





*Maria Gabriela Castellón Valadas*

**Gânglio Sentinela na Mama**  
**Modelo Experimental**

*Experimental Model on Breast Sentinel Node*

Coimbra 2010

Titulo: ***Gânglio Sentinela no Tumor da Mama Modelo Experimental***

Autor: ***Maria Gabriela Castillon Valadas***

Impressão e acabamento: NC & G - Design, Fotografia e Publicidade, Lda  
Rua Fr. Manuel Sepulcro 38 R/C - 8 500 Portimão

Edção: Setembro de 2010

Dissertação de Mestrado em Patologia Experimental apresentado à Faculdade  
de Medicina da Universidade de Coimbra

**Trabalhos realizados nos:**

**- Instituto de Patologia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra**

(Director - Professor Doutor António Manuel Silvério Cabrita)

**- Serviço de Anatomia Patológica do Hospital do Barlavento Algarve**

(Director - Professor Doutor Jose Parra-Martin)

Sob Orientação dos Professores Doutores:

António Manuel Silvério Cabrita  
Paula Manuela de Castro Cardoso Pereira



*À minha Família  
fonte de inspiração*





## ÍNDICE:

Prólogo . . . . .	vii
<b>I. O TUMOR DA MAMA</b>	
Epidemiologia . . . . .	1
Abordagem terapêutica ao longo dos tempos . . . . .	3
Do papiro de Herbes a Halsted . . . . .	3
O aparecimento da quadrantectomia . . . . .	5
Terapêutica conservadora e emergência do gânglio sentinela . . . . .	7
A tomada de consciência do papel do sistema linfático e drenagem da mama. . . . .	9
A importância do estadiamento axilar . . . . .	12
Métodos para estadiamento axilar . . . . .	12
Corante vital . . . . .	12
Radiocoloide . . . . .	14
Técnica mista . . . . .	15
Gânglio sentinela no tumor da mama, onde estamos nós? . . . . .	18
<b>II. MODELOS ANIMAIS DE GÂNGLIO SENTINELA (GS).</b> . . . . .	21
<b>III. CRIAÇÃO DE MODELO EXPERIMENTAL DO GS MAMARIO NO RATO</b> . . . . .	25
Modelo Experimental do GS mamario . . . . .	31
Objectivos do trabalho . . . . .	32
Materiais e Métodos . . . . .	33
Resultados . . . . .	35
Identificação do gânglio sentinela . . . . .	35
Wistar . . . . .	47
Sprague-Dawley . . . . .	48
Histologia do modelo . . . . .	39
Imunocitoquímica . . . . .	42
Parâmetros hematológicos . . . . .	53
Discussão . . . . .	55
Conclusões . . . . .	62
<b>IV. FUTURAS DIRECÇÕES</b> . . . . .	67
<b>V. REFERENCIAS</b> . . . . .	71



# PRÓLOGO

## *Forward*

A cirurgia do tumor da mama durante todo o século XX e início do presente XXI, incluía sempre o esvaziamento axilar homolateral para fins diagnósticos, de estadiamento, prognóstico e terapêutico. Esta preocupação com a metástase linfática regional incluía sempre a sua remoção fazendo parte da radicalidade do tratamento. O aferimento axilar de metástases ganglionares fazia prever o risco de metastização de órgãos à distancia. Compreender e relacionar os dados dos gânglios linfáticos com os fenómenos de metastização à distancia e as suas implicações na sobrevida é uma preocupação antiga. Mas, à medida que o conhecimento desta patologia aumentou, a percepção da necessidade de radicalidade do tratamento também se foi alterando. Várias opções de tratamento cirúrgico ao longo do século, foram descritas. Mas, se no fim do século XX já era possível conservar eficazmente a mama, era lógico que a forma de aferir o status ganglionar da axila teria que igualmente mudar, face à enorme morbilidade que o esvaziamento axilar pode acarretar.

Entrámos numa época onde o desenvolvimento de técnicas de imagiologia permitem diagnosticar com segurança um maior número de tumores em estádios precoces mesmo infra-clínicos. Nestas circunstâncias um maior número (cerca de 60%) de linfadenectomias totais axilares revelaram-se negativas. E poderiam ter sido evitadas. O dilema colocava-se entre mastectomizar com esvaziamento axilar e sobretratar ou, conservar e arriscar recorrências.

A biopsia do gânglio sentinela (BGS) no tumor da

Breast cancer surgery throughout all of the 20th century and the beginning of the 21st century has always included axillary dissection for diagnostic, staging, prognostic and therapeutic purposes. The concern with regional lymphatic metastization has always included its removal as part of a radical treatment. The detection of axillary node metastases raised the risk of metastases to far reaching organs. Understanding and relating the data on lymphatic node with long distance metastatic phenomenon and its implications on survival is an old concern.

But as knowledge of breast cancer has increased, the need for radical treatment has also changed. Various options for surgical treatment throughout the century have been described. But, if at the end of the 20th century it was possible to effectively save the breast, it stood to reason that the evaluation of the status of the axilla would equally have to change when faced with important morbidity from axillary dissection.

With recent development of better imaging techniques, reliable diagnosis of a large number of tumours in early stages and even non-palpable is now possible. Of these, a large number of lymph node dissections (approximately 60%) have proved to be negative and the extensive surgery could have been avoided. The dilemma has become whether to mastectomize with axillary dissection and over treat or breast conserve and risk recurrence.

Sentinel node biopsy (SNB) in breast cancer supported the understanding that some surgeons had that axillary dissection should not be considered

mama veio de encontro ao entendimento que alguns cirurgiões tinham de que o esvaziamento axilar não deveria ser encarado como parte do tratamento curativo, mas antes como um procedimento para estadiar e obter a máxima informação prognóstica. Hoje a biopsia do gânglio sentinela no tumor da mama é um paradigma que se impôs e muitas questões emergem desta recente prática corrente. Modelos pré-clínicos são fundamentais para resposta a estas questões. E, de preferência, modelos esses onde se possam constituir grupos suficientemente grandes para resposta às questões em estudo, onde se possa estudar o processo de carcinogénese. Tumores da mama quimicamente induzidos no animal, permitem este desenvolvimento de modelos de estudo de fenómenos ligados ao cancro da mama e gânglio sentinela no pequeno animal. Assim este trabalho de Mestrado em Patologia Experimental com a caracterização do modelo de gânglio linfático mamário no rato pretende ser um contributo para a unificação de conceitos sobre o papel dos gânglios linfáticos e a metastização tumoral no tumor da mama.

part of the treatment but rather simply a procedure for staging to obtain the greatest amount of prognostic information.

Today the implementation of the SNB procedure in breast cancer is considered a paradigm, but as a recent technique, it has raised numerous questions. Many of the questions are molecular, mechanical and anatomical in origin.

Pre-clinical models may prove to be fundamental in answering these questions. Preferably group models large enough to answer the questions under study and where the mechanism of carcinogenesis can be reviewed. Chemically induced breast tumours in animals allow for the development of study models of breast cancer phenomena and the sentinel node in the small animal.

This thesis, towards a Master's in Experimental Pathology on the characterization of the breast sentinel node model in the rat, is an effort to contribute towards the unification of concepts of the role of lymph nodes and tumour dissemination in breast cancer.

Setembro 2010





# I. O TUMOR DA MAMA

## *I. Breast Cancer*





# I. O TUMOR DA MAMA

## I. *Breast Cancer*

### Epidemiologia

### *Epidemiology*

#### **A realidade mundial**

O tumor da mama é o tumor mais frequente a nível mundial na mulher. A sua incidência está acima de 1 em cada 5 tumores. Por tudo o mundo existem cerca de 1.35 milhões de novos casos de tumor da mama todos os anos e acredita-se que existem cerca de 4.4 milhões de mulheres vivendo com tumor da mama.

No mundo as regiões com maior incidência (80-90/100 000) são observadas na América do Norte, em regiões da América do Sul, incluindo Brasil e Argentina, em países da Europa Ocidental e do Norte, bem como na Austrália, figura 1. É um tumor com uma incidência em crescimento em regiões onde anteriormente verificávamos baixas incidências, como é o caso da Ásia oriental. Embora a incidência global tenha aumentado anualmente aproximadamente 0.5%, desde 1990, as taxas de tumor da mama no Japão, Singapura e Coréia do Sul duplicaram ou mesmo triplicaram nos últimos 40 anos. Nas regiões urbanas da China documenta-se 20% a 30% de aumento só na última década. 9

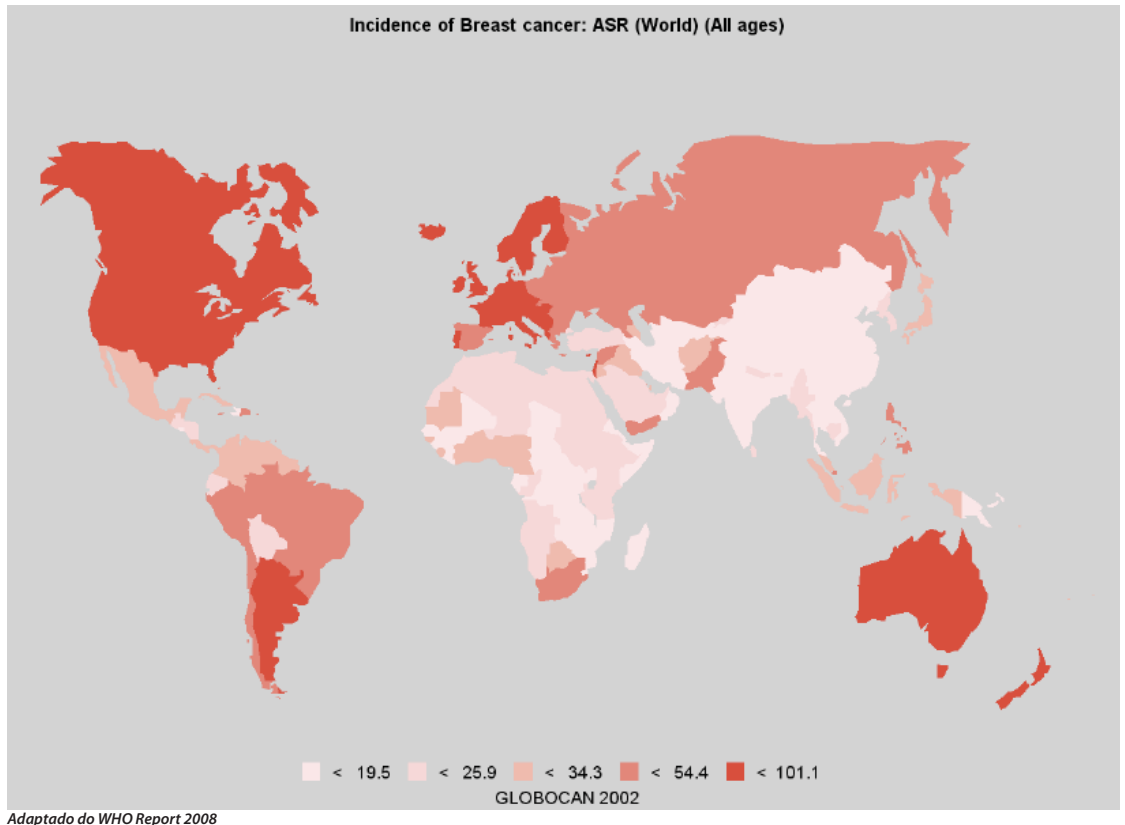
Apesar das taxas de mortalidade se mantiveram relativamente estáveis entre 1960 e 1990 na maior parte da Europa e América, com um declínio

#### *Worldwide reality*

*The breast tumor is the most common tumor in women worldwide. Its incidence is above 1 in 5 tumors. There are 1.35 million new cases Every year, and about 4.4 million women are Believed to Be living with breast cancer.*

*Regions with the highest incidence throughout the world (80-90/100 000) are observed in North America, in parts of South America, including Brazil and Argentina, countries in Western Europe and North America, as well as in Australia, figure 1. This tumor's growth is focusing on regions where previously checked had low incidences, such as East Asia. Although overall breast cancer incidence rates have increased by approximately 0.5% annually since 1990, breast cancer rates in Japan, Singapore, and Korea Have doubled or tripled in the past 40 years, and China's urban registries document a 20% to 30% Increases in the past decade alone. 9*

*Although mortality rates have remained relatively stable between 1960 and 1990 in most of Europe and América, as the subsequent decline and the fact that we are faced with an aging population causes the tumor of the breast and this is one of the pathologies that presents the most relevant for the future.*



Adaptado do WHO Report 2008

**Fig. 1**  
**Distribuição mundial da incidência do tumor da mama**

*Worldwide distribution of the incidence of breast tumors*

posterior, o facto de estarmos confrontados com um envelhecimento da população, faz com que o tumor da mama, seja uma das patologias que se apresenta das mais relevantes para o futuro.

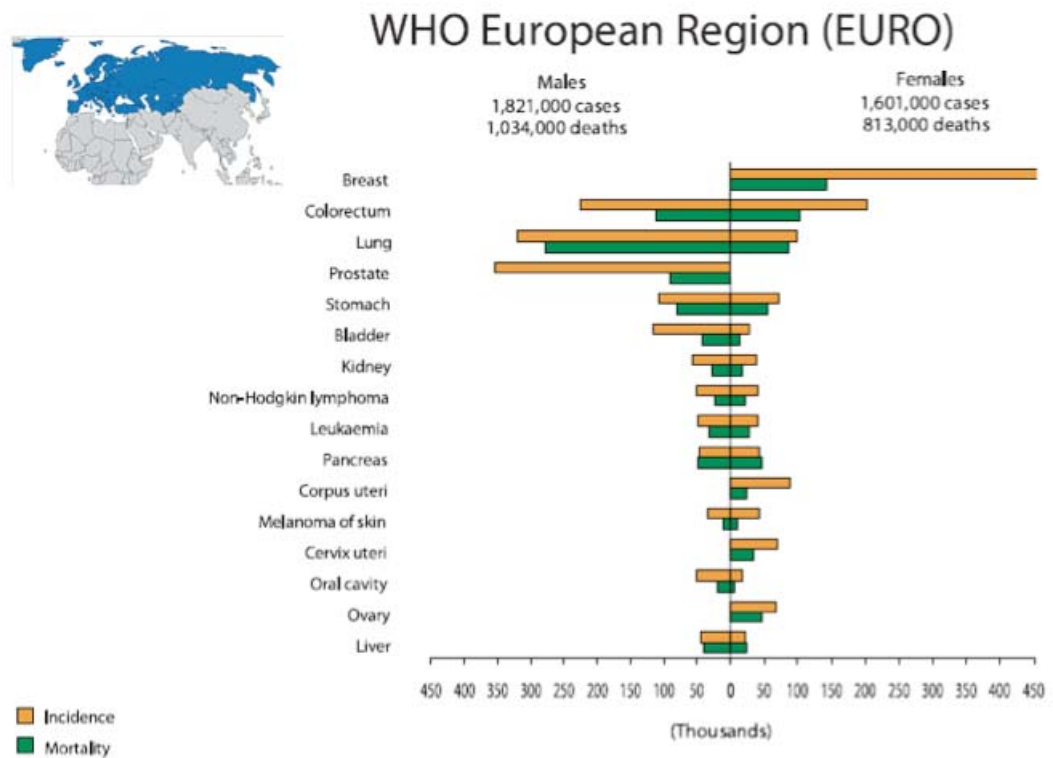
Em termos globais a imensa carga a todos os níveis, provocada pelos tumores está em crescimento. A International Agency for Research on Cancer (IARC) lançou recentemente o seu 2008 World Cancer Report que mostra que a carga mundial com a patologia oncológica duplicou entre 1975 e 2000, sendo esperado que duplique novamente em 2020 e triplique sensivelmente cerca de 2030. (Ref)

Muito recentemente, em Agosto de 2010, foi verificado que o tumor corresponder à patologia que no mundo mais consome recursos económicos, bem como a que mais provoca mortes. (Ref)

A influencia da religião nos padrões de tumor da mama vem merecendo alguns estudos. A religião pelos ensinamentos e usos que transmite estabelece estilos de vida, hábitos alimentares bem como toda uma série de outras características que poderão ter alguma influencia no aparecimento desta patologia. Estudos epidemiológicos realizados na Índia mostraram

*Overall stress levels caused by tumors is growing. The International Agency for Research on Cancer (IARC) has released ITS 2008 World Cancer Report, Which shows That the Global Burden of cancer doubled Between 1975 and 2000 and is expected to double again by 2020 and “nearly triple by 2030. (Ref)*

*The tumor was recently found to correspond to the condition that the world consumes more economic resources, as well as that causes more deaths. (Ref) Epidemiological studies carried out in India have shown variation in the incidence of breast cancer among different religious groups such as Hindus, Muslims, Christians, Parsi and Buddhists. Breast cancer incidence by religion for greater Bombay population indicated highest incidence rates among Parsis and Christians and lowest rates among Jains and Buddhists(REF sax). Others studies have shown rates to be highest among Christians followed by Hindus and Muslims. Paymaster et al [14], in an analysis of hospital cancer cases by major religious groups have shown the variation in relative frequency between religious groups and in particular, high percentage among Parsi women compared to other religious communities. The reason for high incidence of breast cancer in Parsi*



**Fig. 2**  
**Distribuição dos tumores por localização na Europa do Euro**  
*Distribution of tumors by location in Europe for the Euro*

Adaptado do WHO Report 2008

variação na incidência de tumor da mama entre os diferentes grupos religiosos, como hindus, muçulmanos, cristãos, budistas e Parsi. A incidência de tumor da mama pela religião na população Bombaim mostrava maiores taxas de incidência entre os parsis e cristãos e taxas mais baixas entre os jainistas e budistas (saxREF). Outros estudos têm mostrado taxas mais altas entre os cristãos, seguido por hindus e muçulmanos. Paymaster et al [14], numa análise hospitalar dos casos tumor por grandes grupos religiosos têm demonstrado a variação na frequência relativa entre grupos religiosos e, em particular, a percentagem elevada entre as mulheres Parsi. A razão para a alta incidência de tumor da mama na comunidade Parsi é o resultado de seu estilo de vida mais ocidentalizado, património genético conservado com a alta frequência de casamentos consanguíneos e maior idade no momento do casamento e nascimento da criança [28]. Este aspecto de factores de estilo de vida, estilo de vida ocidentalizado, está intimamente associado a alguns hábitos alimentares. A título de exemplo Pereira reportou recentemente que em modelo experimental de tumor da mama induzido no rato com DMBA o volume das lesões

community is as a result of their more westernized life-style, conserved genetic pool, high frequency of consanguineous marriages and higher age at the time of marriage and child birth [28]. Este aspecto de lifestyle factors, westernized lifestyle is intimately associated with some dietary habits. The influence of religion in patterns of breast cancer vem merecendo alguns estudos. A religião pelos ensinamentos e usos que transmite estabelece estilos de vida, hábitos alimentares bem como toda uma série de outras características que poderão ter alguma influencia no aparecimento desta patologia. Epidemiological studies carried out in India have shown variation in the incidence of breast cancer among different religious groups such as Hindus, Muslims, Christians, Parsi and Buddhists. Breast cancer incidence by religion for greater Bombay population indicated highest incidence rates among Parsis and Christians and lowest rates among Jains and Buddhists(REF sax). Others studies have shown rates to be highest among Christians followed by Hindus and Muslims. Paymaster et al [14], in an analysis of hospital cancer cases by major religious groups have shown the variation in relative frequency between religious groups and in particular, high percentage among Parsi women

são significativamente menores se na alimentação dos animais for suplementada com azeite. Um outro campo certamente com grande potencial de investigação.

Para se perceber qual a realidade e especificidade do problema do tumor da mama em Portugal, é importante verificar as características e diferenças que esta patologia assume nas várias regiões a nível global.

### **Europa**

Na Europa o tumor da mama é igualmente o tumor mais frequente na mulher, sendo responsável por 28.9 % de todos os casos de tumor que a atinge. Existem na Europa grandes diferenças na incidência desta patologia. Verificamos altas incidência na Europa ocidental e do norte, Holanda (91.6/105), Dinamarca (86.2/105), França (83.2/105), Bélgica (82.2/105), e Suécia (81.0/105). Na Europa do Leste assistimos a uma incidência menor com Macedónia (38.7/105), Lituânia (39.8/105), ou Estónia (45.4/105). Com o incremento do diagnóstico nas formas precoces nos casos diagnosticados o tumor da mama tornou-se, como já vimos, tornou-se o tumor mais diagnosticado na Europa.

No caso da União Europeia (UE) num estudo que fornece estimativas actualizadas do peso da patologia oncológica na União Europeia (25 Estados-Membros), prevê-se que o número absoluto de mortes por tumor em 2015 vai aumentar, e podemos ver, dados a partir de 2006, que nas mulheres o tumor da mama, foi de longe a forma mais comum de tumor (30,9% do total de casos), e foi igualmente a principal causa de mortalidade pelos tumores (16.7%). Temos pois que esta patologia na UE, relativamente à Europa, assume ainda uma maior expressão e na figura 2 verificamos a incidência e mortalidade dos tumores nos países do Euro.

### **Estados Unidos da América**

A doença oncológica é um problema sério de saúde pública nos Estados Unidos, actualmente, 1 em 4 mortes nos Estados Unidos é devido a tumores. Cada ano, a Sociedade de Cancro Americana estima o número de novos casos de tumores e mortes esperadas nos Estados

compared to other religious communities. The reason for high incidence of breast cancer in Parsi community is as a result of their more westernized life-style, conserved genetic pool, high frequency of consanguineous marriages and higher age at the time of marriage and child birth [28].

*Este aspect de lifestyle factors, westernized lifestyle is intimately associated with some dietary habits.*

*This aspect of lifestyle factors, westernized lifestyle, is closely associated with some eating habits. As an example Pereira reported recently that in an experimental model of breast tumor induced in rats with DMBA the volume of the lesions are significantly smaller in the animal feed is supplemented with olive oil. Another field certainly with great research potential. To find out the reality of breast tumors in Portugal, it is important to study the characteristics and differences that this disease takes in various regions globally.*

### **Europe**

*In Europe, the breast tumor is also the most frequent tumor in women, being accounted for 28.9% of all cases of tumors in women. There are big differences in Europe in the incidence of this disease. We observed high incidence in western Europe and northern Netherlands (91.6/105), Denmark (86.2/105), France (83.2/105), Belgium (82.2/105), and Sweden (81.0/105.) In Eastern Europe witnessed a lower incidence with Macedonia (38.7/105), Lithuania (39.8/105) or Estonia (45.4/105). With the continuous increase of early diagnosed cases, breast cancer has become now, as we have seen, the most common form of cancer diagnosed in Europe. In the case of the European Union (EU) In the study that provides updated estimates of the burden of cancer in EU (25 Member States) predicts that the absolute numbers of cancer deaths in 2015 will increase, we can and see, date from 2006, that in women, breast cancer was by far the most common form of cancer (30.9% of all incident cases), and was ranked the leading cause of cancer death (16.7%). So we have this pathology in the EU, in relation to Europe is even greater expression in Figure 2 and found the incidence of tumors and mortality in countries of the Euro..*

### **Estados Unidos da América**

*Cancer is a major public health problem in the United States, currently, 1 in 4 deaths in the United States is due to cancer. Each year, the American*

Unidos, fornecendo uma estimativa actual da dimensão do impacto desta patologia. Entre as mulheres, em 2010, os 3 tipos mais comumente diagnosticados do tumor serão da mulher, pulmão, e colórectais, correspondendo a 52 % do total dos casos previstos em mulheres.

Espera-se que o cancro da mama, o mais comum diagnosticado em mulheres nos Estados Unidos, corresponda a 28 % de todos os novos casos entre as mulheres. Hoje, nos USA, a probabilidade de aparecimento de tumor da mama do nascimento até à morte é de uma em cada oito mulheres.

A exemplo de outras regiões do mundo assiste-se a um decréscimo na incidência do tumor da mama desde 1999 o que em larga medida reflecte a descontinuidade do uso da hormonoterapia pós menopausa iniciada em 2001, and it may also reflect delayed diagnosis due to decreased mammography use.<sup>19-20</sup> No entanto, uma observação detalhada da incidência ano a ano mostra que após uma diminuição de 6% 2002 a 2003, a incidência de 2003 a 2006 mantêm-se relativamente inalterada.

### Países em vias de desenvolvimento

Num recente editorial da Lancet estimava-se que a 1.7 milhões de mulheres serão diagnosticadas tumor da mama em 2020 – um incremento de 26% dos níveis actuais – na maioria dos casos à custa dos países em vias de desenvolvimento (Ref). Neste trabalho pode-se verificar que o tumor da mama é actualmente a principal causa de tumor nas mulheres dos países do Sudeste Asiático. Na Ásia Oriental é a segunda causa apenas ultrapassado pelo tumor do estômago e na Ásia Centro-Sul pelo tumor do cervix. Na Índia, cerca de 100 000 mulheres são diagnosticadas com tumor da mama anualmente e estima-se um crescimento para 131 000 casos para o ano 2020. Dos custos associados à terapêutica dos tumores, presentemente só 5% destes recursos necessários são gastos nos países em vias de desenvolvimento. Em 2009, esta patologia a nível mundial motivou custos de US\$286 biliões, correspondendo a US\$28 biliões a fatia para o tumor da mama. Para os países em vias de desenvolvimento os recursos apropriados implicariam US\$26 biliões, muito longe do que actualmente existe. (Ref) Naturalmente que nos países com recursos financeiros limitados para os cuidados de

*Cancer Society estimates the number of new cancer cases and deaths expected in the United States to provide an estimate of the current cancer burden. Among women in 2010 the 3 most commonly diagnosed types of cancer will be cancers of the breast, lung/bronchus, and colorectum, accounting for 52% of estimated cancer cases in women.*

*Breast cancer alone, the most common cancer diagnosed in US women, is expected to account for 28% of all new cancer cases among women. Hoje, nos USA, a probabilidade de aparecimento de tumor da mama do nascimento até à morte é de uma em cada oito mulheres.*

*Like other regions of the world is seeing a decline in the breast cancer incidence rate since 1999 likely reflects the large discontinuity in the use of menopausal hormone therapy among postmenopausal women beginning in 2001, and it may also reflect delayed diagnosis due to decreased mammography use.<sup>19-20</sup> However, close inspection of incidence data by individual year shows that after a 6% decrease from 2002 to 2003, incidence rates from 2003 to 2006 remained relatively unchanged*

### Developing world

*A recent editorial by Lancet estimated that 1.7 million women will be diagnosed with breast cancer in 2020 - a 26% increase from current levels - mostly in the developing world. In this case we can verify that breast cancer is already the leading cause of cancer in southeast Asian women, and is second only to gastric cancer in east Asian women, and to cervical cancer in women in south-central Asia. In India, almost 100 000 women are diagnosed with breast cancer every year, and a rise to 131 000 cases is predicted by 2020.*

*Given the costs associated with tumors therapy, currently only 5% of these resources are spent in developing countries. In 2009, this disease on a global level led to a \$ 286 billion cost, with \$ 28 billion representing a slice of breast tumor. For developing countries, the adequate resources would require to be \$ 26 billion, far from that what currently exists. (Ref)*

*Of course in Countries with limited health-care resources, breast cancer outcomes are not the same than indeveloped countries. The 5-year survival can range from 85% to 55%.*

País/Country	Incidência Tx padronizada ASR (rate) W per 100 000	População em milhares Population (thousands)		
		M	F	M/F
Angola	19	8883	9137	18020
Brasil	43	94576	97395	191971
Cabo Verde	24	238	260	498
Guiné-Bissau	24	780	795	1575
Portugal	60	5169	5507	10677
Moçambique	13	10870	11512	22382

saúde os outcomes no tratamento dos países desenvolvidos não são os mesmos que para os países em vias de desenvolvimento. A sobrevida aos 5 anos pode variar de 85% a 55%.

### Portugal e Países de língua portuguesa

A website cancermondial (REF) com informação da IARC (International Agency for Research on Cancer), fonte da Organização Mundial de Saúde acerca da informação dos tumores, dá acesso a uma séria de bases de dados, com informação do panorama oncológico mundial.

Se verificarmos o quadro feito a partir deste website verificamos que nos países de língua portuguesa, o tumor da mama é o tumor mais frequente na mulher em Portugal e no Brasil, Quadro 22. Em Angola, Cabo Verde, Guiné-Bissau e Moçambique é o segundo tumor de maior incidência sendo ultrapassado pelo do cervix.

Tanto em Portugal como no Brasil, apesar da grande diferença territorial entre os dois países, existe uma diferença marcada na incidência do tumor da mama pelas várias regiões dos países. No Brasil a neoplasia de mama é a mais frequente na região Sudeste, com 73 casos novos por 100.000 mulheres, assim como nas regiões Sul (71/100.000), Centro-Oeste (38/100.000) e Nordeste (27/100.000). Na região Norte é o segundo tumor mais incidente, com 15 casos novos por 100.000 mulheres. (Ref Gerbim). No Brasil, para uma população feminina de cerca de 93 milhões, estima-se que ocorreram 49 400 casos em 2008.

Fazendo com estes dados uma projecção do numero de tumores da mama/ano para o espaço dos países de língua portuguesa teremos cerca de 55 000 novos casos.

### Portugal and Portuguese-speaking countries

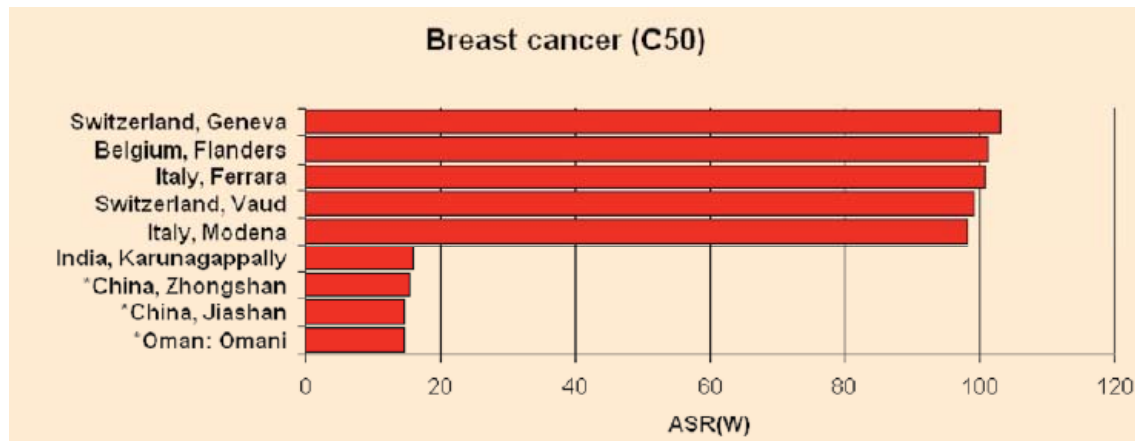
The website cancermondial (REF) with information about the IARC (International Agency for Research on Cancer), the source of the World Health Organization information about tumors, leads to a series of databases with information from the oncology world panorama.

If you look at the picture made from this website we found that in Portuguese-speaking countries, the breast tumor is the most common tumor in women in Portugal and Brazil, Table 22. In Angola, Cape Verde, Guinea-Bissau and Mozambique is the second highest incidence of tumor being overtaken by the cervix.

Both in Portugal and Brazil, despite the great territorial differences between the two countries, there is a marked difference in the incidence of breast tumors among different regions of the country. In Brazil, breast cancer is most common in the Southeast, with 73 new cases per 100,000 women, as well as in the South (71/100.000), Midwest (38/100.000) and Northeast (27/100.000). In the North it is the second highest incidence, with 15 new cases per 100,000 women. (Ref Gerbim). In Brazil, for a female population of about 93 million, an estimated 49 400 cases occurred in 2008.

Making these data a projection of the number of breast tumors per year for the space of Portuguese-speaking countries will have about 55 000 new cases.

In Portugal, malignancies are the second leading cause of death (1st Cardiovascular). The number of deaths due to tumor growth trend still shows an increase of 15.8% between the three-year periods of 1993-1995 and 2003-2005. In the year 2005 were 22 682 registered deaths from tumor.



	Custo directo em cancro (milhões €)	Custo directo em cancro per capita	Custo do cancro em % relativa aos custos da saúde	Custo Total da saúde (milhões €)	População (2004)
<b>UE</b>					
Alemanha	12 108	147	6,6	183 455	82 491 000
Reino Unido	10 823	182	10,6	102 100	59 554 000
França	7 458	124	5,3	140 714	60 200 000
Holanda	1 502	92	4,1	36 643	16 275 000
<b>Portugal</b>	565,03	53,33	3,91	14 500	10 595 600
Polónia	1 138	30	5,0	22 758	38 180 000
<b>EUA</b>	62 321	212	4,7	1 325 988	293 655 000
<b>Japão</b>	19 750	155	9,3	212 370	127 687 000

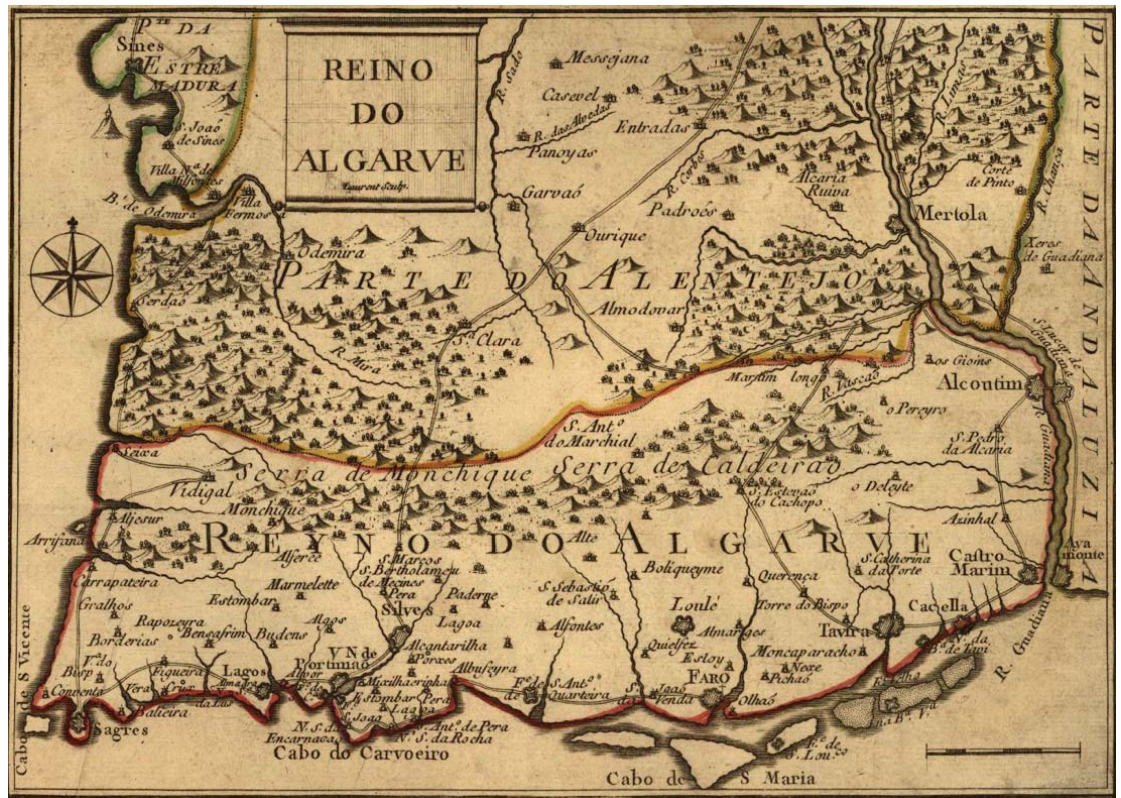
Em Portugal as doenças oncológicas constituem a segunda causa de morte (1ª a Cardiovascular). O número de óbitos por tumor mostra ainda tendência de crescimento com um aumento de 15,8% entre os triénios de 1993-1995 e 2003-2005. No ano de 2005 foram registados 22.682 óbitos por tumor.

Entre nós o tumor da mama é o tumor mais frequente nas mulheres, sendo igualmente a principal causa de morte por neoplasia no sexo feminino. O cancro da mama, no sexo feminino, corresponde a 30,4% dos tumores malignos. Isto é, em Portugal cerca de 1 em cada 3 novos casos de tumor na mulher localiza-se na mama.

No nosso país existem registos de mortalidade desde 1960 e o registo oncológico é obrigatório desde 1988, data em que foram criados três registos oncológicos regionais. Até há relativamente pouco tempo, nenhum dos registos foi capaz de produzir dados sistemáticos e completos. No entanto é possível verificar que

Between us, the tumor of the breast tumor is more common in women and is also the leading cause of death from cancer in females. Breast cancer in females, corresponding to 30.4% of malignant tumors. This is in Portugal about 1 in 3 new cases of tumor in women is located in the breast.

In our country there are records of mortality from cancer in 1960 and registration is mandatory since 1988, when it was established three regional cancer registries. Until relatively recently, none of the records was able to produce systematic and complete data. However it is possible that Portugal in mortality from breast tumor varies considerably from region to region. This very fact leads to the projection presented in the table above. National data show that women in the country and the incidence rate for breast cancer is 87.8/100 000 (the highest incidence for a tumor), the regions of Lisbon and the Algarve this incidence is much higher. In the south of the country there was an incidence



em Portugal a mortalidade por tumor da mama varia consideravelmente de região para região. Esse mesmo facto leva à projecção apresentada no quadro anterior. Dados nacionais mostram que no país e na mulher a taxa de incidência para o cancro da mama é de 87.8/100 000 (a incidência mais elevada para um tumor), nas regiões de Lisboa e Algarve esta incidência é bem maior. No Sul do País registou-se uma taxa de incidência de 103.90/100 000, para o cancro da mama em 2001. Taxa essa que regista um certo decréscimo e em 2007 foi de 98,86/100 000. Assim nestas incidências temos uma das maiores incidências mundiais, imagem 3.

Na região Sul, entre 2001 e 2007, foi registado um aumento de 5% na taxa de incidência do cancro da mama. O envelhecimento da população poderá estar por trás deste aumento.

Em Portugal com base em dados de 2006 os gastos directos com o tratamento do cancro foram gastos 565 milhões de €, o que corresponde a cerca de 53 € por capita. Um dos mais baixos da UE, quadro I.

No Algarve com uma população de 419 187

rate of 103.90/100 000 for breast cancer in 2001. Rate it notes that a certain decline and in 2007 was 98.86 per 100 000. Thus these effects have a major impact worldwide, image 3.

In the South, between 2001 and 2007, was recorded a 5% increase in the incidence rate of breast cancer. The aging population could be behind this increase.

In Portugal based on 2006 data with the direct costs of cancer treatment costs were € 565 million, which corresponds to about € 53 per capita. One of the lowest in the EU, Table I.

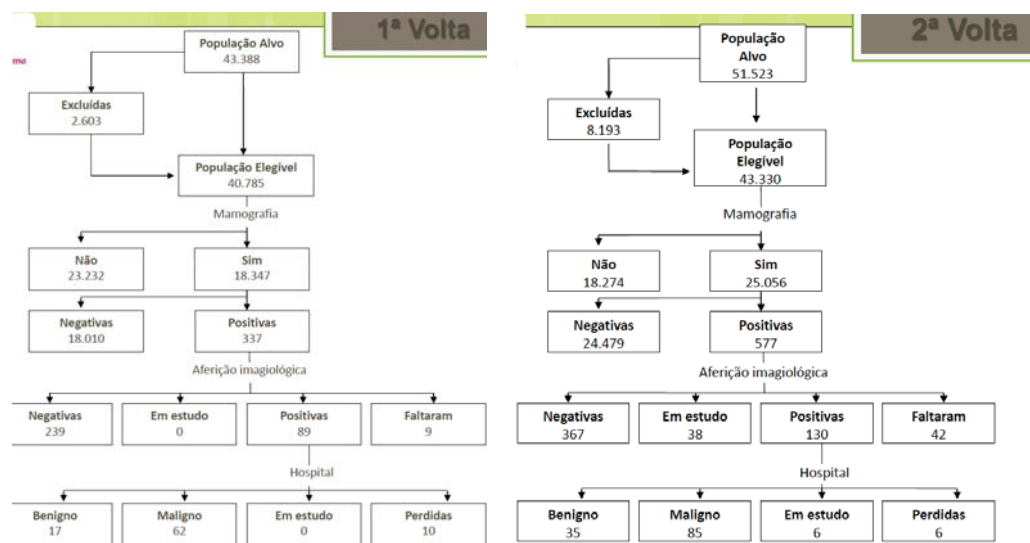
In the Algarve with a population of 419,187 inhabitants, and as we observed in the data available in ROR - the southern Algarve region is also a country with high incidence.

We believe that data from more recent years reinforce this view. Only Hospital in the western watches that about 40% of the population of the Algarve were operated on 102 cases of breast tumors. Second, only new cases of this disease were assisted 148.

We think that these numbers will be real. The Algarve as seen in Table YY long been a suburban



ANO	ROR - Sul					Algarve				
	SEXO	Total	T.Bruta	T.Padr.Europ.	T.Padr.Mund.	SEXO	Total	T.Bruta	T.Padr.Europ.	T.Padr.Mund.
2002	AMBOS	2438	53.79	45.30	33.30	AMBOS	174	43.67	37.23	27.88
	MASCULINO	21	0.96	0.84	0.59	MASCULINO	2	1.01	0.80	0.49
	FEMININO	2417	103.15	83.93	62.20	FEMININO	172	85.84	72.59	54.75
2003	AMBOS	2482	54.32	44.97	32.97	AMBOS	215	53.04	43.19	31.91
	MASCULINO	26	1.18	0.99	0.71	MASCULINO	5	2.48	1.75	1.16
	FEMININO	2456	104.05	83.07	61.43	FEMININO	210	103.26	83.01	61.91
2004	AMBOS	2571	55.88	45.95	33.89	AMBOS	195	47.39	38.44	28.53
	MASCULINO	26	1.17	0.90	0.62	MASCULINO	4	1.95	1.42	1.03
	FEMININO	2545	107.15	85.25	63.43	FEMININO	191	92.68	74.24	55.48
2005	AMBOS	2445	52.85	43.21	31.73	AMBOS	182	43.66	36.44	27.39
	MASCULINO	27	1.21	0.96	0.67	MASCULINO	3	1.44	1.17	0.92
	FEMININO	2418	101.29	80.07	59.32	FEMININO	179	85.84	71.11	53.66



habitantes, e segundo verificamos nos dados disponíveis no ROR - Sul o Algarve é igualmente uma região do país com grande incidência. Pensamos que dados dos anos mais recentes reforçarão esta visão. Só no Hospital do Barlavento que assiste cerca de 40% da população do Algarve foram operados 102 casos de tumores da mama. Por outro, só novos casos desta patologia foram assistidos 148. Pensamos que estes números serão os reais. O Algarve como vemos no Quadro YY durante muito tempo foi uma região periférica, com fronteiras naturais que promoviam essa condição que num contexto geral de país pouco desenvolvido moldaram um entendimento na população que certo tipo de patologia, nomeadamente a

area, with natural boundaries that promoted the condition that a general context of least-developed country in the population have shaped an understanding that some sort of pathology, including cancer, should be assisted in the capital. Thus, referral to a family dwelling was a common practice. With the ongoing screening in the Algarve and equip the region with great competence of human resources and equipment that allow a performance at the level of good practice, a change in this mentality begins to make its circuit. One element that points us in that sense are not only data such as the Hospital of my membership of a progressively increasing rasteio Algarve did four years since its implementation

oncológica, deveria ser assistida na capital. Assim a referência de um familiar para a morada era uma prática comum.

Com o rastreio em curso no Algarve e o equipar da região com recursos humanos de grande competência e equipamentos que permitem um desempenho a nível das boas práticas, uma mudança nesta mentalidade começa a fazer o seu circuito.

Um dos elementos que nos aponta nesse sentido são não só dados referidos do meu Hospital como a adesão progressivamente crescente de um rastreio no Algarve que fez 4 anos desde a sua implementação e cujos dados, quadro YY, são reportado sistematicamente no fim de cada ciclo. Assim pensamos que os dados conhecidos da nossa realidade serão ainda mais carregados na incidência desta patologia quando os dados do ROR Sul se reportarem ao actual ano 2010.

and which data, picture YY, are systematically reported at the end of each cycle.

So we think the information available from our reality will be even more loaded in the incidence of this condition when the data from the South ROR if the current reporting year 2010.

# Abordagem terapêutica ao longo dos tempos

## *Treatment through the ages*

### Do papiro de Herbes a Halted

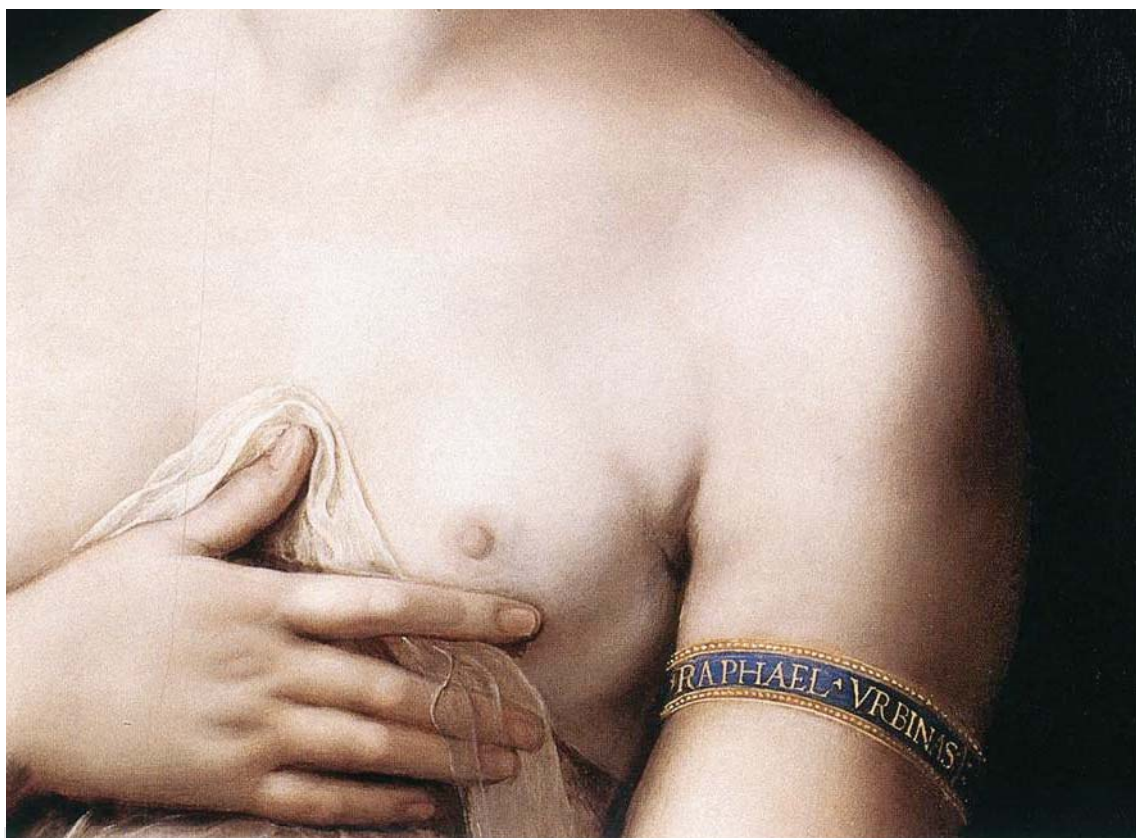
#### *From Herbes papyrus to Halted*

O cancro da mama como doença está presente desde os primeiros registos escritos da história que a humanidade dispõe. Nos antigos papiros de Erbes (1800 AC) e de Edwin Smith (1400 AC) Egipcios que abordavam a patologia mamaria compatível com o tumor da mama, nesses denominados “bulging tumors” da mama foi declarado que não havia cura para a doença.

O tumor da mama é normalmente assumido como uma doença em que existem registos históricos da sua presença desde tempos bem remotos. Desde os papiros do antigo Egipto, com cerca de 3 500, verificamos registos históricos desta patologia em praticamente todas as épocas da humanidade em que dispomos de documentos. No entanto existe alguma controvérsia relativamente ao que realmente estaria descrito nos papiros, bem como noutros documentos históricos. Nestes o caso da pintura renascentista, figura 4-8, é um dos mais importantes. Amato Lusitano, médico português, (Castelo Branco, 1511 – Thessaloniki, 1568) nas suas Centurias, colectâneas de casos clínicos, descreve vários Casos de tumor da mama. Pela descrição da evolução comportamento local e sistémico bem como espaço temporal, cerca de 2 anos do aparecimento da lesão até à morte da doente, descreve aquele que é a evolução natural

*Breast cancer as a disease is present from the earliest written records of history that mankind has. In ancient papyri of Erbes (1800 BC) and Edwin Smith (1400 BC) Egyptians that addressed the pathology compatible with the mammary tumor of the breast, these so called “bulging tumors” of the breast was stated that there was no cure for the disease.*

*The breast tumor is usually assumed as a disease in which there are historical records of their presence since ancient times. Since the papyrus of ancient Egypt, about 3500, historical records verify this condition in almost every age of humanity where we have documents. However there is some controversy as to what would actually be described in the papyri, and other historical documents. In such case of Renaissance painting, figure 4-8, is one of the most important. Amato Lusitano, Portuguese physician, (Castelo Branco, 1511 - Thessaloniki,*



*Figuras 5-8. O realismo da representação assumido pelos pintores, tanto a nível da mama como da axila, introduzem deformações que à luz do conhecimento actual podem tratam-se de imagens de neoplasia. A hipótese de diagnóstico da deformidade de La Fornarina (Rafael), pormenor fig. 5, analisada a sobrevida da modelo não se mostra compatível com tumor. No pormenor, fig 6, do quadro Diana e as suas ninfas perseguidas por satiros (Rubens), fig. 1, verificamos uma retracção da mama largamente sobreponível ao aspecto, fig 7, da clínica actual em lesões avançadas*

Figures 5-8. The realism of the representation made by painters, both breast and armpit, introduce distortions in the light of current knowledge can treat themselves to images of neoplasia. The diagnosis of the deformity of La Fornarina (Rafael), detail Fig. 5, analyzed the survival of the model does not seem compatible with tumor. In detail, fig 6, table of Diana and her nymphs pursued by satyrs (Rubens), fig. 1, we see a shrinking of the breast to look far will overlap, fig 7, the clinical present in advanced lesions

da patologia na ausência de medidas terapêuticas. Este autor do Renascimento para além da história natural de um tumor da mama, (Livro I, Cura 21), apresenta-nos igualmente aspectos da técnica cirúrgica de então nesta patologia (Livro III, Cura 32), bem como elementos de semiologia (Livro VIII. Cura 25).

Referência fundamental da época prévia ao gânglio sentinela é de William Halsted que escreveu o primeiro artigo original (1894/1895) sobre a técnica e os resultados da mastectomia radical<sup>9</sup>. Salienta-se que Halsted tratava tumores geralmente avançados, não dispunha de meios diagnósticos para estadiamento, e o insucesso da cirurgia era medido em termos de recidiva locorregional. Foi o primeiro trabalho publicado a basear-se em evidências científicas da época para concluir que para um tratamento curativo desta doença, seria necessário a exeresse de toda a mama afectada, incluindo pele, os gânglios linfáticos axilares e todas as vias linfáticas intermédias. Uma vez que os troncos linfáticos atravessavam o músculo peitoral, estes deveriam inevitavelmente ser sacrificados.

O tratamento da doença locorregional com cirurgia radical e esvazamento axilar, ficou conhecido como o modelo “Halstediano”<sup>11-13</sup> e baseou-se na presunção que os gânglios linfáticos eram filtros e só quando o filtro se encontrava cheio e a transbordar de células metastáticas é que as células se espalhavam e entravam nos vasos linfáticos para se dirigiam para órgãos distantes

*1568) in their Centurias, compendia of case studies, describes several cases of breast tumor. By describing the evolution behavior as well as local and systemic timeline, about two years of the onset of the injury until the patient's death, describes one who is a natural evolution pathology in the absence of remedial measures. This Renaissance author beyond the natural history of a breast tumor, (Book I, Cure 21), also shows us aspects of surgical technique then this pathology (Book III, Cure 32), as well as elements of semiology (Book VIII. Heal 25).*

*Fundamental reference for the time prior to the sentinel node is William Halsted who wrote the first original article (1894/1895) on the technique and results of mastectomy radical<sup>9</sup>. It is noted that Halsted was generally advanced tumors, had no diagnostic tools for staging, and failure of surgery was measured in terms of locoregional recurrence. It was the first published work to be based on scientific evidence to conclude that the time for a curative treatment of this disease would require the exeresis of the entire affected breast, including skin, lymph nodes and axillary lymph all routes in between. Since the lymphatic trunks crossing the pectoral muscle, they should inevitably be sacrificed.*

*The treatment of localized disease with radical surgery and axillary emptying, the model became known as “Halstediano” 11-13 and was based on the presumption that the lymph nodes were filters and only when the filter was full and overflowing of metastatic cells is that cells were scattered and came to the lymphatic vessels were bound for distant organs*



**Fig. 10. Amato Lusitano e Curas com Tumor da Mama**

**Livro I, Cura 31. História natural de um tumor maligno.**

*"De uma chaga cancerosa maligna, dolorosa, que atacava a mama"*

Mulher, 30 anos, natureza muito biliosa. Mande-i reduzir o sangue da veia safena (...) Durante a minha ausência alcançou a saúde. Quando voltei a vê-la, (...) tanto de vista, como pelo tacto, julguei que era doença má (...) Começamos, o ataque à doença, a ver se seria melhor usar da cirurgia. Mas ela não acedeu (...) De tudo isto nos servimos durante oito longos meses. Tinha-se formado pus na mama. Depois da abertura, a chaga tornou-se mais maligna de dia para dia (...) era do género cancro... As dores acompanhavam sempre esta chaga... Rebutaram de novo as glândulas do pescoço, (...) veio a morrer passados dois anos após o começo da doença.

**Livro III, Cura 32. Tumor da mama. Técnicas cirúrgicas**

*"Do cancro da mama"*

Mulher de 30 anos que começa a sentir um prurido na papila da mama direita, juntamente sofria de picadas lancinantes. A papila apresentava-se um tanto mais espessa. Acompanhava-se de febre de vez em quando. Sentindo-nos impotentes contra uma atroz doença, que era sem dúvida um cancro (...) Aconselhei que colocasse uma lâmina de chumbo muito bem adaptada à mamila e que não permitisse qualquer outro tipo de remédio no sítio lesado. .... Passados dois anos venho a observar que ela, em vez do pequeno tumor, sofria de uma ulceração cancerosa, de grande tamanho, cheio de muitas cavernas, de

aspecto tétrico, rebordos espessos e à maneira de montículos... tinha este cancro raízes de modo implantadas que era de crer tivesse ocupado os pontos mais íntimos do corpo. Este tumor canceroso, no seu inicio, ... se podia chamar cirro (schirrus), deveria ser arrancado radicalmente por operação mamal, como AVICENA entre outros claramente recomenda. Nós já vimos (eram ainda mais pequenos carcinomas que, como disse, mais mereciam o nome de cirros) extraí-los habilmente das mamas e de outros órgãos, à navalha... Depois disto eram queimadas muito bem as raízes do cancro com ferro candente... A uma mulher de Veneza por causa dum cancro foi-lhe cortada e arrancada inteiramente a mama direita e depois viveu optimamente

**Fig. 10. Amato Lusitano and Clinical Cases with Breast tumor**

**Book I, Cure 31. Natural history of a malignant tumor.**

*'A malignant, painful cancer invading the breast'*

Woman, age 30, bilious nature. I ordered a reduction of the blood of the saphenous vein. During my absence she returned to a healthy condition. When I saw her again, (...) both visually and by touch, I thought it was a serious condition (...) We began by attacking the illness and to see if surgery would be more advisable. But she did not agree (...) We went on like this for 8 long months. Puss was forming on the breast. After the wound opened it became more malignant day by day (...) it was like a cancer...The wound was always very painful. The neck glands burst once again, (...) she died two years after the disease began.

**Book III, Cure 32. Breast tumor. Surgical techniques.**

*'Of the Breast cancer'*

Woman age 30 begins to feel itching of right nipple of breast as well as stabbing pain. The nipple is swollen. A fever comes and goes. Feeling helpless before this horrible illness which was surely cancer (...) I advised that a lead plate be placed on her breast and that no other medication be used on the affected area...Two years later I noticed that instead of a small tumor, a large cancerous ulceration had developed with many tetric caverns and thick edged lumps...the cancer had spread to the most intimate (far reaching) parts of her body. The cancerous tumor, which in its first stages could have been called schirrus, should have been removed by radical mammary surgery as clearly recommended by AVICENA and others. We have seen (even smaller carcinomas which were no more than schirruses) be surgically removed from breasts and other organs successfully. The roots of the cancer were then burnt with a hot rod... A Venetian woman had her whole right breast surgically removed and then lived a good life

## Do século XX à cirurgia conservadora

### *From the XX century to breast conservation*

Esta tendência para aplicar estes princípios, os princípios de Halsted e ir mesmo mais além, foi observado em várias séries onde se sugeria que a mastectomia radical era insuficiente. Em 1954, Richard Handley defendeu a inclusão na excisão dos gânglios retro esternais da cadeia mamária interna porque 25% das mastectomias radicais deixavam para trás metástases ocultas na cadeia mamária interna. Mas a abordagem cirúrgica dos gânglios da cadeia mamária interna não melhorou o prognóstico da doença e a inclusão da sua prática cirúrgica de exérese nunca se tornou comum. Este contra-senso, apesar da importância da sua informação, ainda hoje não está resolvido.<sup>10</sup>

Nesta época, a mastectomia radical incluía a remoção dos músculos grande e pequeno peitoral. Mas houve séries de mastectomias ainda de maior radicalidade onde se procedia à excisão *en bloc* da parede torácica óssea, clavícula, exploração toracocervical e esternotomias medianas. Metade do esterno podia ser removido com a porção interna da 1ª e 2ª costela. Wangenstein (1950) considerava a operação de Halsted insuficiente. Mas a extensão mais radical da doutrina Halstediana foi publicado por Prudente na França em 1949. Este Cirurgião tratou casos seleccionados de tumor avançado da mama com amputações trans-escapulo-torácicas, *en bloc* do membro superior, com a mastectomia. Esta cirurgia altamente mutilante não só não

*This tendency to apply these principles, the principles of Halsted and go even further, was observed in various series which suggested that radical mastectomy was insufficient. In 1954, Richard Handley defended the inclusion in the excision of retro sternal glands of internal mammary chain because 25% of radical mastectomy left behind occult metastases in the internal mammary chain. But the surgical treatment of internal mammary lymph chain did not improve the prognosis of the disease and the inclusion of the practice of surgical exeresis never became common. This counter-intuitive, despite the importance of their information, today is not resolved.<sup>10</sup>*

*In this era, radical mastectomy include the removal of major and minor pectoral muscles. But there was a series of still more radical mastectomies where they proceeded to excision en bloc chest wall bone, collarbone, and exploitation thoracocervical median sternotomy. Half of the sternum could be removed with the inner portion of the 1st and 2nd rib. Wangenstein (1950) considered the operation Halsted insufficient. But the most radical extension of the doctrine Halstediana was published by Ernest in France in 1949. This surgeon has treated selected cases of advanced breast tumor amputation trans-scapular-thoracic, en bloc member op with mastectomy. This highly mutilating surgery not only improved survival, as it had a high mortality.*

*Gradually, it became clear that the presence of*

melhorava a sobrevida, como tinha uma elevada mortalidade.

Gradualmente, ia ficando claro que a presença de metastases da cadeia supraclavicular significava doença avançada. Por esta razão, mas também pelo avanço no diagnóstico mais precoce e pela evolução de outras técnicas terapêuticas como a radioterapia, estes procedimentos mais extensos, foram abandonados nos anos 60.

Mas a aceitação incondicional da técnica de mastectomia radical de Halsted manteve-se como único paradigma em cirurgia da mama até a década de 70 do século XX.

Nos anos 80, Veronesi e Fisher <sup>21</sup> destronaram (mas não substituíram) o modelo dominante Halstediano do sistema linfático, e reposicionaram o conceito do cancro da mama como uma doença sistémica. O modelo "Fisheriana" assumia que todas as neoplasias malignas da mama seriam sistémicas desde o início. Esta evolução teórica, permitiu o fundamento para a mudança da cirurgia radical para a cirurgia conservadora. B. Cady

Veronesi, no seu artigo publicado no New England Journal of Medicine, em 1981, descreveu que a eficácia terapêutica da quadrantectomia com esvaziamento axilar era igual a da mastectomia: *Mastectomy appears to involve unnecessary mutilation in patients with breast cancer of less than 2 cm and no palpable axillary nodes*<sup>11</sup>.

Havia uma relação entre o tamanho e as características prognósticas do tumor primário e o tamanho e número de metástases ganglionares. Nos doentes com um estágio T1a (>1-5mm) e T1b (<5-10mm) e com um só gânglio positivo, o sentinela, a grande maioria >70%, só tem um ou dois gânglios da axila metastizados. E estes frequentemente são micrometastases (<2mm) ou ainda mais pequenos (>0.2mm). Estes últimos são actualmente definidos como N0 i - ou i +, (positivo para IHC, com *clusters* menores de 0,2 mm). Contrariamente ao anterior quando um T2 tem o gânglio sentinela positivo, mesmo uma micrometastase, a possibilidade de haver outros gânglios na axila com macrometastases podia ultrapassar os 50%. B. Cady

Enquanto a axila se assumia como zona chave na estratégia terapêutica da doença, muitos argumentavam que também permitia um melhor controlo local da doença. Numa revisão extensa da literatura, Dady afirma que não há

*supraclavicular metastases chain meant advanced disease. For this reason, but also by advances in early diagnosis and progression of other techniques such as radiotherapy therapeutics, these more extensive procedures were abandoned in the 60s.*

*But the unconditional acceptance of the technique of radical mastectomy Halsted remained as the only paradigm in breast surgery until the 70s of the twentieth century.*

*In 80 years, Fisher and Veronesi <sup>21</sup> dethroned (but not replace) the dominant model Halstediano the lymphatic system, and repositioned the concept of breast cancer as a systemic disease. The model "Fisherian" assumed that all breast malignancies were systemic from the outset. This evolutionary theory, has allowed the foundation to shift from radical surgery to conservative surgery. B. Cady Veronesi, in his article published in The New England Journal of Medicine in 1981, described the therapeutic efficacy of quadrantectomy with axillary dissection was equal to mastectomy: *Appears to Mastectomy involves mutilation Unnecessary in Patients with breast cancer of less than 2 cm and No palpable axillary nodes*<sup>11</sup>.*

*There was a relationship between the size and prognostic features of primary tumor and the size and number of nodal metastases. In patients with stage T1a (> 1-5mm) and T1b (<5-10mm), with one positive lymph node, the sentinel, the vast majority > 70%, only one or two metastatic lymph nodes from the armpit. And these are often micrometastases (<2mm) or smaller (> 0.2mm). The latter are now defined as N0 i - or i + (positive for IHC, with smaller clusters of 0.2 mm). Contrary to the previous one when T2 has a positive sentinel node, even a micrometastasis, the possibility of other nodes in the armpit with macrometastases could exceed 50%. B. Cady*

*While the armpit area was assumed as key therapeutic strategy in the disease, many argued that it also allowed a better local control of disease. In an extensive literature review, Dady says there is no survival advantage to metastatic lymph nodes to remove any "organ site cancer." (B. Cady). Also there is no survival advantage with axillary dissection in early stages with negative axillae. The absolute risk is extremely low. In a study of the Group of the European Institute of Oncology (Milan) in 3548 patients undergoing sentinel node biopsy (BGS) without axillary dissection, with a follow up of 11*



vantagem de sobrevida ao remover gânglios linfáticos metastizados de qualquer "organ site câncer". (B. Cady). Também não há vantagem na sobrevida com o esvaziamento axilar em estadios precoces com axilas negativas. O risco absoluto é extremamente baixo. Num estudo do Grupo do Instituto Europeu de Oncologia (Milão) em 3 548 doentes submetidos a biopsia gânglio sentinela (BGS) sem esvaziamento axilar, com um seguimento de 11 anos, houve 316 eventos desfavoráveis. Em 196 casos (5.5%) relacionados com o tumor primário, 31 casos de metastases axilares (0.9%) que necessitaram esvaziamento e uma sobrevida geral aos 5 anos de 98%.

Mais recentemente, o modelo "Spectrum" de Hellman tem ganho maior consistência sobre os modelos anteriores. Neste modelo o tamanho e características em evolução de um cancro primário geneticamente instável está constantemente sujeite a alterações resultando numa maior agressividade, maior probabilidade de metastização, e mais células metastáticas com maior risco de morte.

Actualmente, a larga maioria (>75%) dos carcinomas mamários e outros cancros, provavelmente, correspondem a este modelo. A capacidade de metastização aumenta com o tamanho e o aumento do potencial biológico resultante. Metastização ganglionar poderá ser a única manifestação de disseminação local, em pequenos tumores, salvo algumas excepções, ou poderão ser um marcador da doença à distancia. Têm a capacidade de desenvolver metastases clínicas, e até de recorrência local. O facto de observar-mos a cura de muitos doentes de neoplasia maligna da mama após tratamento adequado locoregional reforça esta teoria.

Como o modelo biológico "Fisheriano", de origem sistémica, se relaciona com a nova informação acerca da frequência de disseminação de células em vez de metástases clínicas, ainda está por compreender. B. Cady O conceito do gânglio sentinela é uma tentativa lógica de clarificar a controvérsia gerada por estes modelos.

years, 316 events were unfavorable. In 196 cases (5.5%) related to the primary tumor, 31 cases of axillary metastases (0.9%) who required evacuation and an overall survival at 5 years of 98%.

More recently, the model "Spectrum" Hellman has to gain more consistency over previous models. In this model the size and characteristics in the evolution of a genetically unstable primary cancer is constantly subject to changes resulting in a more aggressive, more likely to spread, and more metastatic cells with increased risk of death.

Currently, the vast majority (> 75%) of breast carcinomas and other cancers, probably correspond to this model. The ability of metastasis increases with the size and increasing the biologic potential result. Lymph nodes metastasis may be the only manifestation of local spread, small tumors, with some exceptions, or may be a marker of disease in the distance. They have the ability to develop clinical metastases, and even local recurrence.

The fact that we observed the healing of many patients with malignant breast after adequate locoregional reinforces this theory.

As the biological model "Fisherian" systemic origin, is related to new information about the frequency of dissemination of cells instead of clinical metastases, is yet to understand. B. Cady The concept of the sentinel node is a logical attempt to clarify the controversy generated by these models



## Anatomofisiologia do sistema linfático

### *From the XX century to breast conservation*

No Homem os gânglios linfáticos são estruturas, encapsuladas, de tecido linfoide. Encontram-se em maior número na axila, região inguinal, cervical, torácica e no mesentério. Variam entre 1mm a 2 cm e tem como função eliminar as impurezas da linfa por um processo activo de fagocitose pelos macrófagos elimina microorganismos, moléculas e células estranhas, antes que esta volte ao compartimento circulatório sanguíneo.

Para além da função de filtro, o gânglio linfático tem um papel importante na defesa imunitária. As infecções, as neoplasias e os diversos estímulos antigénicos estimulam a divisão mitótica nos centros germinativos.

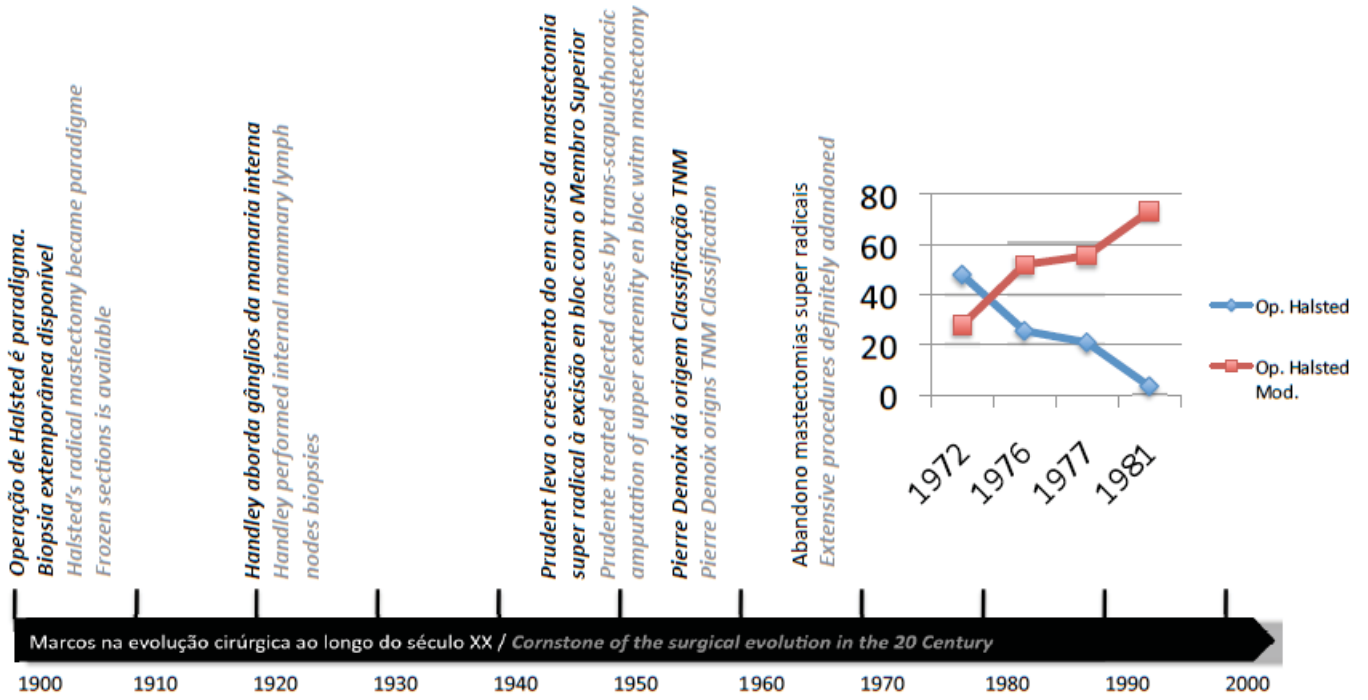
Os capilares linfáticos vão se fundindo para formar canais linfáticos com paredes mais espessas, contendo fibra elástica, musculo liso que formam a túnica interna, a média e a adventícia. Os canais linfáticos possuem válvulas no seu interior para facilitar a direcção da corrente de linfa impulsionada por forças externas. Os canais de maior calibre desembocam no canal torácico à esquerda e no canal linfático à direita. O canal torácico desemboca na união da veia jugular interna com a veia sub-clávia esquerda e à direita desemboca na união da veia jugular interna com a sub-clávia direita.

Em cada lóbulo mamário há um extenso plexo linfático que acompanha o trajecto dos canais galactóforos. Cada lóbulo para formar o plexo linfático subareolar de Sappey e daí, pelo plexo linfático sub dérmico, até chegar à axila. Vinte por cento das mulheres tem gânglios intra mamários.

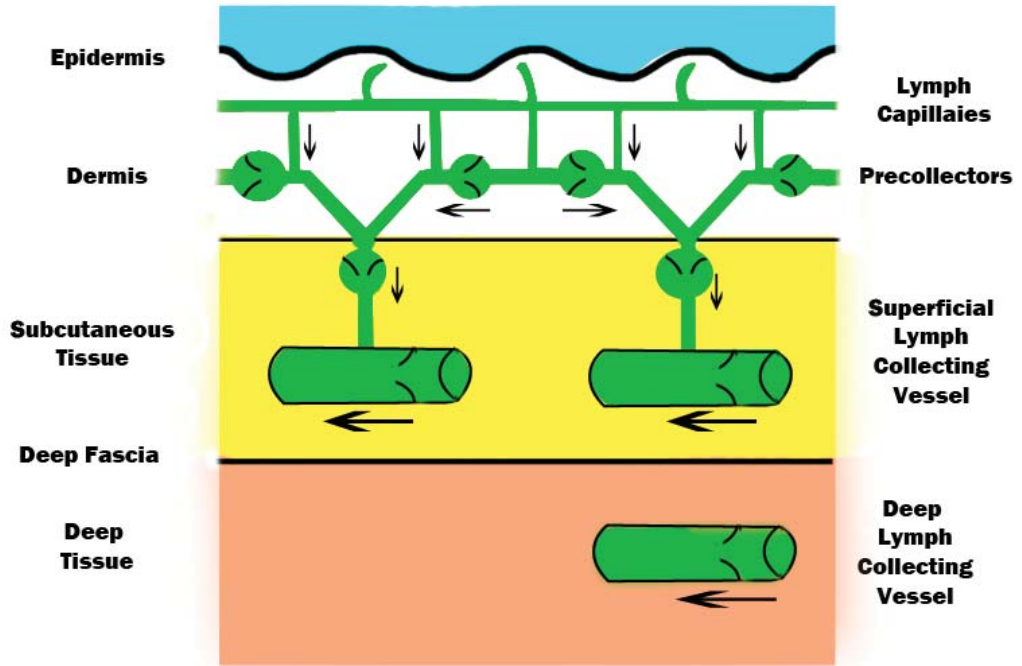
*In humans the lymphatic glands are structures, encapsulated lymphoid tissue. They are more numerous in the armpits, groin, neck, chest and the mesentery. Vary between 1 mm to 2 cm and has the function of removing impurities from the lymph by an active process of phagocytosis by macrophages eliminates microbes, molecules and foreign cells, before it returns to the blood circulatory compartment.*

*In addition to the filter function, the lymph node has an important role in immune defense. Infections, neoplasms and various antigenic stimuli stimulate mitotic division in the germinal centers. The lymphatic capillaries merge to form will lymphatic channels with thicker walls containing elastic fibers, smooth muscle that forms the inner layer, the media and adventitia. The lymphatic vessels have valves inside to facilitate the current direction of lymph driven by external forces. The channels leading into the large-caliber thoracic duct on the left and right lymphatic duct. The canal flows into the thorax union internal jugular vein with the subclavian flap sub-left and right leads to the union of the internal jugular vein with the subclavian flap sub-right.*

*In each lobe there is an extensive mammary lymphatic plexus that accompanies the journey galactophorous channels. Each lobe to form the subareolar lymphatic plexus of Sappey and hence, the sub dermal lymphatic plexus, until you reach the armpit. Twenty percent of women have mammary glands intra. These can be found in any quarter and does not appear to be associated with*



*Relationship between the lymph capillaries, precollectors, and lymph collecting vessels adapted from the Lymphatic Anatomy of the Breast- Study of the Human Cadaver. (Suami)*  
*Relationship between the lymph capillaries, precollectors, and lymph collecting vessels adapted from the Lymphatic Anatomy of the Breast- Study of the Human Cadaver. (Suami)*

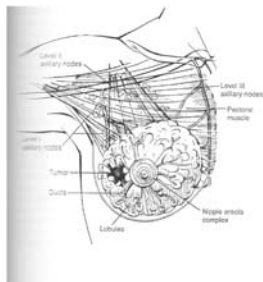


*Lymphatic Anatomy of the Breast- Study of the Human Cadaver adapted from Suami Ref.*

Estes podem ser encontrados em qualquer quadrante e não parecem estar associados a vias de drenagem linfática da mama. Lembremo-nos que a origem embrionária da glândula mamária é na ectoderme ou seja, é essencialmente um órgão da pele e a drenagem linfática circula paralelamente ao da pele. Este dado é importante no entendimento da escolha do local de injeção de corante/colloide para a pesquisa do gânglio sentinela. A maior parte da drenagem linfática da mama faz-se para gânglios da axila, principalmente o grupo peitoral (ao longo do bordo inferior do musculo pequeno peitoral, e situado profundamente ao grande peitoral). Da face profunda da mama, os linfáticos passam através do grande peitoral e drenam para o grupo apical da axila. A linfa da parede interna da mama drena para os gânglios da cadeia mamária interna. A linfa da pele da mama pode passar para a parede abdominal e para a mama do lado oposto. Na axila é tradicionalmente considerada que há 3 níveis na distribuição dos gânglios linfáticos. Esta distribuição é feita de forma ordenada e sequencialmente desde o nível I ao III, dos niveis de Berg.

*lymphatic drainage pathways of the breast. These can be found in any quarter and does not appear to be associated with lymphatic drainage pathways of the breast. Let us remember that the embryonic origin of the mammary gland is the ectoderm that is, is essentially an organ of the skin and lymphatic drainage runs parallel to the skin. This data is important in understanding the choice of the injection site of dye / colloid for sentinel lymph node research. Most of the lymphatic drainage of the breast is to the armpit lymph nodes, especially the pectoralis group (along the bottom edge of the pectoralis minor muscle, and situated deep to the pectoralis major). The deep surface of the breast, the lymphatic vessels pass through the pectoralis major and drain to the apical axillary group. The lymph of the inner wall of the breast drains to the internal mammary lymph chain. The lymph from the breast skin can pass into the abdominal wall and the opposite breast. Axilla is traditionally considered that there are three levels in the distribution of lymph nodes. This distribution is done in an orderly and sequentially from level I to III, the levels of Berg. If the sentinel node is the first lymph node draining*

FIGURE 8. Five-Year Relative Survival Rates Among Patients Diagnosed with Selected Cancers by Race and Stage at Diagnosis, United States, 1999 to 2005.



Se o gânglio sentinela é o primeiro gânglio da drenagem de uma região específica, seria de esperar que se encontrasse no primeiro nível. Sabe-se, no entanto, que há variações anatómicas linfáticas que podem explicar a presença de gânglios sentinela em localizações atípicas (N II ou III, intramamária, interpectoral, na mama interna ou mesmo supra-clavicular. Não se pode considerar *skip metastasis*, um gânglio sentinela noutro nível, porque não saltou de nível. A sua localização é que é mesmo nesse nível. Assim, diferentes partes da mama drenam para partes diferentes da axila e existem níveis I diferentes dos descritos por Berg. A localização do gânglio sentinela na mama vai assim variar de pessoa para pessoa. (Seza A. Gulec)

Estudos recentes por linfocintigrafia demonstram que, apesar da maior parte da mama drenar para um gânglio sentinela, cada mama pode ter mais de que um gânglio no primeiro nível. (Suami) Na prática, o nível de onde é retirado o ganglio sentinela é altamente preditivo do estado de todos os outros linfonodos axilares. Em estudos de esvaziamentos axilares onde foram marcados os níveis, quanto mais avançado for a doença, mais linfonodos estão metastizados e mais níveis estão afetados, demonstrando a disseminação da doença de modo progressivo e ordenado da axial. (S. Zurrída)

Em cada lóbulo mamário há um extenso plexo linfático que acompanha o trajecto dos canais galactóforos. Cada um deles desemboca na região sub areolar para formar o plexo linfático subareolar de Sappey e daí pelo plexo linfático sub dérmico até chegar à axila. Vinte por cento das mulheres tem gânglios intra mamários. Estes podem ser encontrados em qualquer quadrante e não parecem estar associados as vias de drenagem linfática da mama.

A origem embrionária da glândula mamária é na ectoderme, ou seja, essencialmente é um órgão da pele e a drenagem linfática circula paralelamente ao da pele.

a specific region, one would expect to find at first level.

It is known, however, that there are anatomical variations lymph that may explain the presence of sentinel lymph nodes in atypical sites (N II or III, intramammary, interpectoral in internal mammary or supraclavicular. Can not be regarded skip metastasis, a sentinel node to another level, why not jumped a level. Its location is that it is at this level. Thus, different parts of the breast drain to different parts of the level I axilla and there are different from those reported by Berg. The location of the sentinel node in breast will thus vary from person to person. (Sezai A. Gulec)

Recent studies show that by lymphoscintigraphy, although most of the breast drain to a sentinel node, each breast may have more than one ganglion of the first level. (Suami) In practice, the level of which is taken from the sentinel node is highly predictive of the status of all other axillary lymph nodes. In studies of axillary dissection were marked where the levels, the more advanced the disease, the metastatic lymph nodes are more and more levels are affected, demonstrating the spread of the disease was progressive and orderly the axial. (S. Zurr)

In each lobe there is an extensive mammary lymphatic plexus that accompanies the journey galactophorous channels. Each one leads to the sub areolar region to form the subareolar lymphatic plexus of Sappey and hence the sub dermal lymphatic plexus to reach the armpit. Twenty percent of women have mammary glands intra. These can be found in any quarter and does not appear to be associated with the lymphatic drainage pathways of the breast.

The embryonic origin of the mammary gland is in the ectoderm, ie, is essentially an organ of the skin and lymphatic drainage runs parallel to the skin.

## Evolução do Mapeamento Linfático e a Emergência do Conceito do Gânglio Sentinela do gânglio sentinela na mama

### *Lymphatic Mapping and Evolution of the Concept of the Sentinel node in breast*

Até ao século XX não existiam meios complementares de diagnóstico que permitissem um conceito de estágio do tumor da mama tal como o temos hoje. No entanto a disseminação ganglionar, quando presente, era sempre referenciada apesar da sua relação com a doença não ser bem compreendida.

Com a classificação TNM, na sequência de trabalhos de Pierre Denoix (entre 1943 e 1952), em que os tumores sólidos foram classificados pelo seu tamanho, envolvimento linfático e extensão para órgãos à distância (Denoix 1946), temos um contributo fundamental e também na área da mama, a metastização linfática torna-se um factor considerado isoladamente do tumor e da metastização à distância. A importância do número total de gânglios com metastases excisados do esvaziamento axilar, após o advento da quimio e radioterapia, passou a determinar a estratégia terapêutica para cada caso em concreto.

A axila tornou-se a zona chave na estratégia terapêutica da doença. Muitos asseguravam que o seu esvaziamento permitia, simultaneamente, um melhor controlo local da doença, gerando-se grande controvérsia sobre a seu verdadeiro impacto.

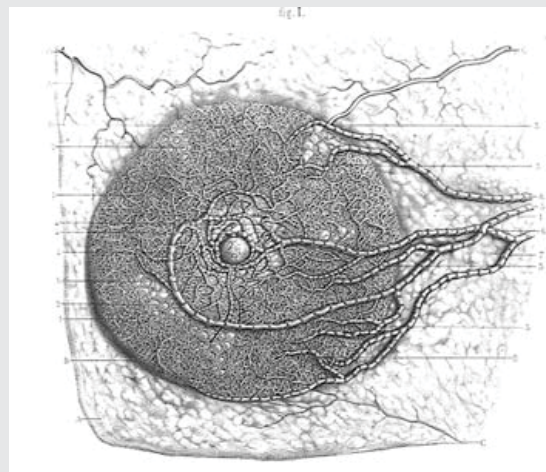
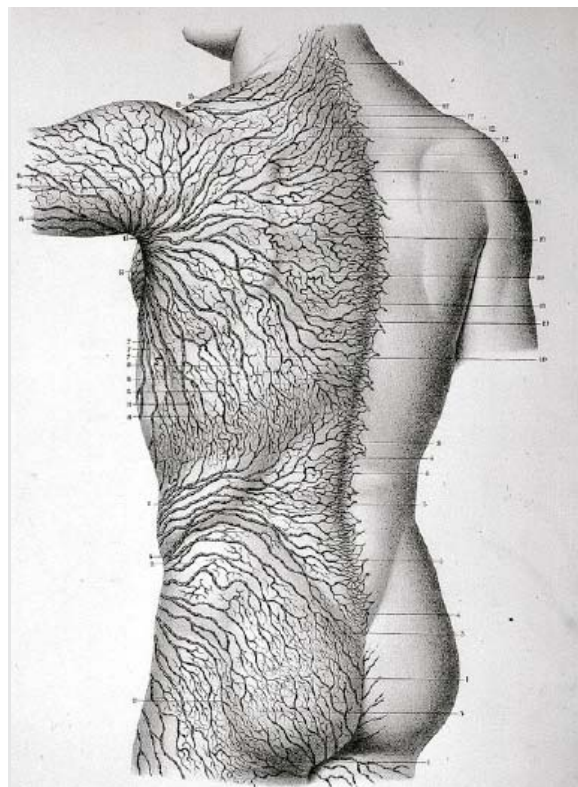
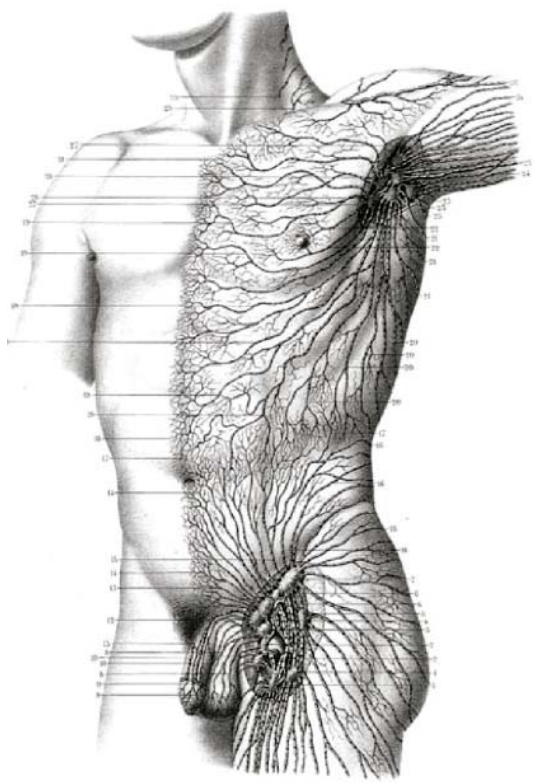
A morbidade associada ao esvaziamento axilar impulsionou a busca de outras alternativas. Procurava-se evitar as perturbações do movimento do ombro, as nevralgias, parestesias e tumefacção importante do membro superior

*Until the twentieth century there were no supplementary diagnostic allowing a concept stage of breast tumors as we have today. However, the lymph node spread, when present, was always referenced despite his relationship with the disease is not well understood.*

*With the TNM classification, the sequence of works by Pierre Denoix (between 1943 and 1952), in which solid tumors were classified by their size, lymphatic involvement and extension into remote organs (Denoix 1946), we have a major contribution and also in area of the breast, the lymphatic metastasis becomes a factor considered in isolation from the tumor and metastasis to distancia. The importance of the total number of lymph nodes with metastases excised from the axillary dissection after the advent of chemotherapy and radiotherapy, has had to determine the therapeutic strategy for each particular case.*

*The armpit area had become the key strategy in the treatment of disease. Many asserted that emptying allow both a better local control of disease, generating considerable controversy about the real impact.*

*The morbidity associated with axillary dissection spurred the search for alternatives. The aim was to avoid the disruption of movement of the shoulder, neuralgia, paresthesia and swelling of the major upper limb resulting from lymphatic destruction. But the emergence of the sentinel node concept has been slow. The technical study of the lymphatic system were not reproducible and did*



**Mapeamento do sistema linfático da mama proposto por Sappey**  
Sappey's drawing of the superficial lymphatic system of breast  
(Sappey 1874)



resultante da destruição linfática. Mas a emergência do conceito do gânglio sentinela foi lenta. As técnicas do estudo do sistema linfático não eram reprodutíveis e não tinham em conta a grande variabilidade da drenagem linfática. (Tanis PJ 2001).

O Francês Sappey, no século XVIII, estudou o complexo sistema linfático da mama, com o uso de injeções de mercúrio fazendo um mapeamento linfático da mama. Identificou o plexo sub areolar (de Sappey) que contribui para que hoje se injecte o corante azul neste plexo para aceder ao gânglio sentinela dessa mama. Mostravam-se detalhadamente os canais linfáticos a caminhar na direcção axilar, mas aparentemente ninguém nesta data foi capaz de perceber a relevância desta informação. Os primeiros avanços no entendimento da fisiopatologia do sistema linfático fizeram-se muito mais tarde e noutras regiões anatómicas do corpo.

Em 1960, Gould relata um caso de tumor da parótida em que um gânglio linfático que excisado da junção antero-posterior da veia facial, de aparência normal, era de facto metastático. Este facto influenciou toda a sua conduta cirúrgica posterior, efectuando sempre disseções radicais. (Gould EA 1960). Em 1976, o oncologista Paraguayo, Ramón Cabañas, foi o primeiro, a definir o conceito do "gânglio sentinela". Num trabalho sobre a drenagem linfática do cancro do pénis, por linfoangiografia, demonstrou o padrão de metastização ganglionar regional, onde o gânglio sentinela seria o primeiro com metástase e comprovou que frequentemente este era o único gânglio afectado após uma linfadenectomia radical. (Cabañas 1977)

Kett, em 1970, publicou um trabalho sobre linfografia directa na mama. Administrando o contraste nos linfáticos mamários (corante azul injectado a nível areolar), onde se observou o fluxo para um nódulo isolado - que chamaram "nódulo de Sorgius" - e a drenagem subsequente para vasos e nódulos linfáticos, o sistema colector à volta da veia axilar. (Kett K 1970)

Haagensen, através de injeções de diversos "tracer fluids" publicou *The Lymphatics and Cancer* com os trajectos da metastização através do filtro linfático axilar e observou que os gânglios do grupo central não só eram os mais envolvidos, mas que eram quase só exclusivamente envolvidos. O termo sentinela foi utilizado para descrever os gânglios da cadeia cervical profunda

*not note the great variability of lymphatic drainage. (PJ Tanis 2001).*

*The French Sappey in the eighteenth century, studied the complex lymphatic system of the breast, using injections of mercury doing a breast lymphatic mapping. Identified the sub areolar plexus (Sappey of) that contributes to what is now inject the blue dye in the plexus to enter the SN of the breast. Showed in detail the lymphatic channels to walk towards axillary, but apparently no one today was able to see the relevance of this information. The first advances in understanding the pathophysiology of the lymphatic system were made much later and in other anatomical regions of the body.*

*In 1960, Gould reports a case of parotid tumor in a lymph node excised as junction anteroposterior facial vein of normal appearance, were indeed metastatic. This influenced all his subsequent conduct surgical, always making radical dissections. (Gould EA 1960). In 1976, the oncologist Paraguayo Ramon Cabañas, was the first to define the concept of "sentinel node". In work on the lymphatic drainage of penile cancer, for linfoangiografia showed the pattern of regional lymph nodes metastasis, where the sentinel node was the first metastasis and found that often this was the only one affected ganglion after a radical lymphadenectomy. (Cabañas 1977).*

*Kett in 1970 published a paper on direct breast lymphography. Administering the contrast in lymph nodes (blue dye injected at areolar), where he observed the flow to a single node - which they called "nodule Sorgius" - and the subsequent drainage to lymph nodes and vessels, the collecting system around the axillary vein. (Kett K 1970) Haagensen, through injections of several "tracer fluids" published *The lymphatics and Cancer with metastasis of the routes through the filter axillary lymph nodes and observed that the core group were not only the most affected, but only that they were almost exclusively involved. The term was used for sentinel lymph nodes by the deep cervical chain is closely connected with the subclavian-jugular venous confluence. (Haagensen 1972).**

*In 1980, Christensen noted nodules "primary drainage. (B Christensen 1980)*

*Later Nuclear Medicine and Surgery have partnered to visualize the lymphatic system through dyes and radioactive isotopes. Morton first tested the blue dye in the animal (cat), and assessing their possible use in the lymphatic drainage of patients with melanoma. With an incision over*

pela relação de proximidade com a confluência venosa jugular-subclávia. (Haagensen 1972)

Em 1980, Christensen observou nódulos de "drenagem primária". (Christensen B 1980)

Posteriormente Medicina Nuclear e Cirurgia fizeram uma parceria para visualizar o sistema linfático por meio de corantes e isótopos radioativos. Morton primeiro testou o corante azul no animal (gato), avaliando o seu possível uso na drenagem linfática de doentes com melanoma. Com uma incisão sobre a possível zona de drenagem e com uma técnica cirúrgica cuidadosa, identificaram o canal linfático contrastado que progredia para o primeiro gânglio corado. Utilizando isótopos radioativos, observaram uma concordância em 100% dos casos entre a localização do gânglio sentinela por corante azul e marcador radioativo, bem como a retenção do marcador no gânglio sentinela por um período superior a 8 horas e a ausência de migração do marcador fora do gânglio sentinela. Esta técnica foi apresentada na Segunda Conferência sobre Melanoma da WHO (World Health Organization) em 1989 e só publicada 3 anos depois. (Morton DL 1992)

Em 1990 o Grupo de H. Veronesi estudou uma série com 1446 doentes com carcinoma da mama, onde foi realizado esvaziamento axilar com avaliação do número e distribuição dos gânglios axilares. Examinaram-se um total de 29 378 gânglios excisados (média 20.3/doente), situando as adenopatias por níveis de Berg, com médias de 13.5 gânglios no nível I (N I), 4.5 no N II e 2.3 no N III. Em 839 casos havia metastases axilares. A média de gânglios envolvidos por doente foi 6.4. Encontravam-se no primeiro nível 828 gânglios metastizados, 364 no N II e 187 no N III. Quando só um gânglio estava metastizado localizava-se quase sempre no N I. Apenas em 11 casos é que o gânglio metastizado encontrava-se noutro nível (N II ou N III). Ou seja, o skip metastase foi de 1.3%. Este estudo permitiu uma conclusão fundamental. Há uma disseminação lógica da rede linfática na axilar, seguindo os níveis de forma relativamente padronizada. Este conceito apoiou os trabalhos que vieram a seguir sobre a localização do primeiro gânglio em N I. (Veronesi U, 1990)

Em 1991 Wong publicou os resultados de um estudo onde o princípio básico da drenagem linfática primário de qualquer área da pele seria um gânglio sentinela único. (Wong JH, 1991) A

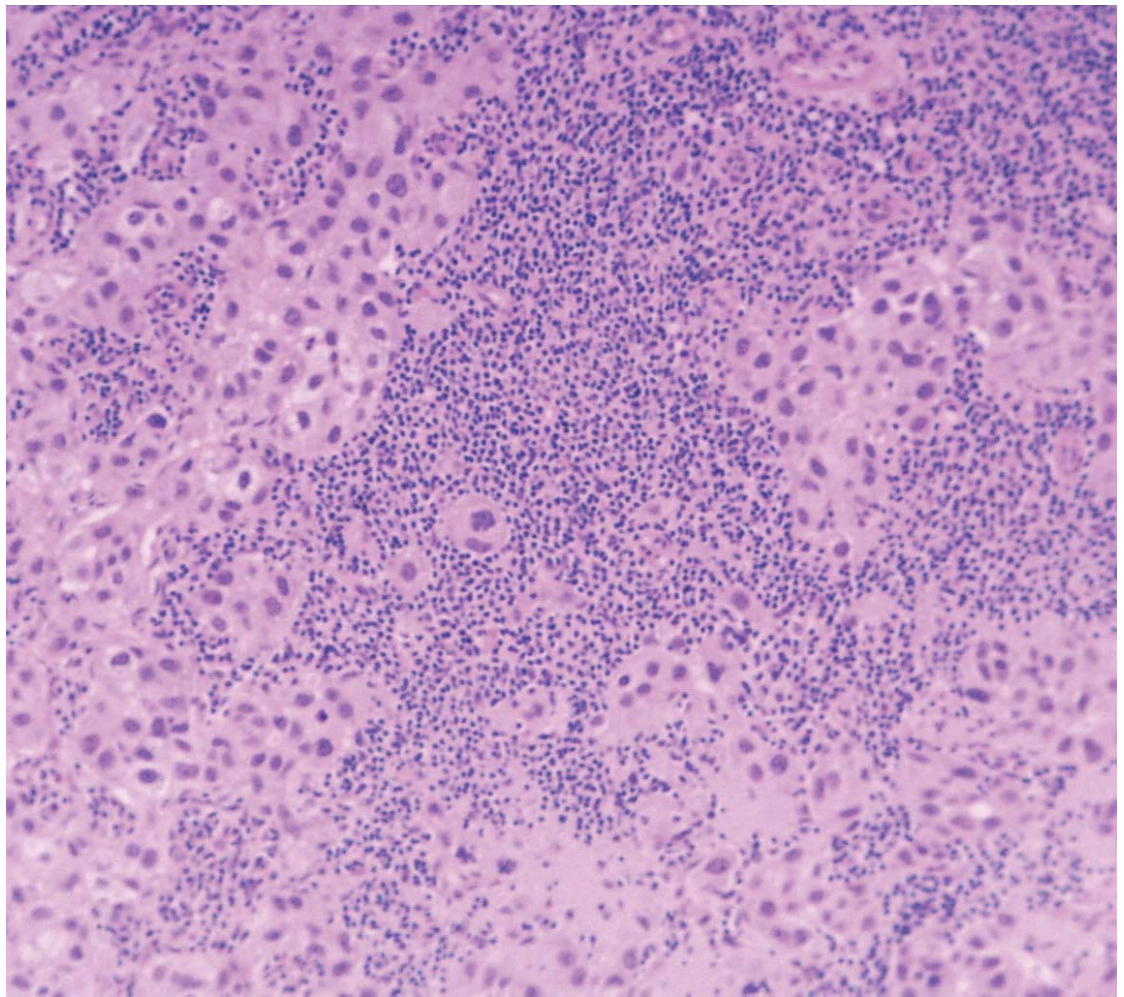
*the possible catchment area and with a careful surgical technique, they identified the lymphatic channels contrasted that progressed to the first ganglion stained. Using radioactive isotopes, observed a concordance of 100% of cases between the location of the sentinel node by blue dye and radioactive tracer and the retention of tracer in sentinel node for a period exceeding 8 hours and no migration of the marker outside the ganglion sentinel. This technique was presented at the Second Conference on Melanoma of the WHO (World Health Organization) in 1989 and published only three years later. (Morton DL 1992).*

*In 1990 the Group H. Veronesi studied a series with 1446 patients with breast cancer, where axillary dissection was performed to assess the number and distribution of axillary nodes. They examined a total of 29 378 nodes excised (mean 20.3/doente), reaching levels of adenopathy by Berg, averaging 13.5 nodes at level I (NI), 4.5 to 2.3 in N II and N III. In 839 cases had axillary metastases. The average of lymph nodes involved per patient was 6.4. Were at the first level 828 metastatic lymph nodes, 364 and 187 in the N II N III. When only one lymph node was metastatic was located mostly in N I. Only in 11 cases is that the metastatic lymph node found itself in another level (II or N III).*

*That is, skip metastasis was 1.3%. This study provided a fundamental conclusion. There is a logical network spread in axillary lymph following levels fairly standardized. This concept supported the work that followed on the location of the first ganglion in N I. (Veronesi U, 1990)..*

*Wong in 1991 published the results of a study where the basic principle of the primary lymphatic drainage of any area of skin would be a single sentinel node. (Wong JH, 1991) The accuracy of sentinel node biopsy and lymph node staging of melanoma with low rates false negatives have opened new paths.*

*Krag in 1993 and in 1994 Giuliano, attentive to the study of lymphatic applied to melanoma, were the first results applied to the breast (KD Giuliano AE, 1994). Krag used a colloid solution on the technetium ( $^{99m}\text{Tc}$ ) injected into the peritumoral tissue and, using a gamma probe identified the sentinel node in 18 patients in a series of 22 patients with breast tumors (81%), with a prediction of the state of the axilla 100%. (Krag DN, 1993). Giuliano with the use of blue dye was successful in 65% of a total of 174 cases with a sensitivity of 88% and 6.5% false negatives. To assess the*



precisão da biopsia do gânglio sentinela e do estadiamento ganglionar do melanoma com baixos índices de falsos negativos abriram novos caminhos.

Krag em 1993 e Giuliano em 1994, atentos ao desenvolvimento do estudo dos linfáticos aplicados ao melanoma, foram os primeiros a obter resultados aplicados à mama (Giuliano AE K. D., 1994). Krag utilizou uma solução colóide ligado a tecnésio ( $^{99m}\text{Tc}$ ) injectado no tecido peritumoral e, utilizando uma sonda gama, identificou o gânglio sentinela em 18 doentes numa série de 22 doentes com tumor da mama (81%), com uma predição do estado da axila de 100%. (Krag DN, 1993). Giuliano com o uso de corante azul vital obteve êxito em 65% de um total de 174 casos com uma sensibilidade de 88% e 6.5% de falsos negativos. Para aferir a técnica foi realizada a identificação do gânglio sentinela e sua colheita para posterior tratamento

*technique was performed to identify the sentinel node and their harvest for subsequent histological treatment followed by axillary dissection.*

*In 39 of 63, had metastatic sentinel lymph nodes (62%) compared with 93 of 688 non-sentinel lymph nodes (14%), suggesting that the primary cancer metastatic to a specific path and could not be identified by an arbitrary sample (random sampling). (D. K. Giuliano AE, 1994)*

*Later she did a series with radiocolloid with identification rate of 93.4% in 107 patients with a false negative rate of 5.4%. (Giuliano, 1999).*

*Albertini and colleagues in 1996 used a combination of two methods for a successful in 92% of cases in 62 patients studied. (Albertini JJ, 276)*

*Negative axillary SNB is now accepted Allowing the avoidance of axillary dissection. Sentinel lymph Micrometastatic disease in nodes remains the subject for research, Particularly because the Prognostic Significance of isolated tumor cells (or*

histológico seguida de esvaziamento axilar. Em 39 dos 63, havia metastização dos gânglios sentinelas (62%) comparado com 93 de 688 dos gânglios não sentinela (14%) sugerindo que o cancro primário metastizava por um caminho específico e que não podia ser identificado por uma amostra arbitrária (random sampling). (Giuliano AE K. D., 1994)

Posteriormente fez casuística com radiocoloide com uma taxa de identificação de 93.4% em 107 pacientes, com um índice de falsos negativos de 5.4%. (Giuliano, 1999)

Albertini e colaboradores utilizaram em 1996, uma combinação dos dois métodos para um êxito em 92% dos casos, nas 62 doentes estudadas. (Albertini JJ, 276)

Negative axillary SNB is now accepted as allowing avoidance of axillary dissection. Micrometastatic disease in sentinel lymph nodes remains a subject for research, particularly because the prognostic significance of isolated tumor cells (or of tiny clusters) is, at present, unclear. (Galimberti, 2003)

Hoje a técnica da biópsia do gânglio sentinela (seja como corante azul, radiocoloide ou técnica combinada) é Gold Standard e a prática tem-se generalizado progressivamente por todo o mundo.

### Validação do Conceito do Gânglio Sentinela

Este conceito apoiado pelas três teorias postuladas por Halsted, Fisher e Hellman é uma tentativa lógica de clarificar a controvérsia gerada por estes modelos. Reforça o que foi postulado enquanto à metastização por degraus e a importância do tratamento locoregional de Halsted. Apoiar também as teorias spectrum de Hellman e o sistémico de Fisher, pela capacidade de prever a doença à distancia e servir de ferramenta de estadiamento para seleccionar doentes para tratamento adjuvante sistémico. (Reintgen DS, 1994) (Kapteijn BAE, 1998)(Tanis PJ, 2001)

Numerosos estudos em mama e melanoma, confirmam que o gânglio sentinela é o primeiro gânglio a receber células metastáticas. O seu status é fiável e prevê o estado da axila com uma sensibilidade de mais de 95%. (Hsueh EC, 1999)

Veronesi em 1999 fazendo a avaliação e validação da segurança e eficácia da BGS regista 96.9% accuracy, 91.2% sensitivity, 100 %

*clusters of tiny) is, at present, unclear. (Galimberti, 2003)*

*Today the technique of sentinel node biopsy (whether as a blue dye, radiocolloid or the combined technique) is Gold Standard and the practice has gradually become the norm throughout the world.*

### Validation of the sentinel node concept.

*This concept is supported by three theories postulated by Halsted, Fisher and Hellman is a logical attempt to clarify the controversy generated by these models. Reinforces what has been postulated as the steps in metastasis and the importance of locoregional treatment of Halsted. It also supports theories spectrum of systemic Hellman and Fisher, the ability to predict disease in the wings and serve as a staging tool for selecting patients for adjuvant systemic treatment. (Reintgen DS, 1994) (Kapteijn BAE, 1998) (PJ Tanis, 2001)*

*Numerous studies in breast cancer and melanoma, confirming that the sentinel node is the first lymph node to receive metastatic cells. Her status is reliable and provides the status of the axilla with a sensitivity of over 95%. (Hsueh EC, 1999)*

*Veronesi in 1999 making the evaluation and validation of safety and efficacy of the BGS records 96.9% accuracy, 91.2% sensitivity, 100% specificity. (Veronesi U.) (Veronesi, Paganelli, Viale, Galimberti, Luini, & Bray, 1999) Several other groups have published similar data.*

*Another important parameter is the validation number (rate?) Procedures with false negatives. The number of false negatives is the number of false negatives divided by the sum of true positives and false negatives. The importance of this fact reflected in the absence of tumor cells in the sentinel node and in the absence of lymphatic metastasis. Variation in false negatives have been due to lack technical expertise of surgical teams, incorrect procedure and also to the inexperience of the anatomical pathologist. (Giuliano AE HP, 2000) This information is the basis of existing requirements to perform the technique in centers highly experienced teams in the BGS.*

*The consequence of false negative for occult axillary metastases was being studied by the group of Veronesi of Milan, which suggests that occult axillary metastases might never have clinical manifestation, which obviates the need for axil-*

specificity. (Veronesi U. )(Veronesi, Paganelli, Viale, Galimberti, Luini, & Zurrada, 1999) Vários outros grupos publicaram dados semelhantes. (Hsueh EC, 1999)

Outro parâmetro importante na validação é o número (taxa?) de procedimentos com falsos negativos. O número de falso negativos é o número de falso negativos dividido pela soma de verdadeiros positivos e falso negativos. A importância deste dado traduz na ausência de células tumorais no gânglio sentinela e na ausência de metastização linfática. As variações nos falsos negativos tem sido devido à pouca experiência técnica das equipas cirúrgicas, indicações incorrectas para o procedimento e também in experiência do anatomo-patologista. (Giuliano AE H. P., 2000) Esta informação está na base das exigências actuais de efectuar a técnica em centros de referência por equipas altamente experientes na BGS.

A consequência dos falsos negativos por metastases axilares ocultas, foi motivo de estudo pelo Grupo de Veronesi de Milão que sugere que metastases axilares ocultas podem nunca ter manifestação clínica, o que obvia a necessidade de esvaziamento axilar em pacientes com lesões pequenas e uma axila negativa. O estudo decorreu de 1995 a 1998 em doentes com tumores até 1.2 cm e uma axila clinicamente negativa. Foram randomizadas 214 doentes com mais de 45 anos, para tratamento cirúrgico conservador sem esvaziamento axilar e 221 com tratamento conservador sem esvaziamento axilar e radioterapia axilar. Só 4/435 (0.7%) doentes desenvolveram metastases axilares clinicamente ocultas. (Veronesi, et al., 1997).

O risco de skip metastasis é outro inconveniente desta técnica, embora seja raro e não ultrapassa 2-4% dos casos. (Valadas G, 2008) Outras series referem entre 1.5%-14% de doentes com skip metastases no nível II ou III na ausencia de envolvimento metastatico no NI. Mas estas celulas metastaticas que disseminaram para outros níveis não são mais do que ganglios sentinela com outra localização. A experiência com linfocintigrafia apoia esta afirmação. (Gulec, et al.)

O ganglio sentinela da cadeia mamaria interna em teoria pode ser aplicado. No entanto, as implicações do envolvimento do ganglio sentinela a este nível é mais incerto e ainda experimental. (Goldhirsch, Wood, Gelber, Coates,

*lary dissection in patients with small lesions and a negative axilla. The study ran from 1995 to 1998 in patients with tumors up to 1.2 cm and a clinically negative axilla. We randomly assigned 214 patients over 45 years for conservative surgical treatment without axillary dissection and 221 with conservative treatment without axillary dissection and axillary radiation therapy. Only 4 / 435 (0.7%) patients developed axillary metastases clinically occult. (Veronesi et al., 1997).*

*The risk of skip metastasis is another drawback of this technique, although it is rare and does not exceed 2-4% of cases. (Valadas G, 2008) Other related series between 1.5% -14% of patients with skip metastasis in level II or III in the absence of metastatic involvement in NI. But these metastatic cells that have spread to other levels are not more than sentinel node to another location. Experience with lymphoscintigraphy supports this. (Gulec et al.)*

*The ganglio sentinel internal mammary chain in theory can be applied. However, the implications of sentinel lymph node involvement at this level is more uncertain and still experimental. (Goldhirsch, Wood, Gelber, Coates, Thurlimann, & Senn, 2003).*

*In Portugal, the BGS has been developed almost a decade ago and gradually became widespread in hospitals from north to south. Communications to scientific meetings, have published results and practices of individuals and groups. The reality was recently evaluated in national panel that addressed the specific practices in our country. This panel came out a publication on the BGS is currently in Portugal that reference Some of our practice centers in 2008 were in the process of validation of the technique). (Cardoso, et al., 2009).*

*Hospital in the western Algarve, the validation of the technique took place from 2003 to 2004, after a fellowship for two months (October-November 2002) at the European Institute of Oncology, Milan, the Veronesi Group. We apply the principles acquired BGS and began using the technique with blue dye. Given the prior experience of our validation was performed on 18 patients. In 10 patients the lymph node was negative and 8 were positive. All had axillary dissection. Of these eight positive patients, 3 had metastasis and only 5 had more than two metastases. Our patients at the Hospital staff made the Windward presented in the 'Spring Meetings 2009 Evora' and reported in the article that points to the national reality (ref)*

Fig. XXXXXX

**Gânglio sentinela no cancro da mama: uma amostra da realidade portuguesa**

artigo original  
 Conference Report  
 Encontros da Primavera 2009  
 Évora, 28 de Março 2009

**Tabela 2 | Resultados**

Nome da Instituição	II Cova*	IUC	IFO Coimbra**	II S. João	II Barvento	II Beja***
Tem Unidade de Mama no Instituto	NÃO	SIM	SIM	SIM	NÃO	NÃO
Nº de cirurgiões da Unidade (que fazem a técnica gg sentinela)	-	3	3	4	3	5
Nº de casos realizados por ano (aproximadamente)	50-100	200-300	500-600	200-300	50-100	50-100
Nº de casos realizados (total) sobre apresentada	32	417	96	541	169	105
Período de série (de mês, ano a mês, ano)						
<b>Critérios da utilização:</b>						
Tamanho do tumor	11-12	<.5cm	<.5cm	QUALQUER	<.5cm	QUALQUER
Multifocalidade	NÃO	SIM	NÃO	SIM	SIM	SIM
Racividade local	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	NÃO	SIM
Quimioterapia neoadjuvante	NÃO	NÃO	NÃO	SIM***	NÃO	SIM
ULNs extenso (>4 cm ou mastectomia)	NÃO	SIM	NÃO	SIM	SIM	SIM
Ecografia axilar pré-operatória sistemática	NÃO	SIM	NÃO	SIM	SIM	SIM
Técnica						
Medicina Molecular Hospital	NÃO	SIM	SIM	SIM	SIM	NÃO
Atal ou Combinada	Combinada	Combinada	Combinada	Atal/Combinada	Combinada	Combinada
Taxa de identificação (%)	96,90%	96,50%	97,90%	97,97%	98,20%	97,10%
Média de ganglios retirados (nº)	1,34	2,03	1,38	1,6	1,5	1,8
Maneja imediata	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
Extemporâneo	NÃO	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
Litotazo	NÃO	NÃO	SIM	SIM	NÃO	NÃO
Corte/Congelado	Validação	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
<b>Resultados</b>						
Falsos negativos (%)	N/A	14,33%	0,00%	0,00%	0	0
Falsos positivos (%)	N/A	0,00%	-	0,00%	0	0
Falsos positivos (%)	N/A	0,00%	0,00%	0,00%	0	0
Acuidade (%)	N/A	85%	100%	100%	100%	100%

\* Fase de validação, ainda não realizou a técnica de forma sistemática.  
 \*\* Fase de validação prolongada (decisão da Instituição).  
 \*\*\* 57,1% dos casos de câncer em tratamento por medicação biológica.

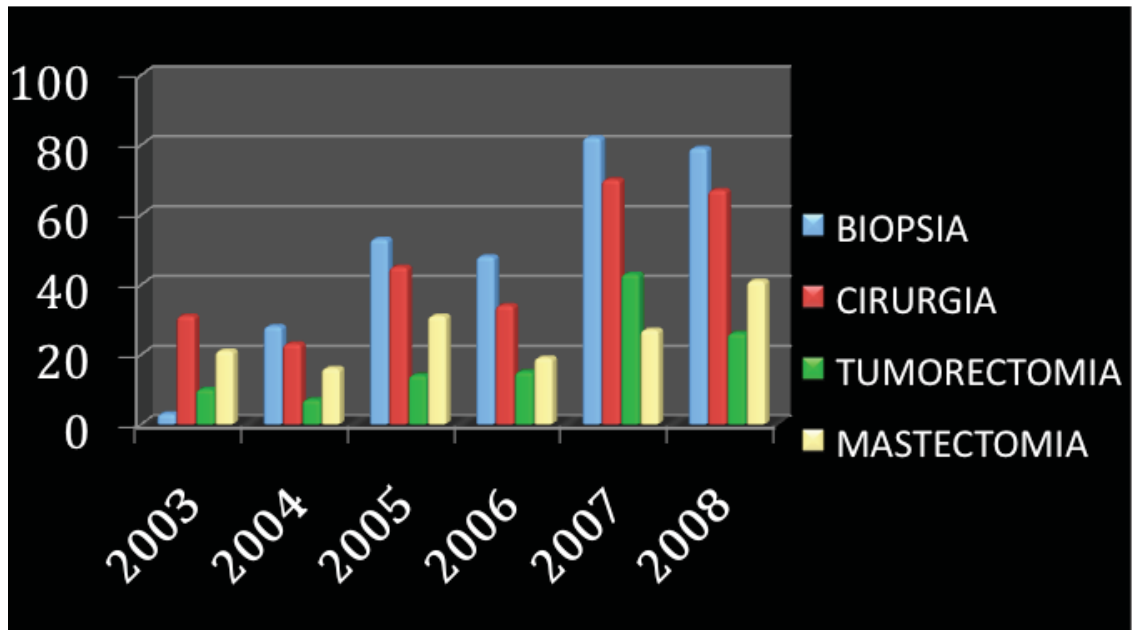
conservadora e com alta clínica e ecograficamente negativa previamente à quimioterapia.

Nas instituições participantes esta técnica foi realizada por cirurgiões especialmente dedicados a patologia da mama o que permitiu que o número de casos por cirurgião fosse superior a 20. Quatro das seis instituições realizaram ecografia axilar pré-operatória sistemática. Maioritariamente a técnica utilizada para identificação foi a técnica combinada (tripla) e a taxa de identificação foi em todos os hospitais superior a 96% (96,5% a 98,8%). Apenas um dos hospitais, em fase de validação, não usou o exame extemporâneo do gânglio sentinela. Em todos os outros, a técnica utilizada em extemporâneo foi o corte/congelação, sendo em apenas dois utilizada inicialmente a citologia (raspado do gânglio bisseccionado) e em caso de dúvida adicionalmente o corte/congelação. Um dos hospitais incluídos nesta publicação realiza a análise completa do gânglio com recurso a imunohistoquímica em exame extemporâneo, não apresentando, por isso, falsos negativos. Não foi apresentada a taxa de falsos negativos, falsos positivos e acuidade do Hospital em fase inicial de validação. Nos restantes (incluindo o segundo em que a fase de validação se prolongou por decisão da Instituição) a taxa de falsos negativos variou entre 0% e 14,3% e a acuidade entre 85% e 100% (Tabela 2). (...)

**Conclusões:** Os resultados obtidos nesta amostra da realidade portuguesa não são diferentes dos resultados internacionais relativamente à variabilidade documentada na utilização deste teste quer relativamente aos detalhes de execução quer à acuidade da técnica.

Institutions participating in this technique was performed or surgeons specially devoted to breast pathology which allowed the number of cases per surgeon was over 20. Four of the six institutions underwent preoperative axillary ultrasound systematically. Mostly the technique used to identification was the combined technique (triple) and the rate of identification was in all the hospitals more than 96% (96.5% to 98.8%). Only one of the hospitals in the validation phase, did not use the extemporaneous examination of the sentinel node. In all others, the technique used was untimely cutting / freezing, which in only two initially used cytology (scraping ganglion bisseccionated) and additionally in case of doubt the cutting / freezing. One of the hospitals included in this publication conducts a full analysis of the ganglia using immunohistochemical examination untimely and not shown, so false negatives. Was not given the rate of false negatives, false positives and accuracy of the Hospital in the initial validation. In the remaining (including the second in which the validation phase lasted institution's decision) the false negative rate ranged between 0% and 14.3% and accuracy between 85% and 100% (Table 2). (...)

Conclusion: The results of this sample of Portuguese reality are no different from international results for the documented variability in the use of this test or for details of implementation and the accuracy of the technique.



Thurlimann, & Senn, 2003)

Em Portugal, a BGS tem vindo a ser desenvolvida há quase uma década e generalizou-se progressivamente em hospitais de Norte a Sul do país. Comunicações em reuniões científicas têm divulgado práticas e resultados individuais e de grupos. A realidade nacional foi recentemente avaliada em painel que abordou o concreto das práticas no nosso país. Deste painel saiu uma publicação sobre a BGS em Portugal que actualmente é referencia das nossas práticas. Alguns centros ainda em 2008 encontravam-se em fase de validação da técnica). (Cardoso, et al., 2009)

No Hospital do Barlavento do Algarve, a validação da técnica teve lugar de 2003 a 2004, após um fellowship de dois meses (Outubro-Novembro 2002) no Instituto Europeu de Oncologia, Milão, com o Grupo de Veronesi. Aplicamos os princípios adquiridos e iniciamos a BGS utilizando a técnica com o azul patente. Face à experiência prévia a nossa validação foi feita com 18 doentes. Em 10 doentes o gânglio foi negativo e em 8 foi positivo. Todas fizeram esvaziamento axilar. Destes 8 doentes positivos, 3 apresentavam metastase única e 5 tinham mais de duas metastases. Esta casuística pessoal efectuada no Hospital do Barlavento apresentado nos 'Encontros da

notes a series of 294 patients operated during the period.

BGS. We found that 73.9% had BGS ganglion negative. Ie about 75% of women had no metastasis and were spared the axillary esvasiamento. Our identification rate was 98.8% for the reporting period. With the method of the patent blue, the identification rate was 97.56% in the period 2003-2007. From the dual use of radiocolloid technique also with the rate rose to 100%. Most cases in the series were in early stages (I and II), which explains the high number of women with negative axilla. (Valadas, et al., 2009)

#### The Establishment of a New Paradigm

How long it took to establish this new paradigm? We saw that it was established in 1993, international consensus on the concept of the sentinel node and the importance of BGS<sup>23</sup>. This agreement was based on the following principles: (i) the existence of an orderly and predictable pattern of lymphatic drainage to the territory of a regional lymph node and (II) function as a filter of the first ganglion of the actual tumor cells. The consensus of Philadelphia in 2001 validated the sentinel node on the BGS as a diagnostic procedure. (GF Schwartz, 2002)

In the United States, the American Society of Breast Surgeons examined the technique in 1998,

BGS. Verificámos que 73.9% BGS tinham o gânglio negativo. Ou seja, cerca de 75% das mulheres não tinham metastização e foram poupadas a esvaziamento axilar. A nossa taxa de identificação foi de 98.8% para o período em análise. Com o método do azul patente, a taxa de identificação foi de 97.56% no período de 2003-2007. A partir da utilização de dupla técnica também Primavera 2009 de Évora' e reportada no artigo que assinala a realidade nacional (ref) regista uma serie de 294 doentes operadas no período de 2003-2008, com 169 doentes submetidos a utilização de dupla técnica também com radiocoloide a taxa subiu para os 100%. A maioria dos casos na serie encontravam-se em estadios precoces (I e II), o que explica o número elevado de mulheres com a axila negativa. (Valadas, et al., 2009)

#### O American Society of Breast Surgeons

Consensus Statement on Guidelines for Performing Sentinel Lymph Node Dissection in Breast Cancer  
This statement updates the Original Guidelines (November 1998), First Revision (August 2000), Second Revision (November 2002), Third Revision (October 2003), Fourth Revision (December 2005).

SLND is suitable for virtually all clinically node-negative T1-3 invasive breast cancers, including patients with multifocal/multicentric disease and prior breast surgery

The decision to apply SLND in these situations requires individualized surgical judgement and fundamentally requires an unequivocally successful mapping procedure.

More limited - but reasonable - data suggest that SLND is feasible following axillary surgery of minimal extent, especially a previous SLND, following radiotherapy, and following neoadjuvant chemotherapy.

The decision to apply SLND in these situations requires individualized surgical judgement and fundamentally requires an unequivocally successful mapping procedure.

If the identification of a sentinel node is in doubt by established technical criteria, standard axillary dissection is advised.

SLND should be considered for DCIS whenever mastectomy is required or when invasive disease is suspected.

The role of SLND for inflammatory breast cancer remains undefined.

*with four revisions, the last in 2005, when these lines were applied on good practices throughout the world. Thus, this new paradigm that emerged with the BGS, gradually began to incorporate the clinical practice and found that it took about 12 years until the new paradigm is estabelecseaa and its practice was generalized. (Valadas G, 2008)*

### O Estabelecimento de um Novo Paradigma

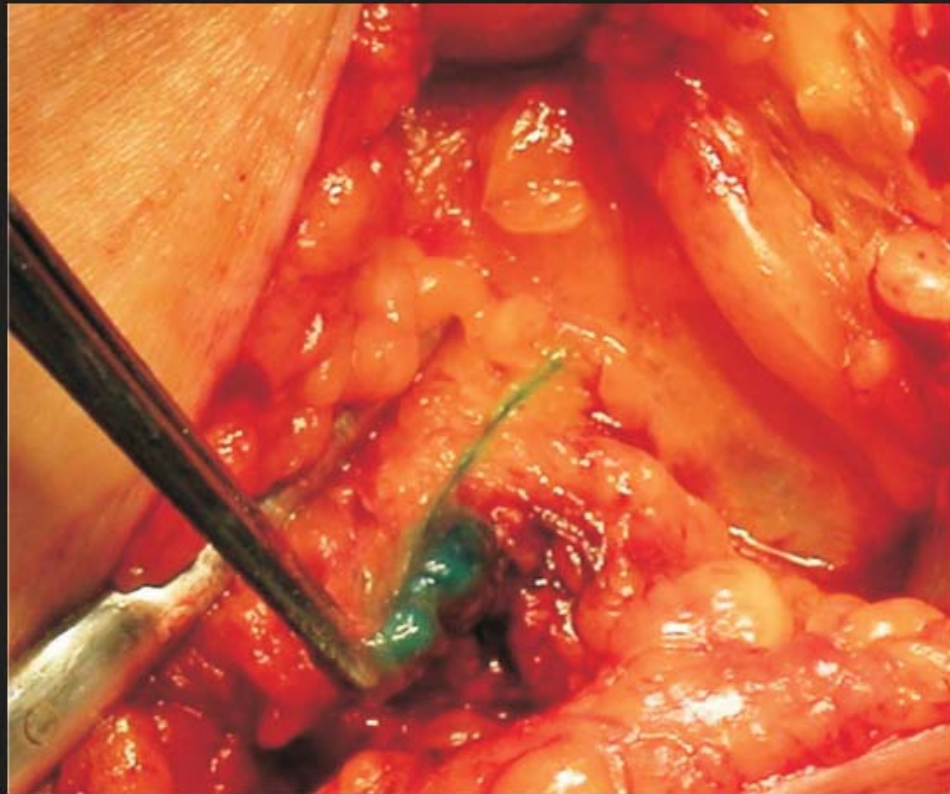
Quanto tempo levou até se estabelecer este novo paradigma? Vimos que em 1993 ficou estabelecido, em consenso internacional, o conceito do gânglio sentinela e a importância da BGS23. Este acordo assentou nos seguintes princípios: (I) a existência de um padrão ordenado e previsível de drenagem linfática até ao território de um gânglio regional e (II) a função do primeiro gânglio como filtro efectivo das células tumorais. O consenso de Filadélfia em 2001 sobre o gânglio sentinela validou a BGS como procedimento diagnóstico. (Schwartz GF, 2002)

Nos Estados Unidos, a American Society of Breast Surgeons analisou a técnica em 1998, com quatro revisões posteriores, a última em 2005, altura em estas linhas gerais aplicavam-se nas boas praticas por todo o mundo. Assim, este novo paradigma que emergia com a BGS, começou progressivamente a incorporar as práticas clínicas e verificamos que foram necessários cerca de 12 anos até que o novo paradigma se estabelecseaa e sua prática se generalizasse. (Valadas G, 2008)



*There comes a time in the treatment of surgical disease when methods are no longer improving the outlook for the patients and a paradigm shift in our concepts of aetiology and hence surgical treatment is required. (We have been given)... this opportunity by not only challenging convention but also... (have been provided)... with a lucid alternative thesis and compelling arguments for changing current surgical practice*

*Kingsnorth<sup>1</sup>, AN, 1994*





## Localização do gânglio sentinela na mama

### *Localization of the sentinel node*

A metodologia para localização e biópsia do gânglio sentinela da mama consiste em injectar corante vital ou uma substância radioactiva que, após progressão, nos localiza aquele que será o gânglio que recebe a drenagem linfática da região em estudo. A adenopatia, marcada após a sua localização, é cuidadosamente excisada cirurgicamente para processamento histológico que verifica o eventual estado de invasão metastática desse gânglio excisado.

A injeção é realizada sub-cutâneamente a nível supra-tumoral, peritumoral, intratumoral ou sub areolar. Embora ainda não seja consensual, a escolha da injeção sub areolar tem vindo a impor-se como o local de escolha pela sua facilidade e elevado êxito em entrar no sistema linfático através do plexo de Sappey.

O tempo de difusão é em média 5-10 minutos. A axila é abordada com uma pequena incisão entre o bordo lateral do pequeno peitoral e o bordo lateral do grande dorsal na prega axilar. A disseção é minuciosa em busca, no caso da utilização do azul patente, de um pequeno canal linfático corado de azul que, seguindo seu trajecto, nos leva até um gânglio corado de azul. Este pode estar corado parcialmente ou na totalidade. Por vezes o canal pode levar-nos a um gânglio não corado.

#### **Azul Patente/ Azul Corante**

Na Europa utiliza-se mais frequentemente o azul patente Guerbet 1 ampola - 2 ml (50 mg) 2.5%. No Estados Unidos utiliza-se azul isosulfan a 1% (3 a 5 ml). O azul patente é uma substância,

*The localization of Methodology for sentinel node biopsy and breast Consists of injecting a vital dye or radioactive substance That, after progression, One That Will be located in the ganglion receives lymphatic drainage That of the study area. Ad-enopathy, after its location is scheduled Carefully excised surgically for histological processing checks the status of That any invasion of meta-static lymph node excised.*

*The subcutaneous injection is Performed adrenal tumor, peritumoral, intratumoral or sub areolar. Although not consensual, the choice of sub-areolar injection has Been Itself imposing the place of choice for the ITS and ease high success in entering the system through the lymphatic plexus of Sappey.*

*O transmission time is about 5-10 minutes. The axilla is approached with a small incision between the lateral edge of pectoralis minor and the lateral edge of latissimus dorsi in the axillary fold. The dissection is meticulous in pursuit, by the use of patent blue in a small blue colored lymphatic channels that, following his journey, brings us to a ganglion stained blue. This may be partially or fully colored. Sometimes the channel may lead us to a ganglion Unstained.*

#### **Patent Blue / Blue Dye**

*In Europe it is used more often blue patent Guerbet an ampoule - 2 ml (50 mg) 2.5%. In the United States is used isosulfan blue 1% (3-5 ml). The blue dye is a substance, called after the food codes of the European Union, E-131, is a triphenylmethane dye of the family (substance that gives the solution*

denominada segundo os códigos alimentares da União Europeia, por E-131, é um corante da família do trifenilmetano (substância que confere à solução uma tonalidade azul escuro) e quimicamente corresponde ao sal sódico do bis(dietilamino-4-fenil)(hidroxi-5-dissulfo-2,4-fenil) metanol anidrido. Também chamado azul patente V ou azul patenteado 5 de origem azótico sintético, é uma solução aquosa e se utiliza geralmente como corante alimentar. Esta solução é tornada isotônica pela adição de cloreto de sódio.

A injeção subcutânea, demarca, através de coloração característica, em poucos minutos, os vasos linfáticos. A via intradérmica tem uma latência de 15-20 minutos e uma duração de várias horas. A coloração desaparece de 24 a 48 horas sendo eliminada entre as 24 a 48 horas principalmente pela bile e através da urina, que se cora fortemente assumindo um tom esverdeado. Este corante é utilizado principalmente no estudo da circulação linfática, na localização dos vasos linfáticos, em linfografia e em cirurgia. Como efeitos secundários estão registados fenómenos alérgicos (rash cutâneo) e casos de choque anafilático devido ao iodo.

#### Utilização da linfocintigrafia

A outra técnica, para marcar o gânglio sentinela, usa radiocoloides, substâncias com coloides de diversos tamanhos marcados com  $^{99m}\text{Tc}$ . A linfocintigrafia pré-operatória (feita 8-24h antes) é fundamental para detectar localizações menos frequentes do gânglio sentinela (gânglios na mama interna, intra-mamária, supraclaviculares ou mesmo na axila contralateral) e possíveis satélites.

O gânglio é localizado, intra-operatoriamente, com uma sonda gama.

Na Europa utiliza-se a albumina nanocoloidal ou microcoloidal a que se ligam radioisótopos que emitem radiações alfa, beta, e gama. A emissão gama mede-se em unidades de energia Kilo-electrovolts (KeV) e a sua capacidade de penetração do isótopo no tecido é proporcional à sua energia. O  $^{99m}\text{Tc}$  tem um pico de energia de 140 KeV, com uma semi-vida de 6h, tornando-se um excelente marcador.

*a dark blue tint) and chemically corresponds to the sodium salt of bis (diethylamino- 4-phenyl) (hydroxy-5-disulfo-2 ,4-phenyl) methanol anhydride. Also called blue patent or patent blue V 5 synthetic nitric source is an aqueous solution and is generally used as food coloring. This solution is made isotonic by adding sodium chloride.*

*Subcutaneous injection, branding, through characteristic color in a few minutes, the lymph vessels. The intradermal route has a latency of 15-20 minutes and lasting several hours. The color fades from 24 to 48 hours being eliminated from 24 to 48 hours especially for bile and the urine, which stains strongly taking a ton of green. This dye is mainly used in the study of lymphatic circulation, the location of lymphatic vessels in lymphography and surgery. As side effects are recorded alleged phenomenon (skin rash) and cases of anaphylactic shock due to iodine.*

#### Use of lymphoscintigraphy

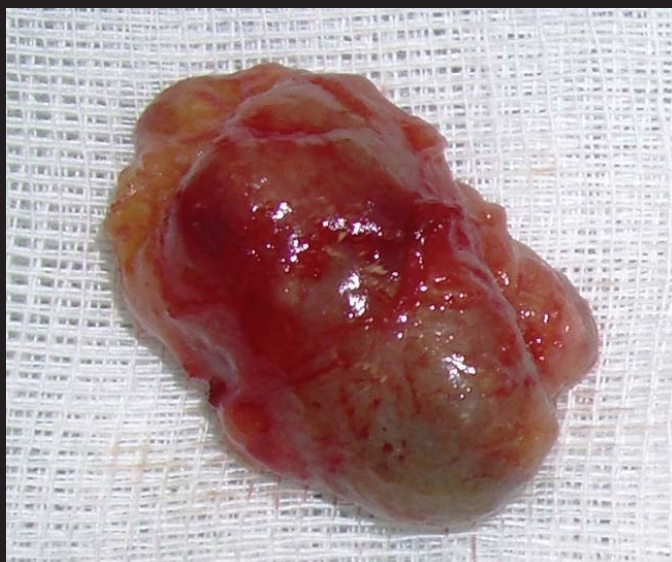
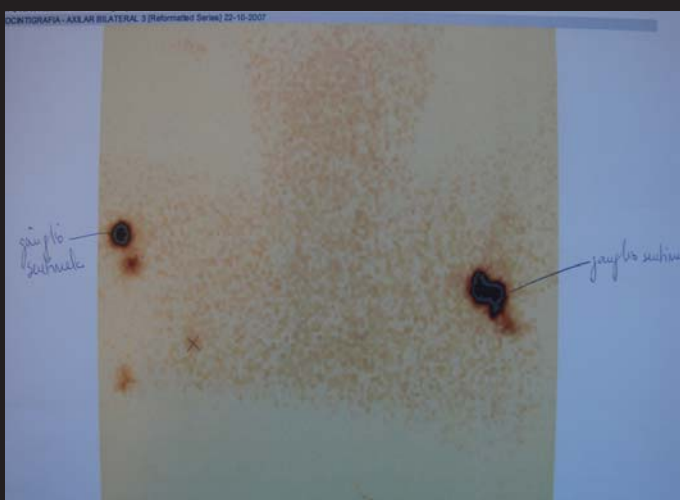
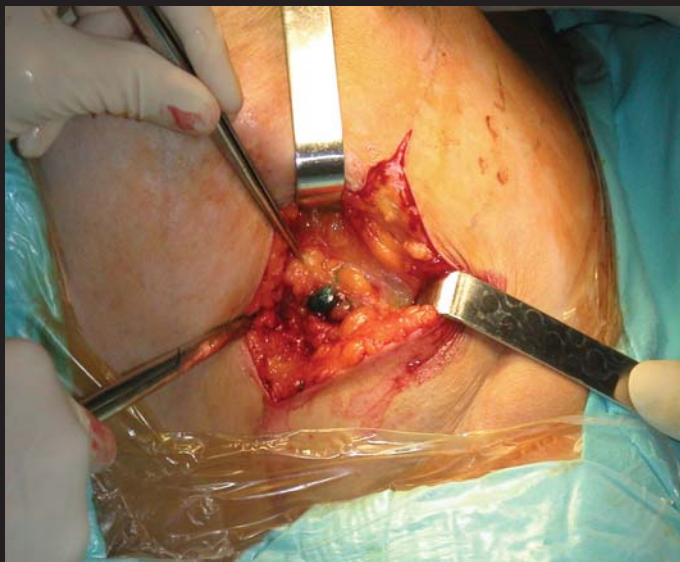
*The other technique, to mark the sentinel node, radiocolloid uses, substances with colloids of various sizes marked with  $^{99m}\text{Tc}$ . Preoperative lymphoscintigraphy (made 8-24h before) is crucial to detect less frequent locations of sentinel node (internal mammary lymph nodes in, intra-mammary, supraclavicular or contralateral armpit) and possible satellites.*

*The ganglion is located intraoperatively with a gamma probe..*

*In Europe it is used or albumin nanocoloidal microcoloidal that bind radioisotopes that emit alpha, beta and gamma. The gamma emission is measured in units of energy Kilo-electrovolts (keV) and its ability to penetrate the isotope in the tissue is proportional to its energy.  $^{99m}\text{Tc}$  has a peak energy of 140 keV with a half-life of 6 hours, making it an excellent marker.*

#### Use of the two media

*The isolated use of the dye is considered acceptable in the absence of a Nuclear Medicine Center and unfavorable socio-economic regions. Among the difficulties that arise in the use of blue dye alone, the main location of the ganglion to be highly dependent on the surgeon as well as useless in locations outside the axilla.*



### **Utilização dos dois meios**

A utilização isolada do corante é considerada aceitável na ausência de um Centro de Medicina Nuclear e em regiões socioeconomicamente desfavoráveis. Entre as dificuldades que se verificam na utilização isolada do corante vital, a principal é da localização do gânglio ser altamente dependente do cirurgião, bem como inútil nas localizações fora da axila.

Globalmente, o mapeamento radio-isotópico resulta mais eficaz que a do corante vital. As duas técnicas em conjunto asseguram uma melhor localização do gânglio sentinela.

*Overall, the radio-isotope mapping results more effective than the blue dye. The two techniques together provide a better localization of the sentinel node..*

## Estado actual do gânglio sentinela no tumor da mama

### *Current status of sentinel node in breast tumor*

Naturalmente que com o início de algo que é recente se levantam uma série de questões que não se colocavam previamente. Com a prática generalizada da BGS há uma série de questões que se colocaram, algumas já clarificadas (tamanho do tumor, até que idade para doentes, multifocalidade, etc.), mas a grande maioria aguarda ainda resposta. Vejamos algumas dessas questões que se mantêm em aberto relativamente à prática da BGS, quadro YY,

A experiência do Cirurgião tem sido apontado como o factor mais importante no sucesso da BGS. Há uma curva de aprendizagem que depende da experiência cirúrgica prévia (cirurgião sénior vs recém-especialista ou interno). Faz parte dos consenso sobre a BGS que se deve aprender o procedimento em centro especializado ou com cirurgião experiente que deverá tutelar as primeiros 20-30 biopsias. (Cochran AJ, 2003). Concordamos com autores que apontam para uma curva de aprendizagem mais curta dependendo da experiência prévia do cirurgião. Estes utilizam como critério a tabular cumulative sum analysis . Deste cálculo, um cirurgião experiente aprende a técnica ao fim de 8 biopsias, um interno que falhe 3 biopsias, necessita de 22 biopsias. (East, Valentine, Kanchev, & Blake, 2009). (falhe 3 em quantas?

Para além do treino cirúrgico, o outro factor mais importante para o identificação do gânglio na GBS é a técnica de mapeamento. Verifica-se variações

*Naturally, with the beginning of something that is new to raise a number of issues not previously placed. With the widespread practice of BGS is a series of questions that arose, some already clarified (tumor size, until age for patients, multifocality, etc..), But the vast majority still awaiting response. Consider some of these issues remain open regarding the practice of BGS, picture YY, The experience of the surgeon has been appointed as the most important factor in the success of BGS. There is a learning curve that depends on prior surgical experience (surgeon vs senior specialist or newly built). It is part of the consensus on the BGS that one should learn the procedure in a specialized center or surgeon who will protect the first 20-30 biopsies. (AJ Cochran, 2003). We agree with the authors that point to a shorter learning curve depending on the surgeon's previous experience. They use as a criterion to tabulate cumulative sum analysis. This calculation, an experienced surgeon learned the technique after 8 biopsies, a procedure that fails three biopsies, 22 biopsies needs. (East, Valentine, Kanchev, & Blake, 2009).*

*n addition to surgical training, the other most important factor for the identification of ganglia in GBS is the mapping technique. There are important variations in technique. They are used dye, isosulfan blue or patent blue alone or simultaneously with 99mTc radiocolloid. The radiocolloid can also be used alone. It is generally agreed that the two techniques simultaneously allow better results.*

importantes na técnica. São utilizados corantes, azul patente ou azul isosulfan isoladamente ou em simultâneo com radiocoloide marcado com  $^{99m}\text{Tc}$ . O radiocoloide também pode ser utilizado isoladamente. É consensual que as duas técnicas em simultâneo permitem melhores resultados.

O azul de metileno foi sido utilizado com bons resultados em alguns hospitais com menores recursos e aparentemente sem mais alergias ou complicações que os outros corantes, mas o seu uso não é comum. O preço acessível é visto actualmente como um bom método em países sem os recursos dos países desenvolvidos, já que conjuntamente com o radiocoloide não aumenta a taxa de identificação para números que justifique os custos.

No mercado existe uma patente sobre um produto que contém um corante de baixo peso (125I-labeled azul metileno) radiomarcado que permite fazer a BGS num só passo. (Woltering, 2004). É aceite que a técnica combinada é a que contribui para taxas de identificação mais elevadas.

O tempo de espera até executar a técnica após a injeção do corante ou radiocoloide também é apontado como factor importante para o êxito. A literatura aponta para uma variabilidade de 3-10 minutos desde a injeção até início do procedimento para a colheita do gânglio. Da nossa experiência é preferível começar aos 10 minutos. Para os radiomarcadores como o veículo usado é mais pesado, estes ficam retidos no gânglio mais tempo. Até às 48h, embora a semi-vida do isótopo de 4-6h afecte a contagem pela sonda gama.

O local da injeção ainda é controverso não havendo um local consensual. Os locais de injeção para localizar o gânglio sentinela são: sub-areolar, peri-areolar peri-tumoral e sub-dérmico à superfície do local do tumor ou dérmico. Um dos problemas desta diversidade é que as recomendações para mapeamento tem sido feitas com base clínica e não anatómica.

Um estudo recente com base anatómica é o de Suami. Este autor estudou no cadáver o mapeamento da drenagem linfática da mama e verifica que não há evidencia concreta da drenagem centrípeta (descrito por Sappey) para o plexo sub-areolar e a seguir, via este plexo, para o gânglio sentinela. Demonstra que há vasos torácicos que passam da periferia, através do tecido mamário, para a axial e classifica o sistema

*Methylene blue has been used successfully in some hospitals with fewer resources and seemingly more allergies or complications than other dyes, but its use is not common. The affordable price is now seen as a good method in countries without the resources of developed countries, since together with the radiocolloid does not increase the rate of identification numbers to justify the costs.*

*Methylene blue has been used successfully in some hospitals with fewer resources and seemingly more allergies or complications than other dyes, but its use is not common. The affordable price is now seen as a good method in countries without the resources of developed countries, since together with the radiocolloid does not increase the rate of identification numbers to justify the costs.*

*In the market there is a patent on a product that contains a dye of low birth weight (125I-labeled methylene blue) that will allow the radiolabeled BGS in one step. (Woltering, 2004). It is accepted that the combined technique is that which contributes to higher rates of identification.*

*The waiting time to perform the technique after injection of dye or radiocolloid is also mentioned as an important factor for success. The literature points to a variability of 3-10 minutes from injection to initiate proceedings for the collection of the ganglion. From our experience it is best to start at 10 minutes. For the radiotracer used as the vehicle is heavier, they are retained longer in the ganglion. Even at 48, although the half-life of the isotope of 4-6h affect the counting by a gamma probe.*

*The injection site is still controversial if there is no local consensus. Injection sites to locate the sentinel node are sub-areolar, periareolar peritumor and sub-dermal surface to the tumor site or dermis. One of the problems of this diversity is that the recommendations for mapping has been made on clinical grounds and not anatomical.*

*A recent study anatomical basis is to Suami. This author studied the corpse mapping the lymphatic drainage of the breast and finds that there is no concrete evidence of centripetal drainage (described by Sappey) for the sub-areolar plexus and then, via this plexus, to the sentinel node. Demonstrates that there is thoracic vessels that pass from the periphery, through the breast tissue, for axial and classifies the lymphatic system in superficial and deep in relation to deep fascia. The system*



linfático em superficial e profundo em relação à fáscia profunda. O sistema perfurante está ligado ao sistema linfático profundo e estes vasos colectores caminham com os vasos torácicos internos. Assim como existe variação anatómica dos vasos sanguíneos, haverá estas variações no sistema linfático. Esta teoria apoia o potencial tumoral da metastização para a mama interna a partir de todos os quadrantes da mama, especialmente nas localizações centrais ou profundas. Este autor defende que a injeção deve ser peri-tumoral. Os linfáticos do estroma peri-tumoral aparecem dilatados e ingurgitados podendo inclusive penetrar a periferia do tumor. Dado que também apoiam a injeção peri-tumoral. (Pepper, 2001)

Esta teoria poderia responder a questão do potencial falso negativo (e futura ocorrência de metástase axilar). No entanto, se isto ocorre é numa percentagem baixa porque as taxas de falsos negativos em Instituições com muita experiência são baixas. No nosso caso temos taxas de identificação nos 99%, em cerca de 280 BGS.

Mas a localização que oferece melhor taxa de identificação é a sub-areolar. No Instituto Europeu de Oncologia em Milão, que só fazem marcação com radiocoloide, injectam o produto ecoguiado na região peri-tumoral. Na nossa Instituição, o radiocoloide, na lesão palpável, é injectado pela Medicina Nuclear na região peri-tumoral. Quando não palpável é injectado na zona sub-dérmica acima do quadrante do tumor. Como fazemos a técnica combinada, injectamos o azul patente na região sub-areolar.

Para além da axila qual a taxa de visualização de gânglios de outras localizações? Na mama interna é de 6-26%, outras cadeias como a supra-clavicular, intra-pectoral ou intra-mamária a taxa é de 2-7%.

De facto, na nossa série pessoal não temos identificado gânglios metastáticos com localização na cadeia mama interna. Qual a probabilidade de estes estarem na origem das recorrências locais e à distancia é algo que ainda não sabemos.

Estas técnicas de identificação põem em evidencia a questão se a drenagem linfática da pele e tecido subcutâneo é igual à do tumor. São os tumores pequenos de comportamento

*is connected to the perforating deep lymphatic vessels and these collectors go with the internal thoracic vessels. Just as there is anatomical variation of blood vessels, these will be variations in the lymphatic system. This theory supports the potential of the tumor to the internal mammary metastization from all quadrants of the breast, especially in central locations or deep. This author argues that the injection should be peri-tumoral. The nodes in the peri-tumor stroma appear dilated and engorged and can even penetrate the periphery of the tumor. Given that also support the peri-tumoral injection. (Pepper, 2001)*

*This theory could answer the question of potential false negative (and future occurrence of lymph node metastasis). However, if this occurs is because a low percentage of false negative rates at institutions with much experience are low. In our case we have rates of identification in 99%, about 280 BGS. But the location that provides better identification rate is the sub-areolar. In European Institute of Oncology in Milan, which only make appointment with radiocolloid, inject the product ecoguiado in peri-tumoral region. In our institution, the radiocolloid in the palpable lesion is injected on Nuclear Medicine in peri-tumoral region. When no tangible is injected into the area above the sub-dermal tumor quadrant. How do the combined technique, inject the blue dye in the sub-areolar region. In fact, in our personal series have not identified with metastatic lymph nodes located in the internal mammary chain. How likely are the source of these local recurrences and distance is something we do not know.*

*These identification techniques call into question the evidence that the lymphatic drainage of the skin and subcutaneous tissue is equal to the tumor. Are small tumors of aggressive behavior that can drain to other chains and contribute to false negatives. (Bonnema & Van de Velde, 2002)*

*In literature, the false negative rate for BGS is 5-8%. Mean by a false negative identification incomplete. But the false negative histology is also appreciable in the cases of micrometastases and isolated clusters of cells. This false negative although it can stage a sub case in concrete and lead to the absence of the second chemotherapy Nano has a low impact but the impact of false negatives is low. (Nano MT, 2002)*

*In DCIS, it is BGS in all cases of extensive injury, or at risk for micro / invasiveness. The behavior of intra-ductal tumors is not equal. This is apparent in the percentage of invasive lesions that are hidden*

agressivo que podem drenar para outras cadeias e que contribuem para os falsos negativos. (Bonnema & Van de Velde, 2002)

Na literatura o falso negativo para a BGS é 5-8%. Entendemos por falso negativo uma identificação incompleta. Mas o falso negativo histológico também é apreciável nos casos de micrometastases e aglomerados de células isoladas. Este falso negativo apesar de poder sub-estadiar o caso clínico em concreto e ter como consequência a ausência de quimioterapia segundo Nano tem um impacto baixo mas o impacto dos falsos negativos é baixo. (Nano MT, 2002)

No DCIS, faz-se BGS em todos os casos de lesão extensa, ou onde haja risco de micro/invasividade. O comportamento dos tumores intra ductais não é igual. Isto é aparente na percentagem de lesões invasivas ocultas ou que não foram detectadas. (Pendas, Jakub, Giuliano, Gardner, Bowen Swor, & Reintgen, 2004) É melhor ter um resultado negativo de que ter dúvida no futuro quanto ao estado à data da cirurgia, numa eventual recorrência.

No caso da BGS da mama interna, ainda recentemente (2008) foi publicado que a BGS só tem benefício terapêutico num número limitado de doentes. Mesmo com uma selecção cuidadosa, a morbilidade do procedimento deve ser pesado contra o benefício. (Enke-Pluijmers M, 2008)

A BGS na quimioterapia neoadjuvante feito antes de iniciar a QT é fiável e pode contribuir para a decisão terapêutica. A BGS após terminar a quimioterapia continua controverso. A questão é se o gânglio sentinela reflecte o estado patológico dos gânglios restantes, sabendo que os gânglios podem não responder à QT de forma uniforme. (Bonnema & Van de Velde, 2002)

A importância da micrometastase (2mm) ou de grupos celulares (< 2mm) no gânglio também não é bem compreendido. É conhecido que estas lesões pré-clínicas têm potencial para se desenvolver (replicação limitada) mas o que as mantém em fase de não replicação, não é conhecido. A sua ausência de replicação explicaria a resistência a tratamentos que têm como alvo células que proliferam. Mas, aparentemente, muitos destes focos regridem espontaneamente, talvez por apoptose. (Luzzi KJ, 1998)

Há poucas series que analisam a sobrevida

or not detected. (Pendas, Jakub, Giuliano, Gardner, Bowen Swor, & Reintgen, 2004) It is better to have a negative to have doubt in the future as to the state at the time of surgery, a possible recurrence.

BGS in neoadjuvant done before starting chemotherapy is reliable and can contribute to the therapeutic decision. BGS after the completion of chemotherapy remains controversial. The question is whether the sentinel node reflects the pathological state of other nodes, knowing that the lymph can not respond uniformly to QT. (Bonnema & Van de Velde, 2002)

The importance of micrometastases (2 mm) or cell clusters (<2mm) in the ganglion is not well understood. It is known that these lesions pre-clinical studies have the potential to develop replication (limited) but what keeps being no replication is not known. Their lack of replication could explain the resistance to treatments that target proliferating cells. But apparently many of these outbreaks will resolve spontaneously, perhaps by apoptosis. (KJ Luzzi, 1998)

There are few series that analyze the survival of patients with positive nodes who did not axillary dissection. The axillary dissection remains the standard in the control of locoregional disease. This pertinent question has not got an answer, however, beginning to be accredited suggestions Groups like the American College of Surgeons through the Trial ZO11 published on September 1, 2010. In a study of 446 patients with breast tumor and the sentinel node positive patients were randomized into two groups, an arm of the patients had undergone sentinel node biopsy (BGS) and another arm had undergone axillary dissection and BGS. Patients in both groups were similar in age, Bloom-Richardson score, estrogen receptor status and tumor type. All had adjuvant chemotherapy and were followed on average every 6.3 years. They concluded that despite the potential for developing residual disease in the axilla, there was no statistically significant differences between the two groups and suggest that the BGS in armpits positive cases selected in early stages, can be treated with conservative surgery and adjuvant systemic therapy, avoiding axillary dissection. (Giuliano et al., 2010)

And the mechanisms of metastasis and lymphangiogenesis?

Very little is known about the methods of intravasão compared with lymphatic vascular invasion. However, it is thought that the process of lymphangiogenesis is similar to well-known mechanism of angiogenesis. Molecular techniques suggest

de doentes com axilas positivas que não fizeram esvaziamento axilar. O esvaziamento axilar permanece como standard no controle locorregional da doença. Esta questão pertinente ainda não tem uma resposta, no entanto, começam a surgir sugestões de Grupos credenciados como o American College of Surgeons através do Trial ZO11 publicado no dia 1 de Setembro, 2010. Num estudo de 446 doentes com tumor da mama e o gânglio sentinela positivo as doentes foram randomizadas em 2 grupos, num braço as doentes tinham sido submetidas a biopsia do gânglio sentinela (BGS) e noutro braço tinham sido submetidas a BGS e esvaziamento axilar. As doentes dos dois grupos eram semelhantes em idade, score Bloom-Richardson, status receptor estrogénio e tipo de tumor. Todas fizeram quimioterapia adjuvante e foram todas seguidas em media 6.3 anos. Concluíram que apesar do potencial para desenvolver a doença residual na axila, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos e sugerem que a BGS em axilas positivas em casos seleccionados, em estadios precoces, podem ser tratadas com cirurgia conservadora e terapia sistémica adjuvante, evitando esvaziamento axilar. (Giuliano, et al., 2010)

E dos mecanismos de metastização e linfangiogenese?

Muito pouco é conhecido acerca dos metodos de intravasão linfática em comparação com invasão vascular. No entanto, pensa-se que o processo de linfangiogenese é semelhante ao bem conhecido mecanismo de angiogenese. Técnicas de estudo molecular sugerem que factores prováveis incluem as citokeratinas segregadas pelo tumor como por ex. Factores de crescimento vascular endoteliais (VGEF), expressão da célula tumoral de receptores específicos de quimoquinas, moléculas de adesão e integrinas. Estes marcadores moleculares vai permitir agora uma melhor compreensão do mecanismo de metastização das células tumorais pelo sistema linfático. O movimento direccionado para os linfáticos e os gânglios parece seguir o ambiente quimoquina. (SD, 2003)

O gânglio sentinela parece ter um micro-ambiente molecular favorável que permite as células tumorais sobreviver e proliferar. Estudos e pesquisas devem ser feitos para examinar esta competência se em facto existe. O trajecto linfático anatómico eferente, a patologia tumoral

*that probable factors include cytokeatin secreted by tumor eg. Vascular endothelial growth factors (VGEF), tumor cell expression of specific receptors for chemokines, adhesion molecules and integrins. These molecular markers will now enable a better understanding of the mechanism of metastasis of tumor cells by the lymphatic system. The directional movement to the lymph nodes and the environment seems to follow the chemokines. (SD, 2003)*

*The sentinel node seems to have a favorable molecular micro-environment that allows tumor cells survive and proliferate. Studies and surveys should be conducted to examine whether that power in fact exists. The journey efferent lymphatic anatomy, pathology and tumor biological factors within the local nodes can explain how the sentinel node can contain the spread. (Mansfield, Deval, Rehman, & Mokbel, 2006)*

*The presence of tumor cells in peripheral lymph nodes or tumor is fairly rare in primary tumors. There are theories that describe an open lymphatic labyrinth associated with the primary tumor which allows tumor cells can be dragged with free flow of tissue fluid into the lymphatic drainage channels. The alternative hypothesis is intravasão tumor cells actively. (Hartveit, 1990)*

*New issues that are linked to the knowledge of the mechanisms of lymphatic spread:*

*1. Some phenomenon of lymphangiogenesis or dilation of existing nodes can increase the likelihood of tumor spread?*

*2. What are the molecular mechanisms lead to these phenomena?*

*3. The mechanisms are similar to what occurs in the circulatory system?*

*4. The inhibition of lymphangiogenesis is the key therapeutic strategy?*

*home into the lymphatic drainage channels. The alternative hypothesis is intravasão tumor cells actively. (Hartveit, 1990)*

e factores biológicos locais dentro dos linfáticos podem explicar a forma como o gânglio sentinela pode conter a disseminação. (Mansfield, Devalia, Rehman, & Mokbel, 2006)

A presença de células tumorais nos linfáticos peri ou justa tumorais não é raro nos tumores primários. Há teorias que descrevem um labirinto linfático aberto associado ao tumor primário que permite que células tumorais livres possam ser arrastadas com o fluxo de líquido tecidual para dentro dos canais de drenagem linfática. A hipótese alternativa é a intravasão tumoral celular activa. (Hartveit, 1990)

Novas questões que ficam ligados ao desconhecimento dos mecanismos de disseminação linfática:

1. Algum fenómeno de linfangiogenese ou dilatação dos linfáticos existentes poderá aumentar a probabilidade de disseminação tumoral?
2. Quais os mecanismos moleculares a originar estes fenómenos?
3. Os mecanismos serão semelhantes ao que ocorre no sistema circulatório?
4. A inibição da linfangiogenese será a chave na estratégia terapêutica?

## **II. MODELOS ANIMAIS DO GÂNGLIO SENTINELA**

### *II. Animal models of sentinel node*



## II. MODELOS ANIMAIS DO GÂNGLIO SENTINELA

### *II. Animal models of sentinel node*

A existência de um modelo experimental permite aferir aquele elemento que pode levar à evolução da prática médica. Esse mesmo factor que para sua confirmação ou negação necessita de verificação em fases pré-clínicas. Baseando-se numa metodologia correcta e numa fisiopatologia muito aproximada com a que se verifica no Humano um modelo experimental pode dar uma resposta à questão formulada.

Será possível a caracterização de um modelo animal experimental do gânglio sentinela da mama? É possível e existem trabalhos que demonstram a possibilidade de pesquisar o gânglio sentinela no animal. Existem modelos no animal de maior porte, cão e porco, para estudos da exequibilidade da abordagem laparoscópica no gânglio sentinela axilar 27,28.

Mas apesar das múltiplas questões em aberto, acerca da utilização na prática clínica generalizada da biopsia do gânglio sentinela, como vimos em capítulo anterior, ainda não existe um modelo experimental do gânglio sentinela na neoplasia da mama caracterizado no pequeno animal, no rato de laboratório.

Pretende-se um modelo com características de disponibilidade, pouco dispendioso e onde os grupos de animais envolvidos no grupos tenham um umero que possa responder às questões em análise. E, por outro lado, que assegure as

*The existence of an experimental model that allows measuring element that can lead to the evolution of medical practice. This same factor as for confirmation or denial requires verification in preclinical stages. Based on a sound methodology and a pathophysiology very closely with that found in a human experimental model can give an answer to the question asked.*

*Is it possible to characterize an experimental animal model of breast sentinel node? It is possible, and studies have demonstrated the ability to search the sentinel node in the animal. There are models in the larger animal, dog and pig, to study the feasibility of laparoscopic approach in axillary sentinel node 27,28.*

*But despite the many open questions about the use in clinical practice of sentinel node biopsy, as we saw in the previous chapter, there is still an experimental model of sentinel node in breast cancer characterized the small animal in the laboratory rat.*

*The aim is a model with features available, inexpensive and where groups of animals involved in groups have a humerus that can answer the questions under review. And, secondly, to ensure the conditions for it to be used in several trials.*

*Also the model consistency must be ensured. Be familiar with a good surgeon with the techniques to be used, whether on trust, confidence that the*

condições para que possa ser utilizado em vários ensaios.

Igualmente a consistência do modelo deve ser assegurada. Seja com uma boa familiarização do cirurgião com as técnicas a utilizar, seja na confiança, na segurança de que os resultados obtidos podem ser atribuídos à técnica utilizada. A reprodutibilidade é igualmente outro factor que um modelo experimental deve assegurar. Este factor diz respeito à habilidade para um investigador obter resultados semelhantes a outro.

Todas estas são condições que pretendemos para o nosso modelo.

O rato Wistar e Sprague-Dawley são dois animais que reúnem estas características. Naturalmente que particularidades do animal escolhido devem ser levadas em conta neste modelo. O rato Wistar vive em média 31-33.6 meses, iniciam o ciclo reprodutivo que dura cerca de um ano, entre os 50 e os 60 dias. Neste período têm cerca de 7 a 10 gestações, com 7 a 10 fetos por período. O rato Sprague-Dawley é em linhas gerais muitos sobreponível. Assim no modelo deve ser de idade ajustada compatível com a do adulto.

In the little mouse is described on the lymphatic system. What is said is that different from a true circulatory system in which the lymph is transported only to the heart (via the venous circulation), and not normally found in lymph erythrocytes. The walls of the lymph are very thin and consequently any attempt to trace the route to products is frustrating. Some nodes are listed others are irregular. (Warren F. Walker)

*results can be attributed to the technique used. Reproducibility is another important factor that should ensure an experimental model. This factor relates to the ability for an investigator to obtain similar results to another.*

*All these are conditions that we want for our model.*

*Rat Wistar and Sprague-Dawley rats are two animals who meet these criteria. Naturally, the particular animal chosen should be taken into account in this model. The Wistar rats live an average of 31-33.6 months, begin the reproductive cycle that lasts about a year, between 50 and 60 days. This period are about 7 to 10 pregnancies, 10 fetuses with 7 per period. The Sprague-Dawley rat is broadly sobreponível many. Thus the model should be compatible with the age adjusted adult.*

*In the little mouse is Described on the lymphatic system. What is said is different from the true That circulatory system in the lymph Which Is Transported only to the heart (via the venous circulation), and not found in lymph Normally erythrocytes. The walls of the lymph are very thin and consequently any attempt to trace the route to products is frustrating. Some nodes are listed others are irregular. (Warren F. Walker)*



### **III. CRIAÇÃO DO MODELO EXPERIMENTAL DO GS MAMÁRIO NO RATO**

*III. Creation of the Experimental Model of  
mammary SN in rat*



### III. CRIAÇÃO DO MODELO EXPERIMENTAL DO GS MAMÁRIO NO RATO

#### *III. Creation of the Experimental Model of mammary SN in rat*

#### Modelo Experimental do GS mamário *Experimental Model of mammary SN*

São realizados 2 ensaios separados. O inicial decorre no rato Sprage-Dowley fêmea e o segundo no Wistar fêmea. São dois animais frequentemente utilizados em modelos de tumores mamários induzidos quimicamente.

O estudo dos detalhes anatômicos é importante pela "translational medicine" que dá sentido aos modelos pré-clínicos. O murganho tem 5 pares de mamilos, bem como o cão por exemplo. No rato existem 6 pares de mamilos. Por outro lado os mamilos e tecido mamário correspondentes à região abdomino-inguinal que têm vascularização da epigástrica caudal e epigástrica cefálica terão o gânglio sentinela a nível inguinal ou igualmente axilar?

Pela disposição anatômica do rato com três pares de mamilos torácicos e outros três pares de mamilos posteriores, abdomino-inguinais, o Ensaio I verifica qual o papel dos linfáticos da mamária interna nas localizações do GS do tecido mamário correspondente aos mamilos posteriores.

*Two separate tests are performed. The initial apparent in rats and female Sprague-Dowley second in female rats. Two are often used in animal models of chemically induced mammary tumors.*

*The study of anatomical details is important for "translational medicine" that gives meaning to pre-clinical models. The mice have five pairs of nipples, and the dog for example. In the rat there are six pairs of nipples. Moreover the nipples and breast tissue corresponding to the abdomino-inguinal region having epigastric vasculature of the cephalic and caudal epigastric sentinel node will have to also axillary or inguinal level?*

*For the anatomical arrangement of the mouse with three pairs of thoracic nipples and three pairs of nipples subsequent abdomino-inguinal, Essay I check what is the role of the internal mammary lymph nodes in the locations of the GS of the breast tissue corresponding to the nipples later. In the second experiment, carried out the study ganglia in mice without pathology., Clarified the abdominal drain, this paper characterizes and quantifies the use of a mouse model of sentinel node.*

Estudos para definir e esclarecer caminhos de drenagem linfática no rato adulto usado em laboratório são fundamentais para estudos em modelos pré clínicos. Nomeadamente nos estudos que envolvam modelos oncológicos. Desde o início do século passado que vários autores têm vindo a contribuir para um conhecimento detalhado destes padrões de drenagem. Tilney em 1971, presented a more complete definition of both somatic and visceral lymphatic routes.

Este autor afirma que os nódulos inguinais estão emparelhados e são incorporados em gordura subcutânea nos flancos perto das veias epigástrica superficial e drenagem das regiões glútea, coxas e abdômen. O grande eferentes inguinal cursos tronco linfático cefálico ao longo de cada linha dos mamilos das cadeias axilar. Por outro lado, uma imagem adaptada do estudo Tilney mostra como áreas de drenagem axilar, onde os mamilos estão implantados no peitoral e região abdomino-inguinal, figura 1, e diz que apesar da variação ocasional no tamanho e número de nós, a localização da tecido linfóide e distribuição dos canais linfáticos é consistente em animais individuais e entre as diferentes linhagens de ratos. Bem definidas áreas cutâneas são drenados por grupos específicos de nós. Nós, dentro destes grupos de drenagem locais distintos, embora muitas vezes há sobreposição entre nós adjacentes.

O estudo da vascularização da região anatômica do animal ultimamente tem sido actualizado, uma vez que tem servido como modelo para estudo de retalhos pediculados (Ref 2-4). Por outro lado, é a região anatômica de tecido mamário. Por esta razão, a caracterização de um modelo em animais de pequeno porte do linfonodo sentinela do tecido da mama é importante esclarecer o padrão de drenagem linfática da mama na região abdomino-inguinal.

De acordo com este autor é conhecido que os nódulos inguinais estão envolvidos em tecido celular subcutâneo nos flancos perto das veias epigástricas superficiais e drenam as regiões glúteas, das coxas e abdomen inferior. Bem como que no adult laboratory rat que o grande tronco linfático eferente cursa cefalmente ao longo da linha mamilar até as cadeias axilares. Por outro lado apresenta em imagem como drenagem axilar areas onde se implantam mamilos do grupo posterior, do grupo abdomino-inguinal.

*Studies to define and elucidate patterns of lymphatic drainage in the adult laboratory rat are fundamental for pre-clinical models, namely those that involve oncologic models. Since the beginning of the last century, various authors have contributed towards what is now detailed knowledge of these patterns of drainage. Tilney in 1971, presented this study on lymphatic patterns and included an extensive definition of both somatic and visceral lymphatic routes (Ref 1). The author states that the inguinal nodes are paired and are embedded in subcutaneous fat in the flanks near the superficial epigastric veins and drain the gluteal regions, thighs and lower abdomen. The large efferent inguinal lymphatic trunk courses cephalad along each nipple line to the axillary chains. On the other hand, an image adapted from Tilney's study shows as axillary drainage areas where the nipples are implanted in the pectoral and the abdomino-inguinal area, figure 1, and says that despite occasional variation in size and number of nodes, the location of lymphoid tissue and distribution of lymphatic channels is consistent in individual animal and among the strains of rats. Well-defined cutaneous areas are drained by specific groups of nodes. Nodes within these groups drain distinct sites, although there is usually some overlap between adjacent nodes.*

*The study of the vascularisation of this anatomical region in the animal has lately been updated as it has served as a model for study of pedicle flaps (Ref 2-4). On the other hand, it is the anatomical region for breast tissue. For this reason, the characterization of a model in the small animal of the sentinel node from breast tissue is important to clarify the pattern of lymphatic drainage of the breast in the abdomino-inguinal region. In the second experiment, carried out the study ganglia in mice without pathology., Clarified the abdominal drain, this paper characterizes and quantifies the use of a mouse model of sentinel node*

*Objectives that determine the relevance and originality of the work*

Na caracterização no pequeno animal de um modelo do gânglio sentinela do tecido mamário é importante clarificar este aspecto. No Ensaio II, realiza-se o Estudo dos gânglios em ratos sem patologia., esclarecido a drenagem abdominal, este ensaio caracteriza e quantifica a utilização do rato para um modelo de gânglio sentinela

Objectivos que determinam, a relevância e originalidade do trabalho

**Objectivo Principal:**

Caracterização de um Modelo Experimental do gânglio sentinela mamário no rato

**Objectivos secundários:**

Caracterização do modelo nos componentes anatomico-fisiológicos. para consolidação da “translational research” no estudo de disseminação linfática e procedimentos para travar esta disseminação

**Main objective:**

*Characterization of an Experimental Model of rat mammary sentinel node*

**Secondary objectives:**

*Characterization of the anatomico-physiological model components for consolidation of “translational research” in the study of lymphatic spread and procedures to stop this spread*

# Ensaio I. Study I.

## Drenagem linfática da parede na região abdomino-inguinal no rato

### *Lymphatic drainage in the wall of the abdominal-inguinal region in rat*

#### MATERIAL E MÉTODOS

O estudo do papel da mama interna na localização do gânglio sentinela dos mamilos posteriores em ratos sem patologia é feito num grupo de 14 ratos Sprague-Dawley fêmeas, com 6-8 semanas de idade, sem gravidez prévia e sem nenhuma manipulação prévia. Os animais foram anestesiados com uma mistura de ketamina e cloropromazina, administrado via i.m. no membro posterior, na dose de 60mg/kg de ketamina e 15 mg /kg de cloropromazina.

#### Peso e medidas do animal.

Os animais foram pesados na altura do estudo e medidos. A nível dos mamilos foram consideradas as seguintes medições: Distância entre mamilos homólogos; Distância extrema entre mamilos; Distância média entre mamilos homólogos sucessivos.

Distância entre mamilos homólogos - a distância entre dois mamilos com a mesma numeração, sendo um direito e outro esquerdo. Para fazer a

#### MATERIAL AND METHODS

Fourteen Sprague-Dawley female rats, 6-8 weeks old, with no previous pregnancies or manipulations were used for the study of the role of the vascularisation in the location of the sentinel node and the nipples of the abdomino-inguinal region. The animals were anesthetized with a mixture of ketamine and chlorpromazine administered intramuscularly in the hind leg in the dose of 60mg/kg of ketamine and 15 mg /kg of chlorpromazine.

#### **Weight and Measurements of the animal**

The following measurements were considered: the distance between homologous nipples; the maximum distance between nipples; the distance between nipples successive homologous nipples.

The distance between homologous nipples (the distance between the two nipples with the same numeration, one being left and the other right). To describe these measurements, the following,

descrição desta medida usaram-se notações:

M (1D-1E) a distância entre os mamilos mais anteriores

M (2D-2E) a distância entre os segundos mais anteriores

M (3D-3E) a distância entre os mamilos mais posteriores do grupo anterior

M (4D-4E) a distância entre os mamilos mais anteriores do grupo posterior

M (5D-5E) a distância entre os mamilos localizados caudalmente de imediato aos mais anteriores do grupo posterior

M (6D-6E) a distância entre os mamilos mais posteriores

Distância extrema entre mamilos - a distância extrema entre mamilos é a distância medida entre a linha de união entre os mamilos mais anteriores (1D-1E) e a linha de união entre os mamilos mais posteriores (6D-6E). Para fazer a descrição desta medida foi utilizada a notação M (1-6).

Distância média entre mamilos homólogos sucessivos - a distância média entre mamilos homólogos sucessivos é a distância medida, na linha ventral mediana, entre as linhas que unem os respectivos mamilos homólogos, de numeração sucessiva. Para fazer a descrição desta medida usaram-se as notações:

M (1-2) a distância média entre os mamilos nº1 e nº2, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos

M (2-3) a distância média entre os mamilos nº2 e nº3, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos

M (3-4) a distância média entre os mamilos nº3 e nº4, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos

M (4-5) a distância média entre os mamilos nº4 e nº5, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos

M (5-6) a distância média entre os mamilos nº5 e nº6, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos.

Os dados obtidos foram submetidos a tratamento estatístico.

#### **Procedimento Cirúrgico.**

Os procedimentos operatórios decorreram em condições de cirurgia limpa. Inicialmente os procedimentos cirúrgicos foram efectuados com

table I, annotations were used: M (1R - 1L) the distance between the first pair of nipples located in the pectoral region; M (2R - 2L) the distance between the second pair of nipples located in the pectoral region; M (3R - 3L) the distance between the third pair of nipples located in the pectoral region; M (4R - 4L) the distance between the first pair of nipples located in the inguinal region; M (5R - 5L) the distance between the second pair of nipples located in the inguinal region; M (6R - 6L) the distance between the third pair of nipples located in the inguinal region

The maximum distance between nipples - the maximum distance between nipples is the distance measured between the horizontal line uniting the nipples located in the pectoral region (1R-1L) and the line uniting the nipples most distally located in the inguinal region (6R-6L). To describe these measurements, the annotation M (1-6) was utilized.

The distance between nipples successive homologous nipples - the distance measured between successive homologous nipples is the distance measured, on a medial ventral line, between the lines that unite the respective homologous nipples, the numeration is successive. To describe these measurements, the following annotations were used: M (1 - 2) the median distance between nipples 1 e 2, in metric units or in % of greatest distance between nipples; M (2 - 3) the median distance between nipples 2 e 3, in metric units or in % of greatest distance between nipples; M (3 - 4) the median distance between nipples 3 e 4, in metric units or in % of greatest distance between nipples; M (4 - 5) the median distance between nipples 4 e 5, in metric units or in % of greatest distance between nipples; M (5 - 6) the median distance between nipples 5 e 6, in metric units or in % of greatest distance between nipples.

#### **Surgical Procedure**

The surgical procedures were done under clean conditions. Initially, microsurgery was used to facilitate the surgical procedures, however, after some training it was possible to execute the procedure without it.

The animals were anaesthetised, placed in the dorsal decubitus position and secured to a surgical board. To observe and describe the

Table III - Distance between homologous pairs						
	M (1R-1L)	M (2R-2L)	M (3R-3L)	M (4R-4L)	M (5R-5L)	M (6R-6L)
Mean	21,37	37,378	46,678	50,730	24,671	18,976
SD	2,057	2,567	4,322	4,322	3,685	3,042
IC 95%	21,067	37,094	46,358	50,318	24,163	18,493
	21,672	37,663	46,999	51,143	25,178	19,460

Table IV - Median distance between successive homologous pairs					
	M (1-2)	M (2-3)	M (3-4)	M (4-5)	M (5-6)
Mean	21,157	13,409	39,53	24,004	15,109
SD	2,738	2,918	4,093	4,501	2,097
IC 95%	20,754	12,863	39,008	23,379	14,743
	21,559	13,955	39,973	24,630	15,474

Table (%)

	M (1-2)	M (2-3)	M (3-4)	M (4-5)	M (5-6)
Mean	37,0	23,9	68,8	42,7	26,9
SD	6,9	7,5	8,4	12,3	6,7
IC 95%					

recurso à microcirurgia contudo, após algum treino, foi possível executar o procedimento sem necessidade de recorrer a esta técnica.

Os animais depois de anestesiados, foram colocados em decúbito dorsal e fixados numa placa cirúrgica. Para a observação e descrição dos mamilos consideram-se dois grupos, um anterior e outro posterior o correspondente à região abdomino-inguinal. Foram abordados sequencialmente os mamilos do grupo posterior, com três pares, numerados de 4-6 no sentido foinho-anal. Distinguem-se os direitos dos esquerdos pelas letras D e E, respectivamente. Cada animal foi injectado com 0,1ml de solução de azul patente (0,4mg). O produto foi administrado sub-mamilarmente com agulha de 25 F. Por ser importante o timing no procedimento de cada mamilo e correspondente procedimento posterior, era feito sequencialmente.

O procedimento iniciou-se aos 5, 7 e 13 min. após a administração do azul patente. Com uma incisão cutânea xifopúbica até plano

nipples, two groups were considered, one pectoral and the other abdomino-inguinal, corresponding to the anatomical region. The inguinal group was treated sequentially, as 3 pairs, numbered 4-6 (cranio-caudal). The letters R and L distinguished the right from the left, respectively. Each animal was injected with 0.1ml of the solution patent blue dye (0.4mg). It was administered submamilarly using a 25F needle. Because timing was important, the procedure was done one by one on each nipple in a sequential fashion.

Incision was initiated 5, 7 and 13 minutes after administration of the dye, in the effort to find the optimal timing for the procedure. A xifopubic incision was performed, the depth being to the muscular plane of the chest and abdominal wall. A rhomboid dissection was performed to isolate the skin and fatty subcutaneous layer from the muscular layer.

This incision and exposure of the structures at this level permits the visualization of the



<b>Table VI – Sentinel Node and the lymphatic pathway of the abdomino-inguinal region</b>				
	Negative Identification	Positive Identification		
Nº	1	27		
%	3,7%	97,3%	<b>With Positive Identification</b>	
			<b>Inguinal Node without efferent pathway</b>	<b>Inguinal Node with efferent pathway</b>
Nº			12/27	17/27
%			44,4%	55,6%

<b>Table VII - Sentinel Node abdomino-inguinal region with efferent pathway</b>				
	<b>Inguinal Node with efferent pathway</b>			
	Along the lateral epigastric vessel	Along the internal epigastric vessel	Atypical pathway in between two pathways	Presence of lymphatic arch cephalic epigastric level
Nº	14	2	1	9 (em 17)
%	82,4%	11,8%	5,9%	52,9%

muscular da parede toraco-abominal, fez-se uma dissecação roma com descolamento da pele e tecido celular subcutâneo até plano muscular. Esta incisão e posterior exposição de todas as estruturas para além do plano muscular permitiu visualizar os trajectos linfáticos e gânglios das regiões anatómicas em análise contrastadas pelo azul patente. Estes foram identificados e documentados por meio de fotografia e vídeo. De seguida, efectuou-se uma laparotomia mediana com verificação de eventuais gânglios abdominais corados pelo azul patente. No fim deste procedimento, os animais foram sacrificados por excesso de anestésico. Os gânglios linfáticos das regiões anatómicas em análise foram excisados e colocados em formol tamponado a 10% para posterior estudo histológico.

**Tratamento estatístico**

Foi utilizada uma folha de calculo Excel num computador Apple G4. Foram consideradas .....

**RESULTADOS**

Dados morfoconstitucionais do Sprague-Dawley

vascular and lymphatic patterns and regional nodes under analysis coloured by the blue dye. These were identified and documented through photography and video. On completion of this, a median laparotomy was performed to verify for the existence of eventual colouring of nodes in the abdomen. At the end of the procedure, all animals were sacrificed with an excess dose of ketamine/chlorpromazine.

The lymphatic nodes of the anatomical regions under analysis were excised and placed in 10% tamponated formol for histological study.

**Statistical Treatment**

The data obtained was submitted to statistical analysis. An Excel sheet of calculus was created on an Apple G4 computer for statistical manipulation.

**RESULTS**

Morphoconstitucional data on Sprague-Dawley rats

The median weight was 200g with SD± 44 and length . Analysing the distance between pairs of homologous nipples in this series, using the

O peso médio do grupo foi de 200 g com  $SD \pm 44$ . Da análise das distâncias entre pares de mamilos homólogos, nesta série, utilizando o coeficiente de Pearson, verifica-se que não há qualquer relação entre estas distâncias e o peso ou o comprimento do animal.

Entre os pares de mamilos anteriores, as distâncias entre pares homólogos é crescente e entre os pares homólogos de posteriores é decrescente, considerando o sentido oro-anal. Nesta série, os valores encontrados para distância entre pares homólogos foram:  $M(1D,1E) = 21,37 \text{ mm} \pm 2,057$ , variando entre 21,067 e 21,672 para um intervalo de confiança de 95%,  $M(2D,2E) = 37,378 \text{ mm} \pm 2,567$ , variando entre 37,094 e 37,663 para um intervalo de confiança de 95%,  $M(3D,3E) = 46,678 \text{ mm} \pm 3,224$ , variando entre 46,358 e 46,999 para um intervalo de confiança de 95%,  $M(4D,4E) = 50,73 \text{ mm} \pm 4,322$ , variando entre 50,318 e 50,143 para um intervalo de confiança de 95%,  $M(5D,5E) = 24,671 \pm 3,685$ , variando entre 24,163 e 24,178 para um intervalo de confiança de 95%, e  $M(6D,6E) = 18,976 \text{ mm} \pm 3,042$ , variando entre 18,493 e 19,46 para um intervalo de confiança de 95%.

A distância média entre pares homólogos sucessivos foi de:  $M(1-2) = 21,157 \text{ mm} \pm 2,738$ , variando entre 20,754 e 21,559 para um intervalo de confiança de 95%,  $M(2-3) = 13,409 \pm 2,918$ , variando entre 12,863 e 13,995 para um intervalo de confiança de 95%,  $M(3-4) = 39,53 \text{ mm} \pm 4,093$ , variando entre 39,088 e 39,973 para um intervalo de confiança de 95%,  $M(4-5) = 24,004 \text{ mm} \pm 4,541$ , variando entre 23,379 e 24,630 para um intervalo de confiança de 95% e  $M(5-6) = 15,109 \pm 2,097$ , variando entre 14,743 e 15,474 para um intervalo de confiança de 95%. A distância média entre os mamilos anteriores foi de:  $M(1-2-3) = 17,595 \text{ mm} \pm 4,837$ , variando entre 16,804 e 18,387 para um intervalo de confiança de 95% e  $M(4-5-6) = 19,943 \text{ mm} \pm 5,749$  variando entre 19,053 e 20,833 para um intervalo de confiança de 95%. Verifica-se assim que a distância entre o mais posterior dos anteriores (M3) e o mais anterior dos posteriores (M4) é maior do que qualquer das outras distâncias.

A distância extrema entre mamilos M (1-6) foi nesta série de  $58,291 \text{ mm} \pm 9,365$ , variando entre 57,462 e 59,121 para um intervalo de confiança de 95%. Fazendo a distância média entre mamilos homólogos com uma fracção da distância extrema entre mamilos, tem-se que, nesta série:

Pearson coefficient, no relation between these distances and the weight or length of the animal was seen.

Between the pairs of nipples in the pectoral region, the distance between homologous pairs is progressively greater, whereas in the inguinal pairs, in the craneo-caudal direction, the distance is progressively smaller.

In this series, the values found for the distance between homologous pairs, table III, were:  $M(1R,1L) = 21,37 \text{ mm} \pm 2,057$  varying between 21,067 e 21,672 with a confidence interval of 95%,  $M(2R,2L) = 37,378 \text{ mm} \pm 2,567$  varying between 37,094 e 37,663 with a confidence interval of 95%,  $M(3R,3L) = 46,678 \text{ mm} \pm 3,224$ , varying between 46,358 e 46,999 with a confidence interval of 95%,  $M(4R,4L) = 50,73 \text{ mm} \pm 4,322$ , varying between 50,318 e 50,143 with a confidence interval of 95%,  $M(5R,5L) = 24,671 \pm 3,685$ , varying between 24,163 e 24,178 with a confidence interval of 95%, e  $M(6R,6L) = 18,976 \text{ mm} \pm 3,042$ , varying between 18,493 e 19,46 with a confidence interval of 95%.

The median distance between successive homologous pairs, table IV, were:

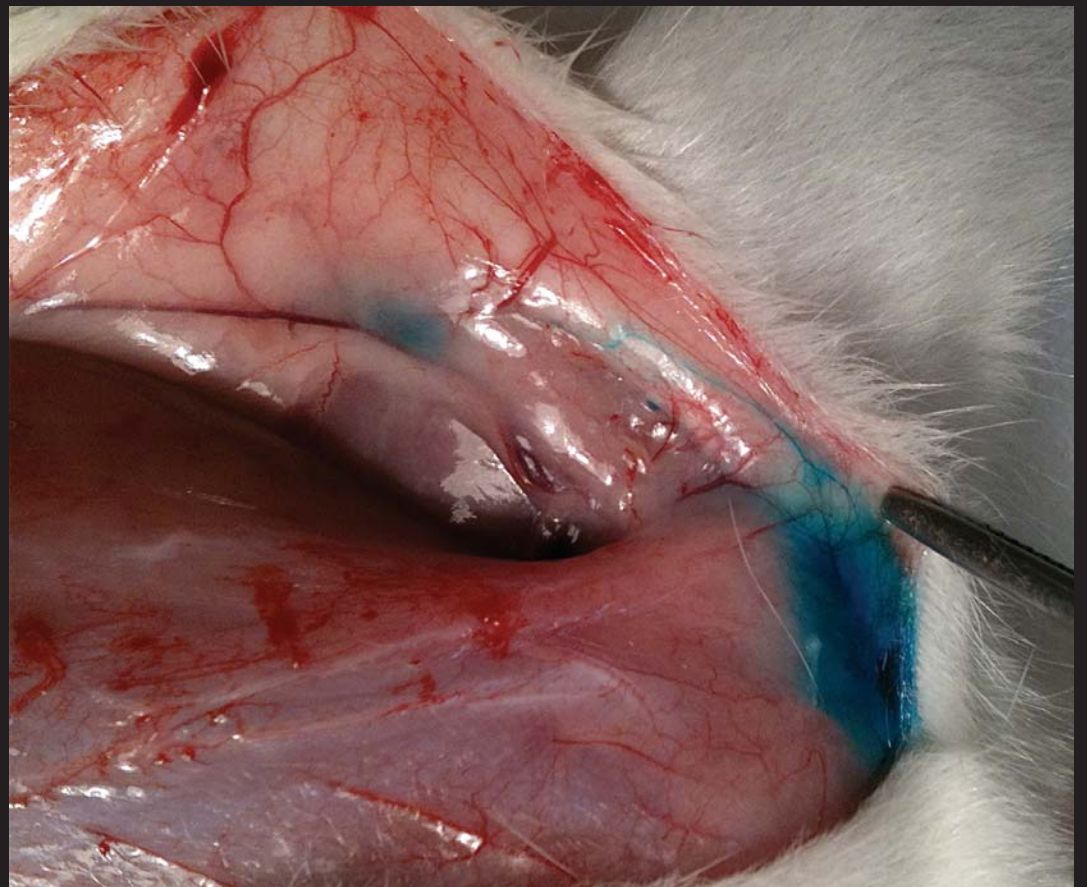
$M(1-2) = 21,157 \text{ mm} \pm 2,738$ , varying between 20,754 e 21,559 with a confidence interval of 95%,  $M(2-3) = 13,409 \pm 2,918$ , varying between 12,863 e 13,995 with a confidence interval of 95%,  $M(3-4) = 39,53 \text{ mm} \pm 4,093$ , varying between 39,088 e 39,973 with a confidence interval of 95%,  $M(4-5) = 24,004 \text{ mm} \pm 4,541$ , varying between 23,379 e 24,630 with a confidence interval of 95% e  $M(5-6) = 15,109 \pm 2,097$ , varying between 14,743 e 15,474 with a confidence interval of 95%.

The median distance between pectoral nipples were:

$M(1-2-3) = 17,595 \text{ mm} \pm 4,837$ , varying between 16,804 e 18, with a confidence interval of 95% and  $M(4-5-6) = 19,943 \text{ mm} \pm 5,749$  varying between 19,053 e 20,833 with a confidence interval of 95%.

The distance between the most caudal of the pectoral nipples (M3) and the most cranial of the inguinal nipples (M4) is greater than any other distance.

The greatest distance between nipples M (1-6) in this series was  $58,291 \text{ mm} \pm 9,365$ , varying between 57,462 e 59,121 with a confidence interval of 95%. The mean distance between homologous nipples with a fraction of the



$M(1-2) = 37 \% \pm 6,9$ ,  $M(2-3) = 23,9\% \pm 7,5$ ,  $M(3-4) = 68,8\% \pm 8,4$ ,  $M(4-5) = 42,7\% \pm 12,3$ ,  $M(5-6) = 26,9\% \pm 6,7$ .

#### Localização da drenagem do azul patente

A localização do gânglio sentinela mamário dos pares de mamilos 4-6 foi positiva com este método em 97,3%, quadro 22. O gânglio identificado, sempre constante, foi o gânglio inguinal correspondente à projecção na superfície desta região ventral, entre o 4 e o 5 par mamilar. Foi encontrado conduto linfático eferente neste gânglio na maior parte das vezes (55,6%). Este conduto linfático conduzia sempre ao gânglio axilar e por duas vezes (2 em 17, 11,8%) também ao braquial.

No quadro 23 verificamos que o canal linfático corado por azul patente com trajecto eferente do gânglio sentinela da região abdomino-inguinal, nem sempre foi o mesmo e o mais frequente acompanhava o trajecto do ramo lateral da epigástrica.

Verificamos que no rato Sprague-Dawley, em cada hemiparede toraco-abdominal existem dois trajectos vasculares correspondentes ao trajecto da hipogástrica. Correndo paralelamente no sentido crânio-caudal, um trajecto mais mediano e outro mais externo, hipogástrica cefálica, têm origem superior em ramos diferenciados da subclávia estendendo-se caudalmente ao longo da parede toraco-abdominal, confluindo a cerca de um centímetro da prega inguinal. Depois da confluência a este nível confluem nos vasos da hipogástrica caudal. A este nível de confluência que corresponde ao da localização do gânglio inguinal localiza-se o gânglio sentinela do tecido mamário dos mamilos posteriores, abdomino-inguinais. Num caso não foi possível a sua localização. Assim, um total de 27 gânglios inguinais foram marcados com azul patente e colhidos dos 14 animais. Relativamente à totalidade dos gânglios colhidos, acrescentando os da 17 axilares e os dois braquiais, foi de 36 gânglios.

O processamento histológico com coloração de E-H confirmou que se tratavam de gânglios na sua totalidade.

#### DISCUSSÃO:

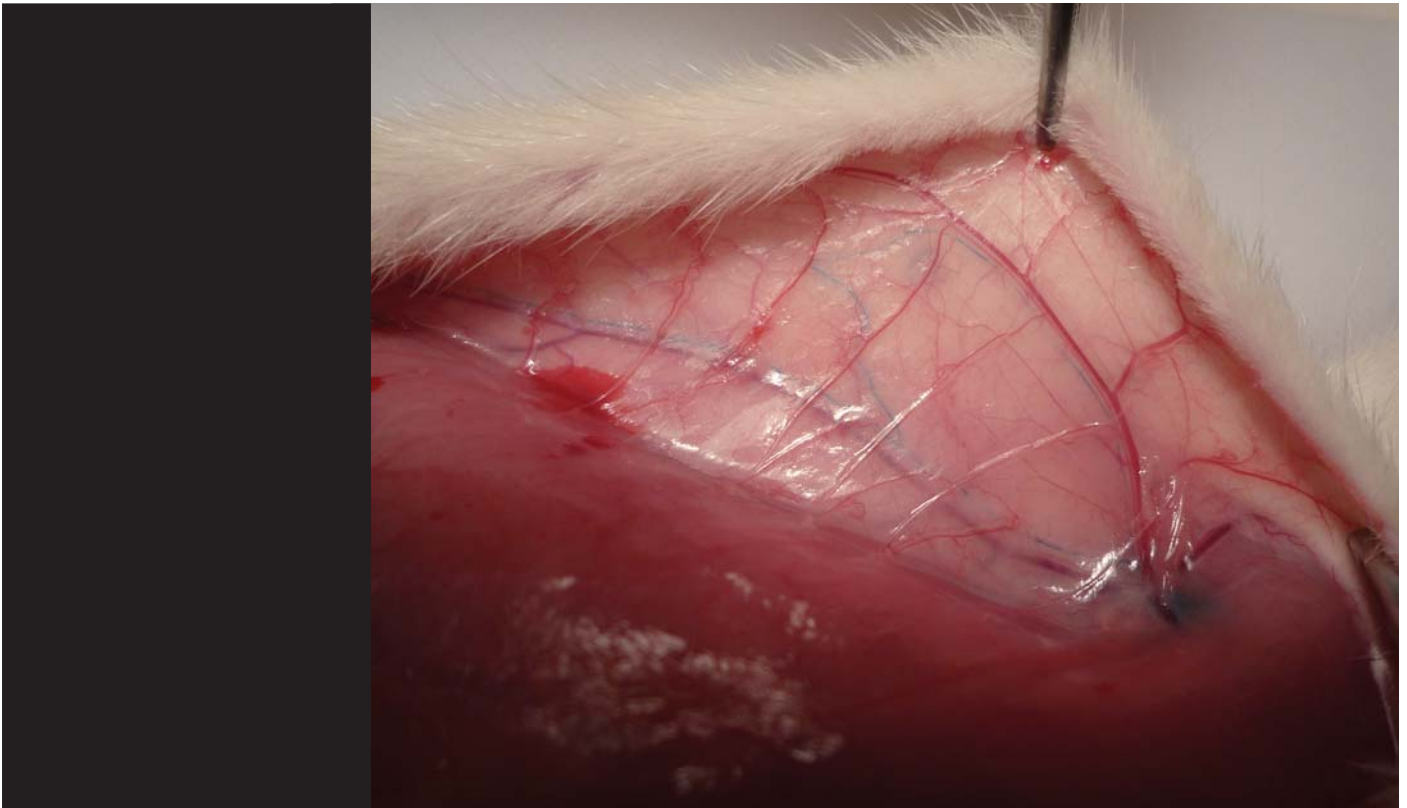
greatest distance between nipples, is in this series:  $M(1-2) = 37 \% \pm 6,9$ ,  $M(2-3) = 23,9\% \pm 7,5$ ,  $M(3-4) = 68,8\% \pm 8,4$ ,  $M(4-5) = 42,7\% \pm 12,3$ ,  $M(5-6) = 26,9\% \pm 6,7$ .

#### Location of drainage of patent blue dye

The identification of the breast sentinel node of the nipple pairs 4-6 was positive with this method in 97.3% of the procedures performed (table VI). The node identified, that was always constant in location, was the inguinal node which corresponds to the projection on the surface of the ventral region, between the 4th and 5th pair of nipples. The lymphatic canal efferent to this node was found in a significant number (55.6%) The path of this lymphatic canal was nearly always to the axillary node, except for twice (2/17; 11.8%) in which it was also braquial. In table 23 we verified that the lymphatic canal coloured by blue dye with the efferent path to the sentinel node from the abdomino-inguinal region, was not always the same and most frequently accompanied the path of the lateral branch of the epigastric vessel.

We verified that in each Sprague-Dawley rat there are 2 venous patterns on each side (left and right) corresponding to the hipogastric veins, foto 1. Running parallel in the cranial caudal direction, one path more medial the other more external, the cephalic hipogastric has its origin more superiorly in differentiated branches of the subclavian extending caudally along the thoraco-abdominal wall, the confluence being one cm above the inguinal fold. After the confluence, at this level, there is a confluence into vessels of the caudal hipogastric artery and vein. At this .....

Um destes dois trajectos paralelos, por vezes, não têm uma continuidade única. Numa percentagem de 20% no trajecto lateral e 40% no mediano, o tronco vascular caudal não tem uma continuidade clara com a sua componente cefálica, fazendo-se o trajecto por ramificações menores que confluem posteriormente para um trajecto comum, foto 2. Uma outra variante anatómica que verificamos em 15% dos casos corresponde à presença a nível de epigástrica cefálica, foto 3, de um terceiro ramo, um ramo dorsal, que pode assumir calibre importante. A total of 27 inguinal lymph nodes, observed and harvested in 14 rats, were coloured blue with the patent dye. In relation to the total



Tilney relativamente à drenagem linfática da localização abdomino-inguinal, afirma que the large efferent inguinal lymphatic trunk courses cephalad along each nipple line to the axillary chains. Este trabalho mostra que esta descrição é insuficiente já que é bem mais complexa. O que corresponde a outras verificações detalhadas de outras áreas anatómicas onde outros autores encontraram alterações relativamente ao descrito (Ref).

Verificamos que em cada hemiparede toracoabdominal os vasos epigástricos, veia e artéria, que saem das femorais, correm cefalicamente até aos gânglios inguinais local onde se bifurcam dando origem a dois ramos da epigástrica um mediano ou interno e outro externo. O ramo externo da epigástrica caudal normalmente é de maior calibre e apresenta-se mais bem delimitado no seu trajecto. Tanto os vasos externos como os medianos mantêm continuidade com a subclavia em trajectos distintos. A epigástrica cefálica correspondeu normalmente, na nossa observação, ao ramo externo da divisão que a epigástrica caudal tem. Por vezes o tronco vascular caudal major não tem

number of nodes harvested, adding to the total, 17 axillary and two braquial nodes were obtained, for a total of 36 nodes.

Histological processing and HE colouring sob microscopia optica foto 4, confirmed they were lymph nodes.

#### DISCUSSION

Relative to the lymphatic drainage in the abdomino-inguinal region, Tilney states that the large efferent inguinal lymphatic trunk courses cephalad along each nipple line to the axillary chains. This study demonstrates that this description is incomplete and it is much more complex. The complexity of the anatomical structures and the lack of detail in general and some corrections, in published data, has been commented by several authors in studies on other anatomical regions in the rat.

Verificamos que em cada hemiparede We found that in each hemiparede thoracoabdominal epigastric vessels, vein and artery, leaving the femoral flow cephalad to the inguinal lymph

4. MORPHOPHYSIOLOGY

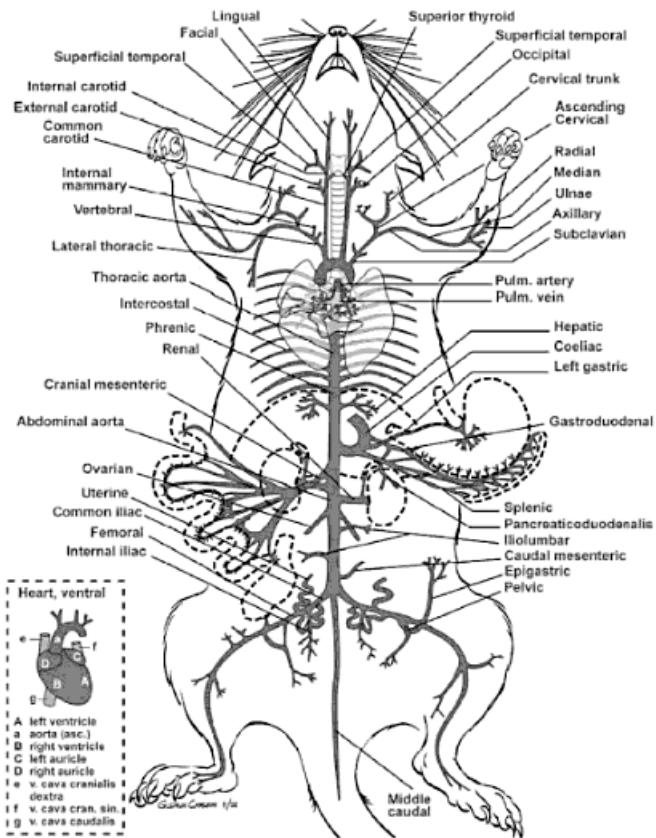
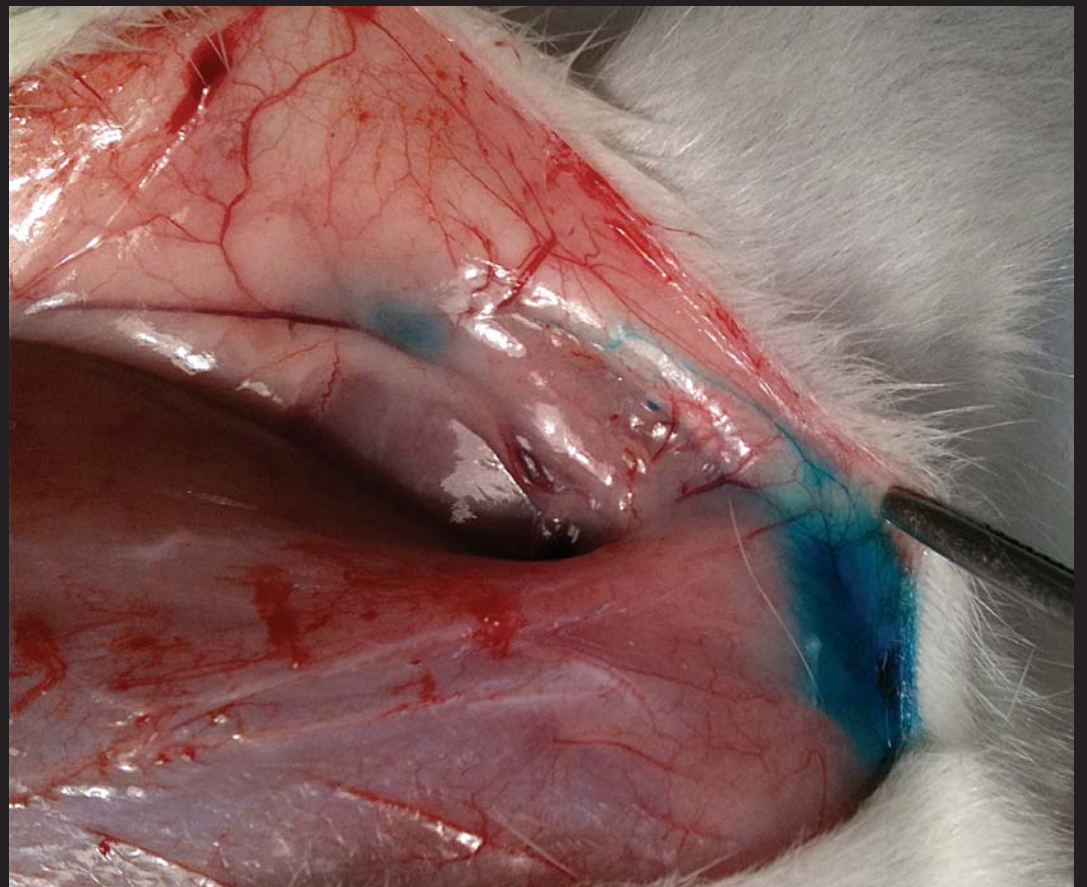


Fig. 4-8 Schematic of the major arteries of the female rat. Redrawn from Bivin et al. 1979, by G. Carlson.

uma continuidade claro com a sua continuação cefálica fazendo-se o trajecto por ramificações menores que confluem posteriormente para um trajecto correspondente à epigástrica cefálica.

Os vasos linfáticos correspondentes aos mamilos 4-6 drenam normalmente para o gânglio inguinal, quadro 25, o que não corresponde a imagem presente, fig.1, retirada do trabalho de Tilney. Numa das observações, correspondentes à injeccção no mamilo 4, o azul patente não migrou de forma a que localizássemos o gânglio sentinela. Pensamos que estes estudos preferencialmente devem decorrer no rato adulto já que este animal correspondia a 6 semanas de idade. Pensamos que um sistema linfático não adulto pode interferir negativamente no mapeamento da rede linfática. Este aspecto da conveniência de um animal adulto em estudo piloto prévio já tinha ficado patente. Num outro caso, igualmente a nível do mamilo 4, corou

nodes where they bifurcam giving rise to two branches of an epigastric median or inner and outer. The external branch of the epigastric flow is usually higher caliber and appears more clearly defined in their journey. Both vessels outside the median and maintain continuity with the subclavian in different routes. The head is typically epigastric, in our observation, the external branch of the division that has epigastric flow. Sometimes - 20% in the lateral leg and 40% in the median - the major trunk vascular flow has a clear continuity with his head up by making the journey by smaller branches that converge later. TBoth this fact and the variant of the dorsal branch, no significant interfering with the lymphatic drainage of this anatomic region. At the level of importance of using this anatomic region for models of flaps is this anatomical detail for reference later. These data presented here do not appear in the books of anatomy of the rat we have consulted (ref.s).



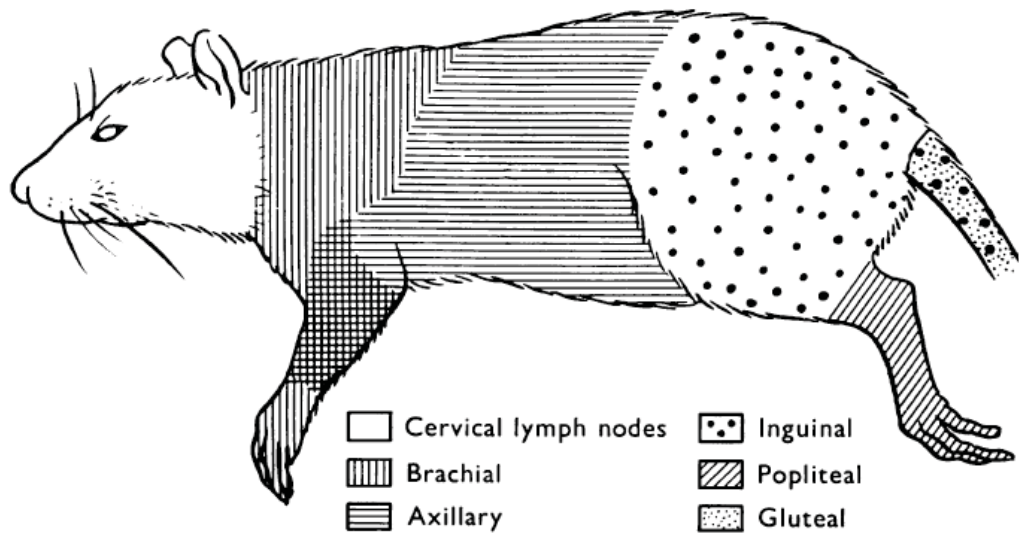


Fig. 2. The cutaneous areas drained by somatic lymph node groups.

simultaneamente no gânglio inguinal e no axilar. Para esta verificação dos vasos linfáticos pelo azul patente o timing do procedimento foi importante. Esperávamos 10 minutos antes de fazer a incisão que permitia a verificação da localização do gânglio sentinela. Com o retalho cutâneo levantado é necessário esperar por vezes até aos 30 min. para ir verificando a progressiva migração do azul patente com a definição dos correspondentes trajectos linfáticos.

Os vasos linfáticos eferentes do gânglio inguinal acompanham geralmente o ramo externo da epigástrica caudal. No trajecto cefálico que se realiza 82,4% das vezes ao longo da epigástrica lateral, sensivelmente ao nível da 2º mamilo peitoral, verifica-se que o trajecto linfático faz em 52,9% dos casos um arco. Sai do trajecto da epigástrica externa e torna-se paralelo ao trajecto epigástrica mediana antes de entrar no ganglio axilar. Photo 20. O trajecto designado por atípico correspondeu a um sensivelmente a meio dos dois vasculares.

Assim neste estudo onde se detalhou igualmente dados de anatomia da região ventral do animal

The lymphatic vessels corresponding to the nipples 4-6 Rat drain into the inguinal lymph node. We checked this location in 27 of 28 inspections carried out. This figure does not correspond with this picture, fig.1, run from the work of Tilney.

In one observation, corresponding to injection into the nipple 4, the blue dye did not migrate so that localizássemos the sentinel node. In another case, also the level of the nipple 4, flushed simultaneously in the axillary and inguinal lymph node. We believe that these studies should preferably take place in the adult rat as they corresponded to two animals at 6 weeks of age. We believe that an adult lymphatic system does not interfere negatively in mapping the lymphatic system. This aspect of the convenience of an adult animal for studies of lymphatic mapping in previous pilot study performed by us, had already become evident. For this check the lymph vessels by patent blue timing of the procedure was important. We ended up checking to wait 10 minutes before making the incision that allowed verification of the location of the sentinel node. With the flaps up is necessary to wait sometimes up to 30



nesta idade, diríamos, em conclusão, que no que diz respeito à drenagem linfática ficou demonstrado que a drenagem linfática dos mamilos e tecido celular sub-cutâneo desta região abdomino-inguinal se fazem para o gânglio inguinal que se encontra sistematicamente a nível da bifurcação previamente assinalada da epigástrica caudal.

min. to go checking the progressive migration of patent blue with the definition of the corresponding lymphatic routes.

The efferent lymphatic vessels of the inguinal lymph node usually accompany the external branch of the epigastric flow. At the head of patent blue route - which is held 82.4% of the time along the lateral epigastric - about the level of the 2nd breast nipple, it appears that the lymphatic route made in 52.9% of cases an arc. Sai's journey from epigastric and external becomes parallel to the median epigastric route before entering the axillary, photo 5. The lymphatic route called atypical corresponded to a contrast which has located roughly halfway through the two vascular routes.

So in this study where detailed data on anatomy of the ventral region of the mouse-Srage Dowley 6-8 weeks we would say in conclusion, it was demonstrated that the lymphatic drainage of breast tissue corresponding to the nipples of the region abdomino-inguinal are made to the inguinal lymph node. This is systematically the previously reported level of bifurcation of the caudal epigastric artery and vein.

## Ensaio II. Study II.

### Caracterização do gânglio sentinela mamário no rato

#### *Characterization of rat mammary sentinel node*

efectuado em ratos sem patologia para visualizar a drenagem linfática a partir dos vários mamilos, usando o azul patente.

#### **Material e Métodos**

O estudo dos gânglios em ratos sem patologia é feito num grupo de 28 ratos Wistar fêmeas, com 18 semanas de idade, sem nenhuma manipulação. Todos estes animais tiveram uma gravidez e a respectiva fase de aleitamento. Os animais foram anestesiados com uma mistura de ketamina e clorpromazina, administrado via i.m. na dose de 60mg/kg de ketamina e 15 mg /kg de clorpromazina.

Os procedimentos operatórios na parede região axilar e região inguinal e da cavidade abdominal, decorreram em condições de cirurgia limpa. Inicialmente os procedimentos cirúrgicos foram efectuados com recurso à microcirurgia contudo, após algum treino, foi possível executar o procedimento sem necessidade de recorrer a esta técnica.

Os animais depois de anestesiados, foram colocados em decúbito dorsal e fixados numa

*Carried out in mice without pathology to visualize the lymphatic drainage from the various nipples, using patent blue.*

#### *Material and Methods*

*The study of the lymph nodes in mice without pathology is done in a group of 28 female Wistar rats at 18 weeks of age, without any manipulation. All these animals had a pregnancy and their breast-feeding. The animals were anesthetized with a mixture of ketamine and chlorpromazine, administered intramuscularly at a dose of 60mg/kg ketamine and 15 mg / kg of chlorpromazine. Operative procedures on the wall axillary and inguinal region and abdominal cavity, held in conditions of clean surgery. Initially, the surgical procedures were performed using the microsurgical however, after some training, could perform the procedure without resorting to this technique. placed in the supine position and fixed on a surgical plate. Each animal was injected with 0.2 ml of patent blue (0.8 mg). The product was administered in four sub-nipple nipple: two front and two rear.*

placa cirúrgica. Cada animal foi injectado com 0,2ml de solução de azul patente (0,8mg). O produto foi administrado sub-mamilar em quatro dos mamilos: dois anteriores e dois posteriores. Cerca de 10 minutos após a administração do azul patente, realizou-se a abordagem dos gânglios. Para os gânglios de localização torácica, a localização anterior, procedeu-se a uma incisão axilar com cerca de 12 mm, com posterior dissecação roma e averiguação da localização ganglionar. Para os gânglios inguinais foi feita uma incisão inguinal oblíqua, igualmente com cerca de 12 mm e posterior dissecação roma tal como a anterior bilateralmente.

Os gânglios linfáticos das regiões anatómicas em análise foram excisados e submetidos a estudo histológico.

De seguida, efectuou-se uma laparotomia mediana com uma procura cuidadosa de eventuais gânglios abdominais corados pelo azul patente. No fim deste procedimento, os animais foram sacrificados por excesso de anestésico.

Para a observação e descrição dos mamilos consideram-se dois grupos, um anterior e outro posterior. Cada um destes grupos tem três pares de mamilos, numerados, no sentido oro-anal, de 1 a 6. Distinguem-se os direitos dos esquerdos pelas letras D e E, respectivamente. Assim os mamilos foram designados 1 D e 1E para os mais anteriores, 2D e 2E para o segundo mais anterior, 3D e 3E para o mais posterior do grupo anterior. Da mesma forma 4D e 4E para os mais anteriores do grupo posterior, 5D e 5E para os localizados de imediato e 6D e 6E para os mais posteriores.

Foram consideradas as seguintes medições.

Distância entre mamilos homólogos - a distância entre dois mamilos com a mesma numeração, sendo um direito e outro esquerdo. Para fazer a descrição desta medida usaram-se notações:

M (1D-1E) a distância entre os mamilos mais anteriores

M (2D-2E) a distância entre os segundos mais anteriores

M (3D-3E) a distância entre os mamilos mais posteriores do grupo anterior

M (4D-4E) a distância entre os mamilos mais anteriores do grupo posterior

M (5D-5E) a distância entre os mamilos localizados caudalmente de imediato aos mais anteriores do grupo posterior

M (6D-6E) a distância entre os mamilos mais posteriores

*About 10 minutes after the administration of patent blue was held addressing the ganglia. For the location of thoracic ganglia, the previous location, we proceeded to an axillary incision about 12 mm, with subsequent blunt dissection and findings of lymph node location. For the inguinal lymph nodes was made an oblique inguinal incision, also with about 12 mm and further blunt dissection as the previous bilaterally.*

*The lymph nodes of the anatomical regions analyzed were excised and subjected to histological study the was done, a laparotomy with a thorough search of possible abdominal lymph nodes stained by blue dye. At the end of this procedure, the animals were sacrificed by excessive anesthesia.*

*For the observation and description of the nipples are considered two groups, anterior and posterior. Each of these groups has three pairs of nipples, numbered in order oral-anal, 1-6. Divided into those rights left by the letters D and E, respectively. Thus the nipples were designated D 1 and 1E for the most past, 2D and 2E for the second earliest, 3D and 3E for the more posterior of the previous group. Likewise 4D and 4E for the most the group's previous post, 5D and 5E located immediately to the 6D and 6E and more for later.*

*The following measurements were considered. Distance between nipples counterparts - the distance between two nipples with the same numbers, one right and one left. To make the description of this measure is used notations:*

*M (1D-1E) the distance between the nipples more previous*

*M (2D-2E) the distance between the second most anterior*

*M (3D-3E) the distance between the nipples more after the previous group*

*M (4D-4E) the distance between the nipples over the group's previous post*

*M (5D-5E) the distance between the nipples located caudally immediately prior to the most posterior group*

*M (6D-6E) the distance between the nipples more late*

*Distance between extreme nipples - extreme distance between the nipples is the distance measured between the line of union between the most anterior nipples (1D-1E) and the bond line between the nipples more posterior (6D-6E). To make the description of this measure was used the notation M (1-6).*

*Average distance between successive nipples coun-*

Distância extrema entre mamilos - a distância extrema entre mamilos é a distância medida entre a linha de união entre os mamilos mais anteriores (1D-1E) e a linha de união entre os mamilos mais posteriores (6D-6E). Para fazer a descrição desta medida foi utilizada a notação M (1-6).

Distância média entre mamilos homólogos sucessivos - a distância média entre mamilos homólogos sucessivos é a distância medida, na linha ventral mediana, entre as linhas que unem os respectivos mamilos homólogos, de numeração sucessiva. Para fazer a descrição desta medida usaram-se as notações:

M (1-2) a distância média entre os mamilos nº1 e nº2, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos

M (2-3) a distância média entre os mamilos nº2 e nº3, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos

M (3-4) a distância média entre os mamilos nº3 e nº4, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos

M (4-5) a distância média entre os mamilos nº4 e nº5, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos

M (5-6) a distância média entre os mamilos nº5 e nº6, em unidades métricas ou em % da distância extrema entre mamilos.

Os dados obtidos foram submetidos a tratamento estatístico.

## Resultados

Da análise das distâncias entre pares de mamilos homólogos, nesta série, utilizando o coeficiente de Pearson, verifica-se que não há qualquer relação entre estas distâncias e o peso ou o comprimento do animal.

Entre os pares de mamilos anteriores, as distâncias entre pares homólogos é crescente e entre os pares homólogos de posteriores é decrescente, considerando o sentido oro-anal. Nesta série, os valores encontrados para distância entre pares homólogos foram: M(1D,1E) = 21,37 mm ± 2,057, variando entre 21,067 e 21,672 para um intervalo de confiança de 95%, M(2D,2E) = 37,378 mm ± 2,567, variando entre 37,094 e 37,663 para um

terparts - the average distance between successive homologous nipples is the distance measured in the ventral median line, between the lines joining their counterparts nipples, successive numbering. To make the description of the measure they used the notations:

M (1-2) the average distance between the nipples No. 1 and No. 2 in metric units or in% of distance between extreme nipples

M (2-3) the average distance between the nipples No. 2 and No. 3 in metric units or in% of distance between extreme nipples

M (3-4) the average distance between the nipples No. 3 and No. 4 in metric units or in% of distance between extreme nipples

M (4-5) the average distance between the nipples No. 4 and No. 5 in metric units or in% of distance between extreme nipples

M (5-6) the average distance between the nipples No. 5 and No. 6 in metric units or in% of the extreme distance between the nipples.

The data were analyzed statistically.

## Results

Analysis of distances between pairs of nipples counterparts, this series, using Pearson's coefficient, it appears that there is no relationship between this distance and weight or length of the animal.

Between pairs of nipples earlier, the distances between homologous pairs is increasing and between pairs of homologues is later decreased, whereas the oro-anal direction. In this series, the values for distance between homologous pairs were: M (1D, 1E) = 21.37 mm ± 2.057, 21.067 and 21.672 ranging to a range of 95%, M (2D, 2E) = 37.378 mm ± 2.567, 37.094 and 37.663 ranging to a range of 95%, M (3D, 3E) = 46.678 mm ± 3.224, 46.358 and 46.999 ranging to a range of 95%, M (4D, 4E) = 50.73 mm ± 4.322, 50.318 and 50.143 ranging to a range of 95%, M (5D, 5E) = 24.671 ± 3.685, 24.163 and 24.178 ranging to a range of 95%, and M (6D, 6E) = 18.976 ± 3.042 mm, ranging between 19.46 and 18.493 for a range of 95%.

The average distance between successive homologous pairs was: M (1-2) = 21.157 mm ± 2.738, 20.754 and 21.559 ranging to a range of 95%, M (2-3) = 13.409 ± 2.918, ranging between 12.863 and 13.995 for a range of 95%, M (3-4) = 39.53 mm ± 4.093, 39.088 and 39.973 ranging to a range of 95%, M (4-5) = 24.004 ± 4.541 mm ranging between 23.379 and 24.630 for a range of 95% and M

Tabela

	M(1D-1E)	M(2D-2E)	M(3D-3E)	M(4D-4E)	M(5D-5E)	M(6D-6E)
Média	21,37	37,378	46,678	50,730	24,671	18,976
SD	2,057	2,567	4,322	4,322	3,685	3,042
IC 95%	21,067 21,672	37,094 37,663	46,358 46,999	50,318 51,143	24,163 25,178	18,493 19,460

Tabela

	M(1-2)	M(2-3)	M(3-4)	M(4-5)	M(5-6)
Média	21,157	13,409	39,53	24,004	15,109
SD	2,738	2,918	4,093	4,501	2,097
IC 95%	20,754 21,559	12,863 13,955	39,008 39,973	23,379 24,630	14,743 15,474

Tabela (%)

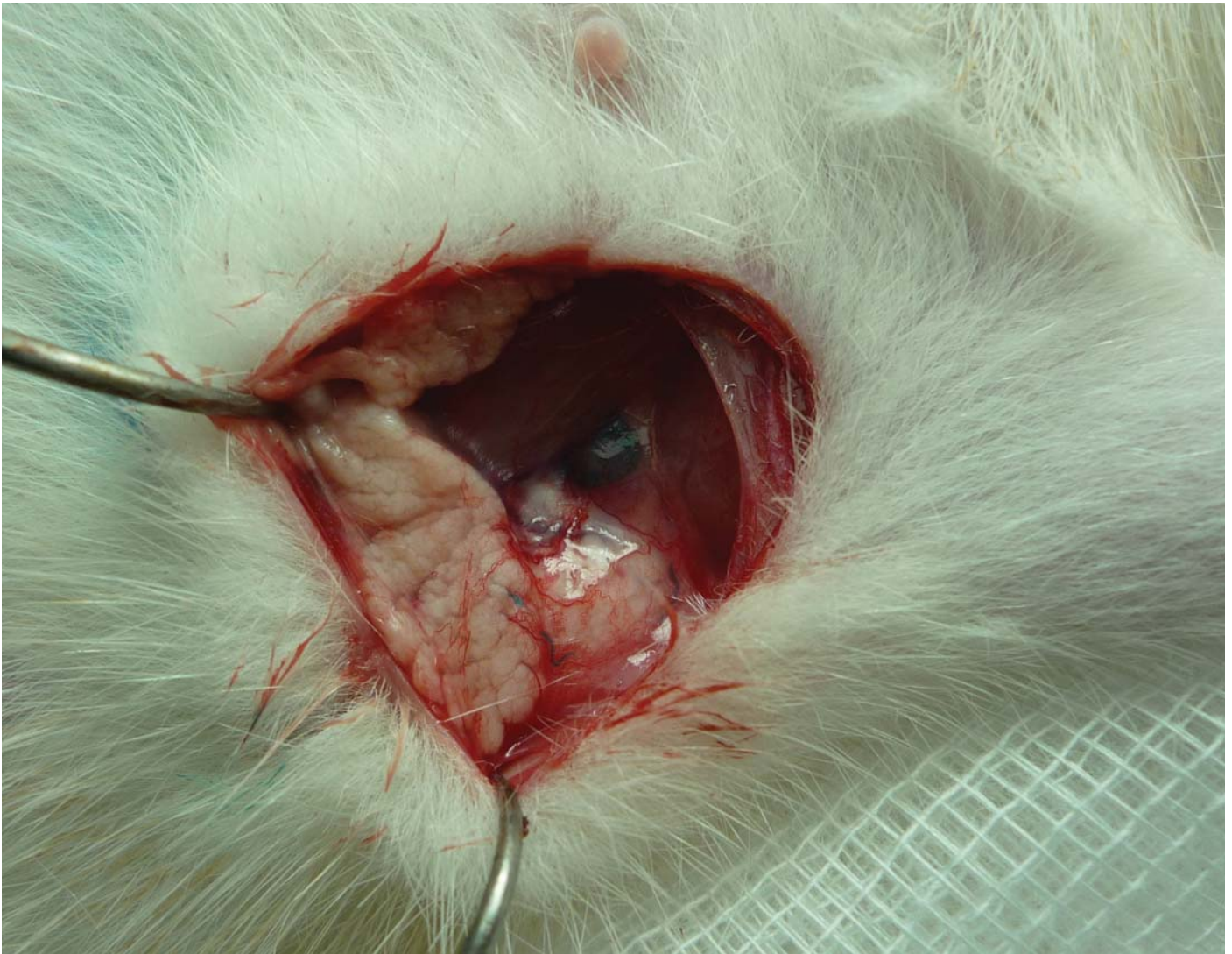
	M(1-2)	M(2-3)	M(3-4)	M(4-5)	M(5-6)
Média	37,0	23,9	68,8	42,7	26,9
SD	6,9	7,5	8,4	12,3	6,7
IC 95%					

intervalo de confiança de 95%, M(3D,3E) = 46,678 mm  $\pm$  3,224, variando entre 46,358 e 46,999 para um intervalo de confiança de 95%, M(4D,4E) = 50,73 mm  $\pm$  4,322, variando entre 50,318 e 50,143 para um intervalo de confiança de 95%, M(5D,5E) = 24,671  $\pm$  3,685, variando entre 24,163 e 24,178 para um intervalo de confiança de 95%, e M(6D,6E) = 18,976 mm  $\pm$  3,042, variando entre 18,493 e 19,46 para um intervalo de confiança de 95%.

A distância média entre pares homólogos sucessivos foi de: M(1-2) = 21,157 mm  $\pm$  2,738, variando entre 20,754 e 21,559 para um intervalo de confiança de 95%, M(2-3) = 13,409  $\pm$  2,918, variando entre 12,863 e 13,995 para um intervalo de confiança de 95%, M(3-4) = 39,53 mm  $\pm$  4,093, variando entre 39,088 e 39,973 para um intervalo de confiança de 95%, M(4-5) = 24,004 mm  $\pm$  4,541, variando entre 23,379 e 24,630 para um intervalo

(5-6) = 15.109  $\pm$  2.097, 14.743 and 15.474 ranging to a range of 95%. The average distance between the nipples before was: M (1-2-3) = 17.595 mm  $\pm$  4.837, 16.804 and 18.387 ranging to a range of 95% and M (4-5-6) = 19.943 mm  $\pm$  5.749 m ranging between 19.053 and 20.833 for a range of 95%. It thus appears that the distance between the most posterior of (M3) and the most anterior posterior (M4) is greater than any of the other distance. The distance between extreme nipples M (1-6) this series was 58.291 mm  $\pm$  9.365, 57.462 and 59.121 ranging to a range of 95%. Making the average distance between nipples counterparts for a fraction of the extreme distance between the nipples, is that, in this series: M (1-2) = 37%  $\pm$  6.9, M (2-3) = 23.9%  $\pm$  7.5, M (3-4) = 68.8%  $\pm$  8.4, M (4-5) = 42.7%  $\pm$  12.3, M (5-6) = 26.9%  $\pm$  6, 7.

We checked three locations of drainage of patient blue. For drainage nipple earlier, the locations



de confiança de 95% e  $M(5-6) = 15,109 \pm 2,097$ , variando entre 14,743 e 15,474 para um intervalo de confiança de 95%. A distância média entre os mamilos anteriores foi de:  $M(1-2-3) = 17,595 \text{ mm} \pm 4,837$ , variando entre 16,804 e 18,387 para um intervalo de confiança de 95% e  $M(4-5-6) = 19,943 \text{ mm} \pm 5,749$  variando entre 19,053 e 20,833 para um intervalo de confiança de 95%. Verifica-se assim que a distância entre o mais posterior dos anteriores (M3) e o mais anterior dos posteriores (M4) é maior do que qualquer das outras distâncias.

A distância extrema entre mamilos M (1-6) foi nesta série de  $58,291 \text{ mm} \pm 9,365$ , variando entre 57,462 e 59,121 para um intervalo de confiança de 95%. Fazendo a distância média entre mamilos

*identified were the axillary and / or arm. For the subsequent drainage of the nipples, the location was always groin. Thus, a total of 115 lymph nodes were marked with blue dye and harvested from 28 animals. Of all the nodes were marked and identified in 68.4%.*

*In 20 animals, the axillary nodes were identified on the right and left, six animals were observed on one side and two dogs was not identified on either side (7.14%). Of all axillary nodes could have been marked and identified, were only at 82.14%. Analysis of the weights of animals in which the axillary nodes were identified and the weight of the animals and those who were not identified axillary nodes, it appears that there is a significant difference.*

	Direito	Esquerdo	Direito e esquerdo	Nenhum
Axilar	24 (81,71%)	22 (78,57%)	20 (71,43%)	2 ( 7,14%)
Braquial	9 (32,14%)	11 (39,28%)	7 ( 25%)	16 (57,14%)
Inguinal	25 (89,28%)	25 (89,28%)	22 (78,57%)	0

homólogos com uma fracção da distância extrema entre mamilos, tem-se que, nesta série:  $M(1-2) = 37 \% \pm 6,9$ ,  $M(2-3) = 23,9\% \pm 7,5$ ,  $M(3-4) = 68,8\% \pm 8,4$ ,  $M(4-5) = 42,7\% \pm 12,3$ ,  $M(5-6) = 26,9\% \pm 6,7$ .

Verificamos três localizações de drenagem do azul patente. Para a drenagem dos mamilos anteriores, as localizações identificadas foram a axilar e/ou a braquial. Para a drenagem dos mamilos posteriores, a localização foi sempre inguinal. Assim, um total de 115 gânglios foram marcados com azul patente e colhidos dos 28 animais. Relativamente à totalidade dos gânglios foram marcados/identificados em 68,4%.

Em 20 animais, os gânglios axilares foram identificados à direita e à esquerda, em 6 animais foi observado num lado e em dois animais não foi identificado em nenhum dos lados (7,14%). Da totalidade dos gânglios axilares que podiam ter sido marcados/identificados, apenas o foram em 82,14%. Da análise dos pesos dos animais em que houve identificação dos gânglios axilares e do peso dos animais e os que não foram identificados gânglios axilares, verifica-se que não existe uma diferença significativa.

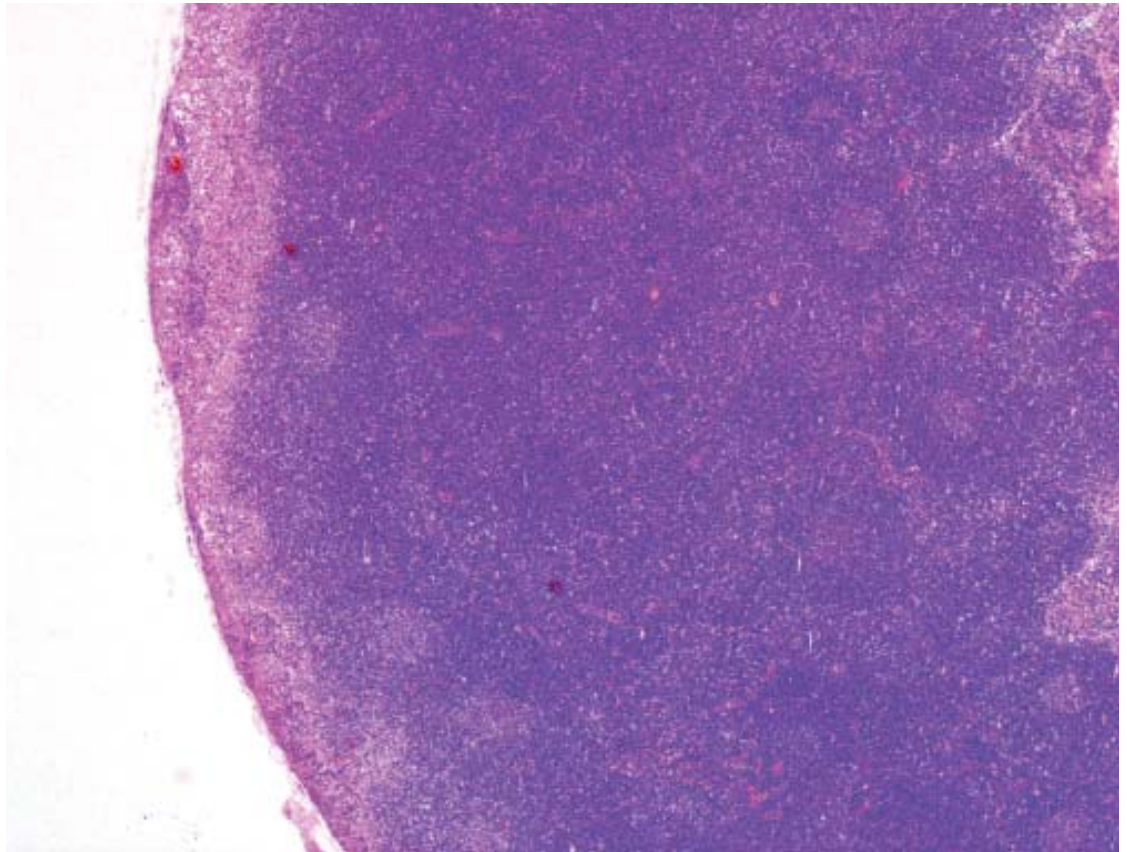
Em 7 animais os gânglios braquiais foram identificados nos dois lados, em 5 animais foi observado de um lado e em 16 animais não foi identificado em nenhum dos lados. Da totalidade dos gânglios braquiais que podiam ter sido marcados/identificados, apenas o foram em 34%. Da análise dos pesos dos animais em que houve identificação dos gânglios braquiais e do peso dos animais em que não foram identificados gânglios braquiais, verifica-se que não existe uma diferença significativa.

Em 22 animais os gânglios inguinais foram identificados nos dois lados e em 6 animais foi observado de um lado. Não houve nenhum animal em que não fosse identificado gânglios inguinais em nenhum dos lados. Da totalidade

*identified on both sides, 5 animals were observed on one side and 16 animals was not identified on either side. Brachial lymph nodes of all that could have been marked and identified, were only 34%. Analysis of the weights of animals that were identified in brachial ganglia and weight of the animals that were not identified brachial ganglia, it appears that there is a significant difference.*

*In 22 animals the inguinal lymph nodes were identified on both sides and in six animals was observed on one side. There was no animal that was not identified lymph inguinalem either side. Inguinal lymph nodes of all that could have been marked / identified on both sides, were put in 89.6%. Analysis of the weights of animals that were identified in inguinal lymph nodes and the weight of the animals that were not identified in inguinal lymph nodes, it appears that there is a significant difference.*

When one attempts to relate the number of lymph nodes and its topography marked with information concerning the distances between the nipples, it appears in the series studied no major differences. This is probably the small size of the groups characterized by staining with patent blue.



dos gânglios inguinais que podiam ter sido marcados/identificados nos dois lados, foram-no em 89,6% . Da análise dos pesos dos animais em que houve identificação dos gânglios inguinais e do peso dos animais em que não foram identificados gânglios inguinais, verifica-se que não existe uma diferença significativa.

Quando se procura relacionar o número de gânglios marcados e a sua topografia com os elementos referentes às distâncias entre os mamilos, verifica-se na série estudada que não existem grandes diferenças. Isto deve-se, provavelmente, à pequena dimensão dos grupos caracterizados pela marcação com azul patente.



## **IV. FUTURAS DIRECÇÕES**

### *III. Future directions*



## IV. FUTURAS DIRECÇÕES

### III. Future directions

Vários modelos têm sido propostos ao longo dos anos para ajudar a nossa compreensão dos mecanismos que levam à disseminação tumoral. Aproximadamente um terço das mulheres com o gânglio sentinela negativa na altura da ressecção do tumor primário poderão desenvolver tumores secundários clinicamente detectáveis.

A capacidade de metastizar não é uma propriedade inerente a todas as células neoplásicas. Alguns tumores são altamente agressivos, metastizando com frequência, outros apesar de localmente invasivo, raramente metastizam.

Metastização é um processo de uma complexidade extraordinária e extremamente ineficiente e mesmo assim sabemos tão pouco. Inicia ainda antes das células migrarem. Tumores podem largar milhões de células na corrente sanguínea, mas muito poucas metástases, com tradução clínica, se formam. Entre as características das células transformadas há instabilidade genética e fenotípica. Instabilidade genética e uma selecção tipo “Darwiniana” confere resistência a ataques imunológicos, aos controlos homeostáticos de crescimento normais e ao controle ambiental. Haverá células tumorais que transitoriamente adquirem capacidade metastática? (Eccles SA, 2007)

Factores microambientais podem ter um papel na disseminação metastática. No nosso modelo, os animais com lactações prévias e alterações de involução do tecido mamário facilitaram o mapeamento linfático, podendo ser interpretado também como uma predisposição para a invasão e disseminação tumoral.

*Various models have been proposed over the years to help our understanding of the mechanisms leading to tumor dissemination. Approximately one third of women with negative sentinel node at the time of primary tumor may develop clinically detectable secondary tumors.*

*The ability to metastasize is an inherent property of all neoplastic cells. Some tumors are highly aggressive, frequently metastatic, although other locally invasive and rarely metastasize.*

*Metastasis is a process of extraordinary complexity and an extremely inefficient and yet know so little. Began even before the cells migrate. Tumors can drop millions of cells in the bloodstream, but very few metastases with clinical translation, graduate. Among the features of transformed cells for phenotypic and genetic instability. Genetic instability and a selection like “Darwinian” confers immunological resistance, the homeostatic control of normal growth and environmental control. There will be a transitional tumor cells acquire metastatic ability? (SA Eccles, 2007)*

*Microenvironmental factors may play a role in metastatic dissemination. In our model, animals with prior lactation and changes in breast tissue involution facilitated lymphatic mapping and can also be interpreted as a predisposition for invasion and spread of tumor.*

*The metastatic potential of tumor cells is regulated by interactions between tumor cells and extra-cellular environment (extracellular matrix). These interactions can be modified by the accumulation of genetic alterations and transient changes in gene*

O potencial metastático das células tumorais será regulado por interações entre as células tumorais e o meio ambiente extra-celular (matriz extra-celular). Estas interações podem ser modificadas pela acumulação de alterações genéticas e por alterações transitórias em expressão de genes pelo micro ambiente envolvente do tumor. Uma serie de genes estão envolvidas no processo metastático, induzindo angiogenese, intra/extravasão, sobrevivência e crescimento são sensíveis à hipoxia como factor de estimulo. (Lunt, 2009)

Qual será papel de gene expression signatures na predição de metastização linfática?

A disseminação linfática predispõe a metastização à distancia?

Como prever o comportamento tumoral metastático- hematogénea e/ou linfática?

O modelo permite analisar algumas destas questões num rato com tumor. Se induzir-mos o tumor num rato fêmea, o gânglio sentinela será um elemento importante a avaliar bem como o tecido peri-tumoral. Utilizando marcadores celulares endoteliais específicos como VEGRF3 e os receptores VEGRF C e D, hialuronan (LYVE-1) e podoplanin para induzir linfangiogenesis, podemos colher informações sobre a regulação do crescimento dos vasos linfáticos. (RC, 2006) (Alitalo K, 2005)

*expression by the microenvironment surrounding the tumor. A series of genes are involved in the metastatic process, inducing angiogenesis, intra / extravasation, survival and growth are sensitive to hypoxia as a stimulus factor. (Lunt, 2009)*

*Qual será papel de gene expression signatures na predição de metastização linfática?*

*A disseminação linfática predispõe a metastização à distancia?*

*Como prever o comportamento tumoral metastático- hematogénea e/ou linfática?*

*O modelo permite analisar algumas destas questões num rato com tumor. Se induzir-mos o tumor num rato fêmea, o gânglio sentinela será um elemento importante a avaliar bem como o tecido peri-tumoral. Utilizando marcadores celulares endoteliais específicos como VEGRF3 e os receptores VEGRF C e D, hialuronan (LYVE-1) e podoplanin para induzir linfangiogenesis, podemos colher informações sobre a regulação do crescimento dos vasos linfáticos. (RC, 2006) (Alitalo K, 2005)*

## ABSTRACT

*Breast cancer surgery throughout all of the 20th century and the beginning of the 21st century has always included axillary dissection for diagnostic, staging, prognostic and therapeutic purposes. Sentinel node biopsy (SNB) in breast cancer is a staging procedure to obtain prognostic information. Today the implementation of the SNB procedure in breast cancer is considered a paradigm, but as a recent technique, it has raised numerous questions. Many of the questions are molecular, mechanical and anatomical in origin.*

*Pre-clinical models are fundamental in answering these questions.*

*We first characterize the breast sentinel node model in the rat using blue dye injected sub-dermal under the nipple in 2 studies. Time and previous experience in sentinel node biopsy are important for a high identification rate. The sensitivity and specificity was 100%. However, in study one, in 28 mapping procedures of the abdomino-inguinal area, 21 inguinal nodes were found dyed, 2 nodes in the axilla were found dyed and 5 mapping procedures did not dye any node.*



# REFERÊNCIAS

## *References*

1. Os 10 tumores mais frequentes na população portuguesa adulta na região sul de Portugal, no período de 2000/2001, Registo Oncológico Regional Sul, IPOLFG-EPE, Lisboa, Portugal, 2008
2. Haid A, Koberle-Wuhrer R, Knauer M, et al. Morbidity of breast cancer patients following complete axillary dissection or sentinel node biopsy only: a comparative evaluation. *Breast Cancer Res Treat* 2002;73:31–6.
3. Leidenius M, Leppanen E, Krogerus L, v Smitten K. Motion restriction and axillary web syndrome after sentinel node biopsy and axillary clearance in breast cancer. *Am J Surg* 2003;185:127–30.
4. Blanchard DK, Donohue JH, Reynolds C, Grant CS. Relapse and morbidity in patients undergoing sentinel node biopsy alone or with axillary dissection for breast cancer. *Arch Surg* 2003;138:482–7.
5. Peintinger F, Reitsamer R, Stranzl H, Ralph G. Comparison of quality of life and arm complaints after axillary lymph node dissection vs. sentinel lymph node biopsy in breast cancer patients. *Br J Cancer* 2003;89:648–52.
6. Ronka R, von Smitten K, Tasmuth T, Leidenius M. One-year morbidity after sentinel node biopsy and breast surgery. *The Breast* (2005); 14: 28–36
7. Schrenk P, Rieger R, Shamiyeh A, Wayand W. Morbidity following sentinel lymph node biopsy versus axillary lymph node dissection for patients with breast carcinoma. *Câncer* 2000;88:608–14.
8. Van Dijck JA, Coebergh JW, Siesling S, et al. Breast cancer in women. In: *Trends of Cancer in the Netherlands 1989\_1998*. Utrecht, The Netherlands: Association of Comprehensive Cancer Centers/Netherlands Cancer Registry, 2002:31\_2.
9. Halsted, William S. (1894-1895). "The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at the Johns Hopkins Hospital from June, 1899, to January, 1894". *The Johns Hopkins Hospital Reports* 4: 297.
10. Valadas G, Barragan E, Frasson A. Sentinel node in breast cancer – trend or paradigm. *Barlavento Médico* 2008; 2: 24-31
11. Veronesi U, Saccozzi R, Del Vecchio M et al. Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. *N Engl J Med* 1981; 305: 6-11.
12. Fisher B, Bauer M, Margolese R et al. Five-year results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and segmental mastectomy with or without radiation in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med*

- 1985; 312: 665-73.
13. Fisher B, Redmond C, Dimitrov NV, Bowman D, Legault-Poisson S, Qickerham DL, et al. A randomized clinical trial evaluating sequential methotrexate and fluorouracil in the treatment of patients with node negative breast cancer who have estrogenreceptor-negative tumors. *N Engl J Med* 1989; 320: 473-478.
  14. Mastologia Oncológica - 2002, Umberto Veronesi, Medsi Editora Médica e Científica Ltda. pag. 301 XXXXXXXX
  15. Gould EA, Winship T, Philbin PH, Hyland Kerr H. Observations on a "sentinel node" in cancer of the parotid. *Cancer* 1960;13:77-8.
  16. Cabañas RM. An Approach for the treatment of penile carcinoma. *Câncer* 1977;39(2):456-66
  17. Wong JH, Cagle LA, Morton DL. Lymphatic drainage of skin to a sentinel lymph node in a feline model. *Ann Surg.* 1991;214:637-641.
  18. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cage LA, Storm FK, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg.* 1992;127(4):392-399
  19. Morton DL, Wen DR, Foshag LJ et al, Intraoperative lymphatic mapping and selective cervical lymphadenectomy for early stage melanomas of the head and neck. *J. Cli. Oncol.* 11, 1751-1756
  20. Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairbanks JT, (1993) Surgical resection and radiocolization of the sentinel node in Breast cancer using a gamma probe. *Surg. Oncol.* 15, 2345-2350
  21. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL (1994) Lymphatic mapping and sentinel lymph node hypothesis for breast carcinoma. *Ann Surg.* 226, 271-278
  22. Cirurgia e Tumor da Mama – Análise do Impacto de um Programa de Rastreio – Gabriela Valadas, Fernanda Ribeiro, Francisco Aleixo, José Matias, Cármen Muriel, Guy Vieira, Óscar Condon, José Vilchez, José Parra
  23. Albertini JJ, Lyman GH, Cox C, et al (1996) Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. *JAMA* 276, 1818-1822
  24. Schwartz GF, Giuliano AE, Veronesi U: Consensus Conference Committee Proceeding of the consensus conference of the role of sentinel lymph node biopsy in carcinoma of the breast April 19-22, 2001, Philadelphia, PA, USA. *Breast J.* 2002 May-Jun;8(3): 124-38
  25. Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield M et al. American Society of Clinical Oncology Guideline Recommendations for Sentinel Lymph Node Biopsy in Early-Stage Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23(30):7703-7720.
  26. Oliveira RS, Paiva GR, Ferreira LM e tal. Modelo experimental em rato para biópsia de linfonodo sentinela. *Acta Cir Bras [serial online]* 2003 Vol. 18 Edição Especial. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.
  27. Cristian H, Nistor A, Blaj S e tal. Minimal invasive axillary lymphadenectomy: experimental model in pigs. *TMJ* 2008, Vol. 58, No. 1 - 2 : 36-39. Disponível em URL: [http://www.tmj.ro/58\\_1\\_2\\_2008/07.Cristian.pdf](http://www.tmj.ro/58_1_2_2008/07.Cristian.pdf)
  28. Petro PFC, Miranda HH, Pérez BA e tal. Endoscopic axillary dissection. Experimental model in dogs [Original title: Disección axilar endoscópica: Modelo experimental en perros.] *Cir Gen* 2007; 29 (1): 32-36. Disponível em URL: <http://www.medigraphic.com/ingles/i-htms/i-cirgen/i-cg2007/i-cg07-1/im-cg071f.htm>
  29. Barros, ACS, Muranaka ENK, Mori LJ, et al. Induction of experimental



- mammary carcinogenesis in rats with 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *Rev. Hosp. Clin.* [online]. 2004, v. 59, n. 5, pp. 257-261. ISSN 0041-8781. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/pdf/rhc/v59n5/v59n5a06.pdf>
30. 1. Christensen B, B.-T. M. (1980). Reliability of axillary lymph node scintiphotography in suspected carcinoma of the breast. *Br J Surg* , 67, 667-668.
  31. 2. Feind KR, H. F. (1972). Lymphatics of the breast. In F. K. Haagensen CD (Ed.). Philadelphia: WB Saunders Company.
  32. 3. Halsted, W. (1894). The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at the Johns Hopkins Hospital from June 1889 to January 1894. *Johns Hopkins Hosp Bull* 1894 , 4, 297-323.
  33. 4. Hellman, S. (1994,). Natural history of small breast cancers. *J Clin Oncol* , 12, 2229-2234.
  34. 5. Mona Sanghani, E. M. (n.d.). Impact of Axillary Lymph Node Dissection on Breast Cancer Outcome in Clinically Node Negative Patients A Systematic Review and Meta-analysis.
  35. 6. Morrow, M. (2005). Limiting breast surgery to the proper minimum. *Breast* , 14 (Suppl), S7-S8.
  36. 7. Morton DL, W. D. (1992). Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* , 127, 392-399.
  37. 8. Sakorafas G.H., S. M. (2010). Breast cancer surgery: a historical narrative.Part III. From the sunset of the 19th to the dawn of the 21st century. *European Journal of Cancer Care* , 19,, 145-166.
  38. 9. Sanghani M, B. E. (2009, April 15). Impact of Axillary Lymph Node Dissection on Breast Cancer Outcome in Clinically Node Negative Patients A Systematic Review and Meta-analysis. *CANCER* , 1613-1620CAN.
  39. 10. Valadas G, B. E. (2008;). Sentinel node in breast cancer – trend or paradigm. (B. Médico, Ed.) 2, 24-31.
  40. 11. Veronesi U, M. E. (1999). The dissection of internal mammary nodes does not improve the survival of breast cancer patients. 30-year results of a randomized trial. *Eur J Cancer* , 35, 1320-1325.
  41. 12. Veronesi U, S. R. (1981). Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. *N Engl J Med* , 305, 6-11.
  42. 1. S. Zurrída, V. Galimberti, A. Luini. "A Dissecção Axilar no Carcinoma da Mama." Veronesi, Umberto. *Mastologia Oncológica*. Ed. MEDSI. Trans. José Carlos do Valle. First. Vol. 1. milano: Masson, 1999. 302-303.
  43. 2. Seza A. Gulec, Frederick L. Moffat, Robert G. Carroll, Aldo N. Serafini, George N. Sfakianakis, Lisa Allen, Jodeen Boggs, Dora Escobedo, Christopher S. Pruett, Anurag Gupta, Alan S. Livingstone and David N. Krag. "Sentinel Lymph Node Localization in Early Breast Cancer." *THE JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE* 39.8 (1998): 1388-1392.
  44. 3. Suami, Hiroo. "The Lymphatic Anatomy of the Breast and its Implications for Sentinel Lymph Node Biopsy: A Human Cadaver Study ." *Annals of Surgical Oncology* 15(3) (n.d.): 863-871.
  45. 4. Warren F. Walker, Jr., Dominique G. Homberger. *Anatomy and Dissection of the Rat*. Third. W.H. Freeman and Company, 1994.
  46. 1. Albertini JJ, L. G. (276). Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in patients with breast cancer. *JAMA* , 1818-22.
  47. Breast Surgeons, T. A. (2005). Consensus Statement on Guidelines for Performing Sentinel Lymph Node Dissection in Breast Cancer.

- Retrieved September 20, 2010 from [breastsurgeons.org](http://www.breastsurgeons.org): [http://www.breastsurgeons.org/statements/PDF\\_Statements/SLN\\_Dissection.pdf](http://www.breastsurgeons.org/statements/PDF_Statements/SLN_Dissection.pdf)
48. 2. Cabañas, R. (1977). An Approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 39 (2), 456-66.
  49. 3. Cardoso, M., Fonseca, I., Santos, A., Serrano, A., Silva, A., Frutuoso, C., et al. (2009). Gânglio sentinela no cancro da mama Uma amostra da realidade Portuguesa. *Publicação Oncológica Portuguesa* , 0 (1), 25-31.
  50. 4. Christensen B, B.-T. M. (1980). Reliability of axillary lymph node scintiphotography in suspected carcinoma of the breast. *Br J Surg* , 67, 667-668.
  51. 5. Denoix, P. (1946). Uniform Technique for a Clinical Classification by the TNM System, Enquete permanente dans les centres anticancereaux. (I. Gustave-Roussy, Ed.) *Bull Inst Nat Hyg* , 1, 70-5.
  52. 6. Eccles SA, W. D. (2007). Metastasis: recent discoveries and novel treatment strategies. *Lancet* , 369 (9574), 1742-1757.
  53. 7. Galimberti, V. (2003). Evaluation of regional lymphnodes: New standards? *Breast*, 12 (S5).
  54. 8. Giuliano AE, H. P. (2000). Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further axillary dissection in patients with sentinel node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* , 18, 2553-2559.
  55. 9. Giuliano AE, K. D. (1994). Lymphatic mapping and sentinel lymph node hypothesis for breast carcinoma. *Ann Surg* , 226, 271-278.
  56. 10. Giuliano AE, K. D. (1994, 229). ymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer . *Ann Surg* , 391-401.
  57. 11. Giuliano, A. (1999). Mapping a pathway for axillary staging: a personal perspective on the current status of sentinel lymph node dissection for breast cancer. *Arch Surg* , 134, 195-199.
  58. 12. Goldhirsch, A., Wood, W., Gelber, R., Coates, A., Thurlimann, B., & Senn, H. (2003). Meeting Highlights: Updated International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology* , 21 (17), 3375-3365.
  59. 13. Gould EA, W. T. (1960). Observations on a "sentinel node" in cancer of the parotid. *Cancer* , 13, 77-8.
  60. 14. Gulec, S., Moffat, F., Carroll, R., Serafini, A., Sfakianakis, G., Allen, L., et al. Sentinel Lymph Node Localization in Early Breast Cancer. *THE JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE* , 39 (8), 1388-1392.
  61. 15. Haagensen, C. (1972). Lymphatics of the breast. In F. K. Haagensen CD (Ed.), *In The Lymphatics in Cancer* (pp. 300-387). Philadelphia: WB Saunders Company.
  62. 16. Hsueh EC, T. R. (1999). Sentinel node biopsy in breast cancer. *J Am Coll Surg* , 189, 207-213.
  63. 17. Kapteijn BAE, N. O. (1998). Identification and biopsy of the sentinel lymph node in breast cancer. *Eur J Surg Oncol* , 24, 427-430.
  64. 18. Kett K, V. G. (1970). Direct lymphography of the breast. *Lymphology* , 1, 3-12.
  65. 19. Krag DN, W. D. (1993). Surgical resection and radiolocalization of the sentinel node in Breast cancer using a gama probe. *Surg. Oncol.* , 2, 335-339.
  66. 20. Morton DL, W. D. (1992). Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* , 127, 392-399.
  67. 21. Reintgen DS, C. C. (1994). The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg* 1 , 220, 759-767.

68. 22. Sanghani M, B. E. (2009, April 15). Impact of Axillary Lymph Node Dissection on Breast Cancer Outcome in Clinically Node Negative Patients A Systematic Review and Meta-analysis. *CANCER* , 1613-1620CAN.
69. 23. Sappey, M. (1874). *Anatomie, Physiologie, Pathologie des vaisseaux Lymphatiques consideres chez L\_homme at les Vertebres.*
70. 24. Schwartz GF, G. A. (2002). Consensus Conference Committee Proceeding of the consensus conference of the role of sentinel lymph node biopsy in carcinoma of the breast . *Breast J* , 8(3), pp. 124-38. Philadelphia,.
71. 25. Tanis PJ, N. O. (2001). Review History of sentinel node and validation of the technique. *Breast Cancer Res* , 3, 109-112.
72. 26. Valadas G, B. E. (2008). Sentinel node in breast cancer – trend or paradigm. *Barlavento Médico* (2), 24-31.
73. 27. Valadas, G., Ribeiro, F., Aleixo, F., Matias, J., Muriel, C., Vieira, G., et al. (2009). *Cirurgia e Tumor da Mama – Análise do Impacto de um Programa de Rastreio.* Reunião da Sociedade Portuguesa de Cirurgia . Estoril.
74. 28. Veronesi U, G. V. (2009). Axillary metastases in breast cancer patients with negative sentinel nodes: a follow-up of 3548 case . *Eur J Cancer* , 45 (8), 1381-8.
75. 29. Veronesi U, L. A. (1990). Extent of metastatic axillary involvement in 1446 cases of breast cancer. *Eur J Surg Oncol* , 16 (2), 127-33.
76. 30. Veronesi, A., Paganelli, G., Galimberti, V., Viale, G., Zurrada, Z., Bedoni, M., et al. (1997). Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* , 349 (9069), 1864-7.
77. 31. Veronesi, U. A Randomized Comparison of Sentinel-Node Biopsy with Routine Axillary Dissection in Breast Cancer. *n engl j med* , 349 (6).
78. 32. Veronesi, U., Paganelli, G., Viale, G., Galimberti, V., Luini, A., & Zurrada, S. (1999). Sentinel Lymph Node Biopsy and Axillary Dissection in Breast Cancer: Results in a Large Series. *J Natl Cancer Inst* , 91, 368-73.
79. 33. Wong JH, C. L. (1991). Lymphatic drainage of skin to a sentinel lymph node in a feline model. *Ann Surg* , 214, 637-641.
80. 1. Blessing WD, S. A. (2002). A comparison of methylene blue and lymphazurin in breast cancer sentinel node mapping. *Am J Surg* , 184 (4), 341-5.
81. 2. Bonnema, & Van de Velde, C. (2002). Sentinel lymph node biopsy in breast cancer. (E. S. Oncology, Ed.) *Annals of Oncology* , 13, 1531-1537.
82. 3. Cochran AJ, R. A. (2003). The place of lymphatic mapping and sentinel node biopsy in oncology. *Int J Clin Oncol.* , 8 (3), 139-50.
83. 4. East, J., Valentine, C., Kanchev, E., & Blake, G. (2009, January 27). Research article Open Access Sentinel lymph node biopsy for breast cancer using methylene blue dye manifests a short learning curve among experienced surgeons: a prospective tabular cumulative sum (CUSUM) analysis. Retrieved Sept 24, 2010 from BMC Surgery: <http://www.biomedcentral.com/1471-2482/9/2>
84. 5. Enke-Pluijmers M, d. K. (2008). Should internal mammary chain (IMC) sentinel node biopsy be performed? Outcome in 90 consecutive non-biopsied patients with a positive IMC scintigraphy. *Breast* , 17 (2), 152-8.
85. 6. Giuliano, A., McCall, L., Beitsch, P., Whitworth, P., Blumencranz, P., Leitch, A., et al. (2010, Sept 1). Locoregional Recurrence After Sentinel Lymph Node Dissection With or Without Axillary Dissection in Patients

- With Sentinel Lymph Node Metastases. (K. B. OncologySTAT, Ed.) Retrieved Sept 21, 2010 from [http://www.oncologystat.com/journals/journal\\_scans/Locoreg...](http://www.oncologystat.com/journals/journal_scans/Locoreg...) 9/21/10 10:05 PM
86. Goldhirsch, A., Wood, W., Gelber, R., Coates, A., Thurmman, B., & Senn, H. (2007). Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *Annals of Oncology* , 18, 1133-1144.
  87. Hartveit, F. (1990). Attenuated cells in breast stroma: the missing lymphatic system of the breast. *Histopathology*, , 16, 533-543.
  88. Luzzi KJ, M. I. (1998). Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases. *Am J Path* , 153, 865-873.
  89. Mansfield, L., Devalia, D., Rehman, N., & Mokbel, K. (2006, Oct 13). The competent sentinel node: an association with an axillary presentation and an occult or a small primary invasive breast carcinoma . (S. G. al, Producer, & licensee BioMed Central Ltd.) Retrieved Sept 24, 2010 from *International Seminars in Surgical Oncology* : <http://www.issoonline.com/content/3/1/39>
  90. Nano MT, K. J. (2002). Clinical impact of false-negative sentinel node biopsy in primary breast cancer. *British Journal of Surgery*. , 89, 1430-1434.
  91. Nour, A. (2004). Efficacy of methylene blue dye in localization of sentinel lymph node in breast cancer patients. *Breast J.* , 10 (5), 388-91.
  92. Pendas, S., Jakub, J., Giuliano, R., Gardner, M., Bowen Swor, G., & Reintgen, D. (2004). The Role of Sentinel Lymph Node Biopsy in Patients With Ductal Carcinoma In Situ or With Locally Advanced Breast Cancer Receiving Neoadjuvant Chemotherapy . *Cancer Control* , 11 (4), 231-235.
  93. Pepper, M. (2001). Minireview :Lymphangiogenesis and Tumor Metastasis: Myth or Reality? *Clinical Cancer Research* , 7, 462-468.
  94. SD, N. (2003). Insights into the mechanisms of lymph node metastasis. *Cancer* , 98 (2), 413-23.
  95. Suami, H., Pan, W., Mann, B., & Taylor, I. (2008). The Lymphatic Anatomy of the Breast and its Implications for Sentinel Lymph Node Biopsy: A Human Cadaver Study. *Ann Surg Oncol.* , 15 (3), 863–871.
  96. Wallace, I., & Champion, H. AXILLARY NODES IN BREAST CANCER . *The Lancet* , 299 (7744).
  97. Woltering, E. A. (2004). Patent No. 424/9.1, IN VIVO DIAGNOSIS OR IN VIVO TESTING 424/1.11, 424/1.65, 424/1.81, 424/1.85,



