*, 2005).

No presente trabalho, ficou evidente que a pesquisa de linfonodo-sentinela nos pacientes com tumores de cólon avançado não altera a conduta quanto ao tipo de linfadenectomia, que deve ser radical em todos os casos. Entretanto, é importante para aprimorar o estadiamento e racionalizar o tratamento, principalmente nos tumores em fases iniciais. Pelos resultados obtidos e as tendências das pesquisas mundiais, considera-se que este trabalho serve de base para projetos futuros e continuações com vistas a definir o impacto e o lugar do linfonodo-sentinela nos adenocarcinomas de cólon.

7 CONCLUSÕES

Diante do resultado da pesquisa de linfonodo-sentinela por meio de corante e radiofármaco no perioperatório de pacientes com adenocarcinoma de cólon, pode-se afirmar que:

- O procedimento é viável, seguro e com índice de sucesso elevado.
- A associação dos marcadores é benéfica, porém o radiofármaco é mais eficaz que o azul patente na identificação do linfonodo-sentinela.
- A linfocintilografia da peça cirúrgica é capaz de certificar a presença de captação de radiofármaco pelo linfonodo.
- A incidência de metástases linfonodais é, proporcionalmente, a mesma nos linfonodos-sentinela e não-sentinela, e falso-negativo de 33,3%. Portanto, a linfadenectomia radical deve ser usada em todos os pacientes.
- As técnicas de multisseccção e imunoistoquímica alterou o estadiamento em um dos pacientes do estudo, contribuindo para melhorar a acuidade diagnóstica de metástase linfonodal.

REFERÊNCIAS¹

¹ Conforme ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR 6023), publicada em 2007.

ASAO, T. *et al.* Intraoperative location of small gastrointestinal cancers with a handheld gamma probe. **Surg Endosc**, Chicago, v.17: p.1216-1217; 2003.

BASILIO, 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. *et al.* Ex vivo sentinel lymph node mapping in colorectal cancer. **Dis Colon Rectum**, New York, v.48: p.74-79, 2005.

BEMBENEK, A.E. *et al.* Detection of lymph node micrometastases and isolated tumor cells in sentinel and nonsentinel lymph nodes of colon cancer patients. **World J Surg**, Toronto, v.29: p.1172-1175, 2005.

BEMBENEK, A.E. *et al.* Sentinel Lymph node biopsy in colon cancer: a prospective multicenter trial. **Ann Surg**, Philadelphia, v.245: p. 864-866, 2007.

BENDAVID, Y. *et al.* 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. *et al.* 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. *et al.* Sentinel node staging of resectable colon cancer. **Ann Surg**, Philadelphia, v.240, n.4: p.624-630, 2004.

BERTOGLIO, S. *et al.* 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. *et al.* 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.

BILCHIK, A.J.; NORA, D.T. Lymphatic mapping of nodal micrometastasis in colon cancer: putting the cart before the horse? **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v.9, n.6: p.529-531, 2002.

BILCHIK, A.J. *et al.* 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., TROCHA S.D. Lymphatic mapping and sentinel node analysis to optimize laparoscopic resection and staging of colorectal cancer: an update. **Cancer Control**, New York, v.10, n.3: p.219-222, 2003.

BRAAT, A.E. *et al.* Successful sentinel node identification in colon carcinoma using patent blue V. **Eur J Surg Oncol**, Copenhage, v.30, n.6: p.633-637, 2004.

BRAAT, A.E. *et al.* Lymphatic staging in colorectal cancer: pathologic, molecular sentinel node techniques. **Dis Colon Rectum**, New York, v.48: p.371-383, 2005.

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

CABAÑAS, R.M. An approach for the treatment of penile cancer. **Cancer**, New York, v.39: p.456-466, 1977.

COCHRAN, A.J.; ROBERTS, A.A.; SAIDA, T. The place of lymphatic mapping and sentinel node biopsy in oncology. **Int J Clin Oncol**, Oxford, v.8: p.139-50, 2003.

CODIGNOLA, C. *et al.* 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. *et al.* 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. *et al.* Identification of sentinel nodes in patients with colon cancer. **Eur J Soc Oncol**, Copenhagen, v.31: p.381-385, 2005.

DAMIN, D.C. *et al.* 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. *et al.* Sentinel lymph node mapping in colon cancer: current status. **Ann Surg Oncol**, v.14: p. 1070-1080, 2007.

DEMIRBAS, S. *et al.* 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. *et al.* 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. *et al.* The feasibility and reliability of sentinel node mapping in colorectal cancer. **Eur J Soc Oncol**, Copenhagen, v.31: p.854-862, 2005.

ESSER, S. *et al.* 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. *et al.* Does immunostaining effectively upstage colorectal cancer by identifying micrometastatic nodal disease? **Int J Colorectal Dis**, Heidelberg, Original article 2006.

FEIG, B.W. *et al.* A caution regarding lymphatic mapping in patients with colon cancer. **Am J Surg**, Bethesda, v.182: p.707-712, 2001.

FEIG, B.W. *et al.* A prospective evaluation of radiocolloid and immunohistochemical staining in colon carcinoma lymphatic mapping. **Cancer**, New York, v.100: p.2104-2109, 2004.

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

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

HENSEN, D.E.; HUTTER, R.V. American Joint Commettee for Cancer. *In*: BEHARS, O.H.; MYERS, M.H. **Manual for staging of cancer**. Philadelphia: JB Lippincot, 1988, pp 75-80.

HUVOS, 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>.

JAMESON, J.K.; DOBSON, J.F. The lymphatics of the colon. **Proc R Soc Med** , Washington (Surg Section), v.2: p.149-172, 1909.

JOOSTEN, J.J.A. *et al.* Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma. **Br J Surg**, São Paulo, v.86: p.482-486, 1999.

KITAGAWA, Y. *et al.* 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.

LEVINE, E.A. *et al.* Intraoperative imprint cytology for evaluation of sentinel lymph nodes from visceral malignances. **J Gastrointest Surg**, New York, v.7, n.5: p.687-91, 2003.

LEVOYER, T.E. *et al.* Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analysed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. **J Clin Oncol**, Toronto, v.21: p.2912-2919, 2003.

MAURER, C.A. *et al.* Colon cancer: resection standards. **Tech Coloproctol**, Roma, v.8: p.S29-S32, 2004.

MERRIE, A.E.H. *et al.* Diagnostic use of sentinel node in colon cancer. **Dis Colon Rectum**, New York, v.44: p.410-417, 2001.

MÖNIG, S.P. *et al.* Preoperative lymph-node staging in gastrointestinal cancer – correlation between size and tumor stage. **Onkologie**, Huntingt, v.25: p.342-344, 2002.

MORTON D.L. *et al.* Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. **Arch Surg**, Chicago, v.127: p.392-399, 1992.

NASTRO P. *et al.* Intraoperative radiochromoguided mapping of sentinel lymph node in colon câncer. **Tumori**, Milão, v.88: p.352-353, 2002.

O'BRIEN M.J. *et al.* Immunocytochemical localization of carcinoembryogenic antigen in benign and malignant colorectal tissues. Assesment of diagnostic value. **Am J Clin Pathol**, Chicago, v.75: p.283-290, 1981.

OMGO E.N.; PIETER J.T.; BIN B.R.K. The definition of a sentinel node. **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v.8, n.6: p.538-541, 2001.

OTA, M.D. 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. 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, *et al.* Validation of sentinel node mapping in patients with colon cancer. **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v.9, n.6: p.550-554, 2002.

PATTEN, L.G. *et al.* A prospective evaluation of radiocolloid and immunohistochemical staining in colon carcinoma lymphatic mapping. **Cancer**, New York, v.100: p.2104-2109, 2004.

POCARD, M. *et al.* Ex vivo sentinel lymph node study for rectal adenocarcinoma: preliminary study. **World J Surg**, Toronto, v.29: p.1160-1170, 2005.

POCARD, M. *et al.* Sentinel lymph node sampling and analysis in colon cancer: what is the question. **J Clin Oncol**, Toronto, v. 24(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. *et al.* 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. *et al.* Number of dissected lymph nodes in colorectal cancer patients submitted to radical surgery: the quality of oncology treatment. **Applied Cancer Research**, Frankfurt, v.26, n.1: p.27-33, 2006.

SAHA, S. *et al.* Technical details of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer and its impact on staging. **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v.7, n.2: p.120-4, 2000.

SAHA S. *et al.* 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, 2004a.

SAHA, S. *et al.* Sentinel lymph node mapping technique in colon cancer. **Semin Oncol**, Philadelphia, v.31, n.3: p.374-381, 2004b.

SAHA, S. *et al.* 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.

SILVA, L.B., *et al.* Sentinel node detection in cervical cancer with (99m)Tc-phytate. **Gynecol Oncol**, New York, v.97: p. 588-595, 2005.

SMITH, A.J. *et al.* 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. *et al.* Ex vivo sentinel lymph node mapping in colon cancer: improving the accuracy of pathologic staging? **Am J Surg**, Bethesda, v.191: p.665-68, 2006.

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.

STEWARD, J.A.; RANKIN. F.W. Blood supply of the large intestine. Its surgical considerations. **Arch Surg**, Chicago, v.26: p.843-891, 1933.

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.

STOJADINIVIC, A. *et al.* Colon sentinel lymph node mapping: practical surgical applications. **J Am Coll Surg**, New York, v: p.297-312, 2005.

TIFFET, O. *et al.* 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.

TROCHA, S.D. *et al.* Combination probe and dye-direct lymphatic mapping detects micrometástases early colorectal cancer. **J Gastrointest Surg**, New York, v.7: p.340-346, 2003.

TSCHEMELITSCH, J.; KLIMSTRA, D.S.; COHEN, A.M. Lymph node micrometástases do not predict relapse in stage II colon cancer. **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v.7: p.601-608, 2000.

TUECH, J.J. *et al.* Sentinel lymph node mapping in colon cancer. **Surg Endosc**, Copenhagen, v.18: p.1721-1729, 2004.

TUECH, J.J. *et al.* Sentinel node mapping in colon carcinoma: in-vivo versus ex-vivo approach. **Eur J Soc Oncol**, Copenhagen, v.32: p.158-161, 2006.

VIEHL, C.T. *et al.* Identification of sentinel lymph nodes in colon cancer depends on the amount of dye injected relative to tumor size. **World J Surg**, Toronto, v.27, n.12: p.1285-1290, 2003.

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.

WALLACE A.M. *et al.* Minimally invasive sentinel lymph node mapping of the pig colon with lymphoseek. **Surgery**, Saint Louis, v.139: p.217-223, 2006.

WATERS, G.S. *et al.* Sentinel lymph node mapping for carcinoma of the colon: pilot study. **Am Surg**, Atlanta, v.66, n.10: p.943-946, 2000.

WEINBERG, J. *et al.* The use and toxicity of pontamine sky blue. **Science**, Washington, v.114: p.41-42, 1951.

WOLMARK, N. *et al.* 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. *et al.* 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. *et al.* Impact of the number of negative nodes on disease-free survival in colorectal cancer patients. **Dis Colon Rectum**, New York, v.45: p.1341-1348, 2002.

WONG, J.H. *et al.* 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.

WOOD T.F. *et al.* Validation of lymphatic mapping in colorectal cancer: in vivo, ex vivo, and laparoscopic techniques. **Ann Surg Oncol**, Philadelphia, v,8: p.150-7, 2001a.

WOOD T.F. *et al.* Lymphatic mapping improves staging during laparoscopic colectomy for cancer. **Surg Endosc**, Copenhagen, 15:715-719, 2001b.

YAGCY, G. *et al.* 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.

ZUBER M. *et al.* 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.

ANEXO E APÊNDICES

Anexo A – Pareceres éticos

Câmara Departamental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina

UFMG UFMG UFMG UFMG	FACULDADE DE MEDICINA DA UFMG DEPARTAMENTO DE CIRURGIA Av. Prof. Alfredo Balena 190 - 4º andar Caixa postal 340 - cep 30130-100 31-3248-9759 e 3248-9760 (telexfax)	CIR
------------------------------	---	------------

Belo Horizonte, 15 de novembro de 2005.

PARECER

Assunto: Projeto de Pesquisa (Dissertação de Mestrado)

Título do Projeto: "Pesquisa de linfonodo sentinela e estudo anátomo-patológica comparativa em pacientes com adenocarcinoma do cólon".

Pesquisadores:

- Tarcizo Afonso Nunes (Orientador)
- Alberto Julius Alves Wainstein (Co-orientador)
- Antonio Hilário Alves Freitas (Mestrando)

Histórico / Mérito

Trata-se de projeto de pesquisa a ser desenvolvido como Dissertação de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG.

A pesquisa será desenvolvida no Hospital Alberto Cavalcante, instituição pública estadual de saúde pertencente à rede FHEMIG, que oferece todos os requisitos necessários à realização do presente trabalho. Há participação de uma equipe multidisciplinar e todos os recursos estão assegurados pelos pesquisadores, sem ônus adicional à Instituição. Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FHEMIG em abril/2005.

O trabalho é um estudo transversal com o objetivo de se avaliar a viabilidade de identificação de linfonodos sentinelas no adenocarcinoma de cólon, com utilização de corante e radiofármaco, possibilitando comparação entre os três métodos de exame anátomo-patológico: rotina, multiseção de linfonodos e imuno-histoquímico.

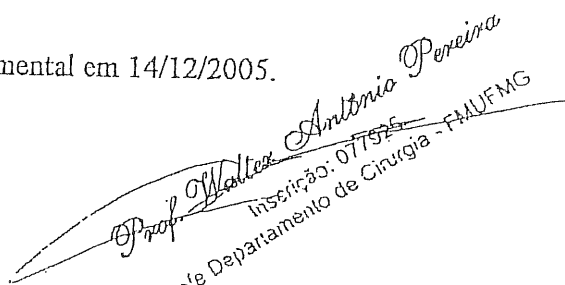
Estima-se que o número de pacientes necessários para compor a casuística seja de 30, com base em dados da literatura. Assim, a conclusão da pesquisa está prevista para fevereiro/2007.

O projeto de pesquisa apresenta metodologia correta e poderá contribuir, na prática clínica, com um melhor estadiamento dos pacientes portadores de adenocarcinoma de cólon, e que, conseqüentemente, se beneficiarão de terapia adjuvante, quando necessária, com aumento da sobrevida.

Conclusão

O projeto de pesquisa está corretamente elaborado, sendo de grande relevância para a prática oncológica. Portanto, sou favorável à aprovação do referido projeto, sem ressalvas.

Parecer aprovado pela Câmara Departamental em 14/12/2005.


 Prof. Dr. Walter Antonio Pereira
 Inscrição: 07575
 Chefe Departamento de Cirurgia - FMUFG

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG)

FHEMIG
FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO
ESTADO DE MINAS GERAIS

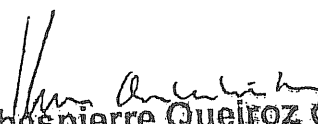
Parecer n° 290

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 adenocarcinoma 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

Alameda Álvaro Celso, 100 - Santa Efigênia - Belo Horizonte/MG
CEP 30.150-260 - Fone (0XX31) 3239-9500 - Fax (0XX31) 3239-9579 - Caixa Postal 1283

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.


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

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 6627 – 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 em manter a confiabilidade.

Você concorda que qualquer dano físico ou psicológico causado pelo tratamento em questão receberá atendimento clínico no Hospital Alberto Cavalcanti. Em nenhuma hipótese será oferecida compensação financeira.

Você está ciente de que este é um estudo em que não se pode predizer 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 independente 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 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 aumento da sobrevida dos pacientes com adenocarcinoma de cólon.

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

deste quadro, o projeto propõe um estudo com o objetivo de se avaliar a viabilidade da identificação de linfonodos sentinelas no adenocarcinoma de cólon com a utilização de corante e rádio fármaco, possibilitando a comparação entre os métodos de exame anátomo-patológico de rotina, com multisseção e imunoistoquímico.

Descrição dos procedimentos

As cirurgias serão executadas pelo investigador deste projeto, médico efetivo do Hospital Alberto Cavalcanti. 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 radio-traçador (^{99}Tc -Fitato) e do corante azul (azul patente) na subserosa do intestino.
- Após 5-10 min da injeção do azul, detecta-se o corante nos linfonodos sob visão direta.
- Após 20 min da injeção do radiofármaco, detecta-se a radiação gama depositada em linfonodos captantes (sentinelas) por sonda captadora de radiação.
- Prossegue-se a cirurgia de colectomia com linfadenectomia e retira-se a peça cirúrgica.
- Laparorrafia.
- Com o cólon retirado, procede-se à captação de imagens cintilográfica dos linfonodos na gama-câmara.
- 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 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.

A dose de radiação será de 1,2 mCi/0,8 ml, segundo os proponentes, abaixo dos limites do CNEN (Comissão Nacional de Energia Nuclear) e da ANEA (Agência Nacional de Energia Atômica).

Custos potenciais para você

Trata-se de um estudo investigacional, sem nenhum 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, qual a magnitude destes benefícios. Se durante este estudo novas modalidades de tratamento mostrarem-se melhor para o seu caso, este tratamento será interrompido e estas 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 destes 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 nenhuma maneira. Você não será penalizado ou perderá benefícios por não participar deste estudo.

Caso você decida a participar deste estudo, você poderá a qualquer momento desistir e cancelar seu termo de consentimento informado. Esta 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

TABELA 7

Resultados

Paciente	Tamanho do tumor (cm)	Local Tumor Cólon	LNS azul	LNS radio	Imagem LN	Total LN	Metas em LNS (H-E)	Metas em LNNS (H-E)	Estadio TNM	MS	IQ
1-EPR	6,5	direito	01	04	Sim	12	00/04	00/08	II	Negativa	Negativa
2-MJC	5	sigmóide	00	00	Sim	14	00/00	01/14	III	NR	NR
3-GFL	5,5	direito	01	02	Nr	12	00/02	00/10	II	Negativa	Negativa
4-GAS	7	direito	00	01	Nr	14	01/01	02/13	III	NR	NR
5-MAR	4	direito	03	01	Sim	09	03/03	00/06	III	NR	NR
6-VLM	5	esquerdo	04	04	Sim	12	00/04	00/08	II	Positiva	Positiva
7-MJD	3,5	sigmóide	00	01	Sim	12	01/01	08/11	III	NR	NR
8-PAS	3,5	esquerdo	01	01	Não	06	00/01	00/05	II	Negativa	Negativa
9-RCSJ	4	sigmóide	04	04	Sim	14	00/04	01/10	III	NR	NR
10-ANF	4	esquerdo	03	03	Sim	13	00/03	00/10	II	Negativa	Negativa
11-ALM	4	sigmóide	02	02	Sim	15	00/03	00/12	II	Negativa	Negativa
12-MLCS	6	direito	02	04	Sim	15	01/04	05/11	III	NR	NR
13-COM	2	direito	04	04	Sim	24	00/04	00/20	I	Negativa	Negativa
14-ROG	2	esquerdo	00	00	Sim	07	00/00	00/07	I	Negativa	Negativa
15-SAS	4	direito	01	04	Sim	24	00/04	00/20	II	Negativa	Negativa
16-JRA	4	sigmóide	02	02	Sim	04	00/02	00/02	II	Negativa	Negativa
17-ACC	6	sigmóide	00	02	Nr	16	00/02	07/14	III	NR	NR
18-MVA	6	direito	01	04	Sim	15	00/04	00/11	II	Negativa	Negativa
Total			29	43		238	06/46	24/192			

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, Radio = captante de radiofármaco.