

SABAS CARLOS VIEIRA

**IDENTIFICAÇÃO DE LINFONODO SENTINELA
EM CÂNCER DO COLO UTERINO**

Tese de Doutorado

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

**Unicamp
2008**

SABAS CARLOS VIEIRA

**IDENTIFICAÇÃO DE LINFONODO SENTINELA
EM CÂNCER DO COLO UTERINO**

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Tocoginecologia, área de Ciências Biomédicas

ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

**Unicamp
2008**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

V673i Vieira, Sabas Carlos
 Identificação de linfonodo sentinela em câncer do colo
 uterino / Sabas Carlos Vieira. Campinas, SP: [s.n.], 2008.

 Orientador: Luiz Carlos Zeferino
 Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Ciências Médicas.

 1. Biópsia de linfonodo sentinela. 2. Gânglios linfáticos
 - biópsia. 3. Câncer do colo uterino. 4. Linfonodos. 5. Colo
 uterino. 6. Biópsia. I. Zeferino, Luiz Carlos. II. Universidade
 Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.
 III. Título.

Título em inglês: Identification of the sentinel lymph node in cervical cancer

Keywords: • Biopsy, Sentinel lymph node
 • Uterine cervical neoplasms
 • Lymph nodes
 • Cervix uteri
 • Biopsy

Titulação: Tocoginecologia

Área de concentração: Ciências Biomédicas

Banca examinadora:

Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino

Profª. Drª. Sophie Françoise Mauricette Derchain

Prof. Dr. Júlio César Teixeira

Prof. Dr. Paulo Traiman

Prof. Dr. Francisco Ricardo Gualda Coelho

Data da defesa: 28 – 11 – 2008

Diagramação e arte final: Assessoria Técnica do CAISM (ASTEC)

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno: SABAS CARLOS VIEIRA

Orientador: Prof. Dr. LUIZ CARLOS ZEFERINO

Membros:

1.

2.

3.

4.

5.

Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 28/11/2008

200902181

Dedico este trabalho...

*à minha mãe Isabel,
ao meu pai Jesus,
à minha esposa Ana
e aos meus filhos Daniel e Davi.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino, pela orientação, contínuo incentivo e disponibilidade durante todo o desenvolvimento deste estudo. Minha eterna gratidão.

Às Profas. Lina, Jerúsia e Terezinha pelo apoio na avaliação das lâminas.

Aos estudantes Rodrigo, Marília, Alexandra e Jeany pela ajuda na coleta dos dados e participação na elaboração dos artigos.

Aos Drs. Edmar, José Carlos, Edgar, Marco Pólo e Alberto pela participação nas cirurgias das pacientes do estudo.

Ao Prof. Dr. Benedito Borges da Silva pela participação na elaboração deste projeto que foi financiado pela FAPEPI.

Ao Dr. Alcenor Barbosa de Almeida pela aceitação e incentivo para realização do estudo em sua instituição (Hospital São Marcos).

Ao Dr. Antônio Fortes de Pádua Filho pelo incentivo à pós-graduação e pela disponibilização da Clínica de Ginecologia e Mastologia para realização deste estudo.

À Profa. Dra. Benedita Andrade Abreu pela disponibilidade na realização das cintigrafias pélvicas.

Ao Dr. João Batista Abreu pela incansável tarefa de estar presente durante a realização dos procedimentos com o gamma probe.

Aos anesthesiologistas Corina, Narja, Graça, Hermes, Eduardo, Abílio, Mônica , Aloísio e Carlos Augusto pela participação efetiva na monitorização da oximetria de pulso durante as cirurgias.

À Margarete Souza Donadon, secretária da pós-graduação, pelo apoio durante a realização do estudo.

À Márcia, secretária da Superintendência do Hospital das Clínicas da UNICAMP, por estar sempre disponível em nos ajudar, mesmo a distância.

Agradecimentos Institucionais

Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa
do Estado do Piauí (FAPEPI)

As cirurgias foram realizadas no Hospital São Marcos,
Teresina - Piauí

O estudo teve a participação do Departamento de Tocoginecologia da
Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP;
Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital São Marcos;
Clínica de Ginecologia e Mastologia do Hospital São Marcos;
Departamento de Clínica Geral da UFPI

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas.....	ix
Resumo.....	x
Summary.....	xii
1. Introdução.....	14
2. Objetivos.....	21
2.1. Objetivo Geral.....	21
2.2. Objetivos Específicos.....	21
3. Publicações.....	22
3.1. Artigo 1.....	23
3.2. Artigo 2.....	43
4. Discussão.....	59
5. Conclusões.....	64
6. Referências Bibliográficas.....	65
7. Anexos.....	71
7.1. Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	71
7.2. Anexo 2 – Ficha de Coleta de Dados.....	75
7.3. Anexo 3 – Linfocintigrafias pélvicas pré-operatórias e fotos do procedimento.....	77
7.4. Anexo 4 – Tabela demonstrando percentagem de identificação do linfonodo sentinela no câncer de colo do útero por estágio.....	79
7.5. Anexo 5 – Tabela demonstrando pacientes que tiveram linfonodos sentinela identificados durante a cirurgia.....	80
7.6. Anexo 6 – Tabela demonstrando pacientes que não tiveram linfonodos sentinela identificados durante a cirurgia.....	81
7.7. Anexo 7 – Taxa de detecção de linfonodo sentinela de acordo com o tamanho dos tumores.....	82
7.8. Anexo 8 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFPI.....	83
7.9. Anexo 9 – Carta de aceitação do artigo “Changes in Pulse Oximetry After Patent Blue Dye Injection Into the Uterine Cervix” do periódico Annals of Surgical Oncology.....	84
7.10. Anexo 10 – Carta de confirmação de submissão do artigo “Preoperative Pelvic Lymphoscintigraphy is Unnecessary for Sentinel Lymph Node Detection in Cervical Cancer” para o periódico European Journal of Surgical Oncology.....	85

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

^{99m}TC – Tecnécio^{99m}

μCi – Micro (10^{-6}) Currie

FAPEPI – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí

FIGO – Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia

G1 – Bem diferenciado

G2 – Moderadamente diferenciado

G3 – Pouco diferenciado

GX – Indiferenciado

HSM – Hospital São Marcos

ILM – Mapeamento linfático intra-operatório; *intraoperative lymphatic mapping*

LNS – Linfonodo sentinela

MBq – Mega (10^6) Bequerel

mL – Mililitro(s)

np – Número de pacientes com detecção deste linfonodo; *number of patients with detection of this lymph node*

SNL – Linfonodo sentinela; *Sentinel lymph node*

UFPI – Universidade Federal do Piauí

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

Resumo

Objetivos: Avaliar a detecção do linfonodo sentinela em pacientes com câncer do colo do útero utilizando a combinação de azul patente com tecnécio^{99m} e complicações associadas ao uso do azul patente. **Sujeitos e métodos:** Este foi um estudo de uma série de casos, para o qual foram selecionadas 56 mulheres com diagnóstico de câncer do colo do útero estádios Ia2,Ib1,Ib2 e IIa da FIGO, que se submeteram ao procedimento de identificação do linfonodo sentinela. O período de realização do estudo foi de maio de 2006 a dezembro de 2007. O estudo é apresentado em dois artigos: o primeiro consiste na detecção do linfonodo sentinela no câncer do colo do útero pela combinação do azul patente com tecnécio^{99m} e avalia a concordância entre a linfocintigrafia pré-operatória e o mapeamento linfático intra-operatório com o *gama probe*; o segundo consiste na avaliação das alterações da oximetria de pulso das pacientes submetidas à cirurgia após a injeção do azul patente. **Resultados:** No primeiro artigo identificou-se pelo menos um linfonodo sentinela em 83,13% das pacientes e a localização mais freqüente destes linfonodos foi na cadeia ilíaca externa. A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo foram, respectivamente, 80%, 100%, 100% e 97,67% no histopatológico de congelação. Além disso, observou-se que linfocintigrafia pré-

operatória detecta um número consideravelmente menor de linfonodos sentinelas quando comparado ao mapeamento linfático intra-operatório com o *gama probe*. No segundo estudo observou-se que somente uma paciente apresentou reação anafilática. Treze pacientes apresentaram queda de oximetria de pulso (menor que 96% de saturação) após a injeção do azul patente no colo do útero, que durou em média cinco minutos e sem repercussões clínicas; essa queda se associou de forma limítrofe com tumores maiores e localizados ao redor do orifício externo do canal cervical. **Conclusões:** Concluiu-se que a combinação do azul patente com o tecnécio^{99m} demonstrou excelentes resultados na detecção do linfonodo sentinela; a linfocintigrafia pré-operatória não oferece qualquer vantagem em relação ao mapeamento linfático intra-operatório com azul patente e tecnécio^{99m}. Não houve repercussões clínicas devido à queda da oximetria de pulso e essas alterações se correlacionaram, embora com significância limítrofe, com tumores maiores e localizados ao redor do orifício cervical externo.

Summary

Objectives: To evaluate sentinel lymph node detection in cervical cancer patients using a combination of patent blue dye and technetium^{99m} and assess complications associated with the use of patent blue dye. **Subjects and methods:** This study investigated a case series that selected 56 women diagnosed with FIGO stage Ia2, Ib1, Ib2 and IIa cervical cancer who underwent a procedure for sentinel lymph node identification. The study was conducted from May 2006 to December 2007 and was described in two articles. The first article was about a study of sentinel lymph node detection in cervical cancer using a combination of patent blue dye and technetium^{99m}. It assessed the agreement between preoperative lymphoscintigraphy and intraoperative lymphatic mapping with a gamma probe. The second article focused on the evaluation of changes in pulse oximetry readings in patients undergoing surgery after patent blue injection. **Results:** In the first article, at least one sentinel lymph node was identified in 83.13% of the patients and the most frequent site for finding sentinel lymph nodes was the external iliac chain. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were 80%, 100%, 100% and 97.67% respectively on histopathology examination of frozen biopsy. In addition, it was observed that preoperative lymphoscintigraphy detected a

substantially lower number of sentinel lymph nodes when compared to intraoperative lymphatic mapping with a gamma probe. In the second study, only one patient presented with an anaphylactic reaction. Thirteen patients showed a decrease in pulse oximetry readings (less than 96% saturation) after patent blue injection into the cervix, which lasted an average of five minutes and had no clinical repercussions. There was a borderline association between this decline in oxygen saturation values and tumors that were larger and located around the external cervical os.

Conclusions: It was concluded that a combination of patent blue dye and technetium^{99m} demonstrated excellent results in the detection of sentinel lymph nodes. Preoperative lymphoscintigraphy offers no advantage in relation to intraoperative lymphatic mapping with patent blue dye and technetium^{99m}. There were no clinical repercussions due to lower oxygen saturation values. These changes correlated with tumors that were larger and located around the external cervical os, although the significance of this correlation was borderline.

1. Introdução

As pacientes com tumores do colo do útero em estádios iniciais – Ib1 e Ib2 – da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) são tratadas com radioterapia ou histerectomia radical com linfonodectomia pélvica bilateral. Somente 12% a 26% das pacientes que se submetem à linfonodectomia apresentarão linfonodos comprometidos ao exame histopatológico (Hsu *et al.*, 1972; Boronow *et al.*, 1977; Langley *et al.*, 1980; Lee *et al.*, 1989; Malur *et al.*, 2001; Di Stefano *et al.*, 2005). A linfonodectomia determina aumento do tempo cirúrgico e maior morbidade, como linfedema e linfocisto (Niikura *et al.*, 2004; Lande *et al.*, 2007). Em 20% a 50% dos casos os linfonodos metastáticos em neoplasia uterina não estão aumentados de tamanho, sendo o diagnóstico realizado somente após o exame histológico do espécime da linfonodectomia pélvica (Camilien *et al.*, 1988; Matsukuma *et al.*, 1989; Chuang *et al.*, 1995).

Em pacientes com carcinoma invasivo do colo do útero, a principal via de disseminação das células neoplásicas é para os linfonodos pélvicos e ocorre principalmente para a região da artéria ilíaca externa e fossa obturadora

(Buchsbaun et al., 1989; Malur et al., 2001; Levenback et al., 2002; Lambaudie et al., 2003; Plante et al., 2003; Niikura et al., 2004; Vieira et al., 2004; Silva et al., 2005; Kettlewell et al., 2006; Kraft et al., 2006; Lande et al., 2007). Há também concordância de que as regiões paraórtica e parametrial são as duas áreas mais incomuns de localização destes linfonodos (Malur et al., 2001; Plante et al., 2003; Niikura et al., 2004; Silva et al., 2005; Kraft et al., 2006; Lande et al., 2007). No entanto, Altgassen et al. (2007), após injeção de 2ml de azul patente no colo do útero, diluído em 8ml de NaCl 0,9%, identificaram linfonodo parametrial em 29,6% dos pacientes *versus* 6,9% quando utilizaram 4ml de azul patente sem diluição. Portanto, com este artifício, os autores obtiveram dados semelhantes aos encontrados em estudos anatômicos.

O linfonodo sentinela (LNS) é definido como o primeiro linfonodo regional a receber o fluxo linfático do órgão onde está o tumor primário. A identificação do LNS em mulheres com câncer do colo do útero foi inicialmente realizada após a injeção de substâncias corantes (azul patente ou isossulfan azul) na topografia do tumor primário e dissecação do primeiro linfonodo corado na cadeia linfática regional. A outra maneira de se realizar este procedimento é com a utilização de substâncias radioativas marcadas (Tecnécio^{99m}), identificando o linfonodo sentinela através de captação de radiações gama por um probe; esta técnica tem sido a mais utilizada. No entanto, as duas técnicas podem ser realizadas simultaneamente (Sakuragi et al., 1999; Malur et al., 2001; Levenback et al., 2002; Niikura et al., 2004; Lande et al., 2007). Alguns estudos demonstraram

que a combinação das duas técnicas determina melhores resultados em relação ao uso de somente uma das técnicas (Lande et al., 2007).

O azul patente é um corante da família do trifenilmetano e quimicamente corresponde ao sal sódico do bis (dietilamino-4-fenil)(hidroxi-5-dissulfo-2,4-fenil) metanol anidrido. A injeção do corante no subcutâneo demarca, em poucos minutos, veias e vasos linfáticos. A via de eliminação do corante é principalmente a urina e através da bile, ocorrendo em 24 a 48 horas. A hipersensibilidade ao corante azul patente é a única contra-indicação para a utilização do mesmo. Interação medicamentosa ocorre com os diuréticos, com maior risco de insuficiência renal, notadamente na presença de desidratação. Os acidentes alérgicos ao azul patente são raros, variando de 1 por 3000, 1 por 1000 e 2,5 por 1000 procedimentos realizados, de acordo com Sieber (1968); Morfazavi e Burrows (1971), Chassard et al. (1977). Esse tipo de reação pode ocorrer mesmo em pacientes que nunca tiveram contato prévio com o corante, mas é possível que elas já tenham sido sensibilizadas devido ao uso de produtos que contenham esse corante ou produtos semelhantes, como cosméticos, alimentos e mesmo roupas. A prevenção consiste em se realizar uma anamnese cuidadosa, com atenção especial para eventos alérgicos anteriores e atopias. A administração de drogas anti-histamínicas e corticóide deve ser realizada quando se suspeita de sensibilização prévia (Beenen et al., 2005; Noiro et al., 2005; Dewatcher et al., 2006; Thierrin et al., 2007; Yusim et al., 2007).

A técnica do LNS foi desenvolvida inicialmente para identificação de metástase linfonodal em câncer de pênis (Cabanas, 1977). A identificação do

linfonodo sentinela em outras neoplasias, principalmente em câncer de mama e melanoma, tem trazido novos horizontes no sentido de evitar-se a linfonodectomia completa em pacientes com LNS negativo ao exame histológico (Morton *et al.*, 1992; Giuliano *et al.*, 1994; Hill *et al.*, 1999; Noguchi *et al.*, 2000; Veronesi *et al.*, 2003). Em câncer de vulva, um estudo multicêntrico no qual foram incluídas 403 pacientes, a taxa de recidiva linfonodal inguinal em pacientes com LNS negativo foi de 4%, com um seguimento mediano de 35 meses, sugerindo os autores que o procedimento é seguro em pacientes com câncer de vulva em estágio inicial (Van der Zee, 2008).

No primeiro estudo do LNS em câncer do colo útero foi realizada a injeção de 2ml do corante isossulfan azul (lymphazurim) no colo do útero de 13 pacientes com carcinoma invasivo que se submeteram à histerectomia radical e linfonodectomia pélvica e para-aórtica. Somente duas pacientes nesta série apresentaram linfonodos corados (15,4%) (Echt *et al.*, 1999). Malur *et al.* (2001), estudaram 50 pacientes com câncer do colo do útero estádios I (32), II (16) e IV (2) para identificação do LNS durante a cirurgia (histerectomia abdominal radical ou histerectomia vaginal-laparoscópica radical e exenteração pélvica), utilizando-se o Tecnécio^{99m} injetado no colo do útero nos quatro quadrantes (3, 6, 9 e 12 horas) um dia antes da cirurgia e o azul patente no intra-operatório nos mesmos quadrantes do colo. Em 78% das pacientes foi identificado o LNS. Dez pacientes (20%) apresentaram metástases linfonodais. Em dez pacientes nenhum LNS foi identificado, das quais quatro tinham linfonodos positivos. A sensibilidade e o valor preditivo positivo foram 83,3 e 97,1%, respectivamente. A taxa de falso

negativo foi de 16,6% (um de seis pacientes). Após a combinação das duas técnicas, as taxas de detecção, sensibilidade e valor preditivo negativo foram de 100%. Uma média de 2,7 e 2,6 LNS pélvicos e paraórticos foram identificados, respectivamente. Os LNS paraórticos estavam localizados na região paracaval em 66,6%, enquanto que os LNS pélvicos encontravam-se na origem da artéria uterina em 25,7% e na divisão da artéria ilíaca comum em 24,7%.

Em uma revisão sistemática da literatura sobre LNS em câncer do colo do útero, em que foram avaliadas 842 pacientes, as taxas de detecção usando somente ^{99m}Tc foram de 88%, e 92% de sensibilidade. Com a utilização somente do corante, as taxas de detecção e sensibilidade foram respectivamente de 84% e 81%. E com a combinação dos dois métodos, a taxa de detecção de LNS foi superior a 90% em 13 estudos avaliados (Lande et al., 2007). A utilização somente do corante também determinou uma taxa menor de identificação de LNS paraórticos. Nos sete estudos que utilizaram somente o ^{99m}Tc , as doses variaram de 40 a 220MBq. A injeção do corante também variou em volume e local de injeção, demonstrando a necessidade de padronização da técnica do LNS em câncer do colo do útero. A taxa de detecção de LNS não foi alterada se o procedimento foi realizado por cirurgia aberta ou laparoscópica.

Em estudo multicêntrico alemão em que foram estudadas 590 mulheres com câncer do colo do útero, a taxa de identificação do linfonodo sentinela foi de 88,6% e foi melhor com a associação entre ^{99m}Tc e azul patente. Neste estudo foram incluídas 161 pacientes com tumores grandes (maiores que 4cm), onde sabidamente a taxa de identificação de linfonodo sentinela é baixa,

provavelmente pela obstrução dos canais linfáticos por células ou êmbolos neoplásicos. A sensibilidade foi maior nas pacientes com tumores menores ou iguais a 2cm (90,9%), com detecção bilateral (87,2%) e com aplicação das duas substâncias (80,3%). As pacientes com tumores menores ou iguais a 2cm apresentaram um valor preditivo negativo alto (99,1%) comparado com as de tumores maiores que 2cm, sugerindo os autores que este subgrupo de pacientes pode ser beneficiado com a técnica do LNS. No entanto, estudos prospectivos randomizados são necessários para determinar se as taxas de recorrência linfonodal pélvica e sobrevida livre de doença, no grupo com linfonodo negativo não submetido à linfonodectomia pélvica radical, são aceitáveis (Altgassen, 2008).

No Brasil foram encontrados apenas dois estudos publicados. Um utilizando azul patente e o outro tecnécio^{99m} respectivamente (Vieira et al., 2004; Silva et al., 2005). No primeiro estudo foram avaliadas 51 pacientes, sendo identificado LNS em 62,7%, utilizando-se somente o azul patente (Vieira et al., 2004). No outro estudo os autores encontraram LNS em 93% das 56 pacientes utilizando ^{99m}Tc (Silva et al., 2005) .

Considerando-se a freqüência da neoplasia invasiva do colo do útero no Brasil e que o tratamento cirúrgico radical empregado apresenta morbidade importante, sendo uma das causas desta morbidade a linfonodectomia pélvica (linfocistos, lesões vasculares, lesões nervosas, linfedema de membros inferiores, hemorragia, aumento das taxas de erisipela e linfangite nos membros inferiores), e devido a poucas publicações na literatura médica que abordam a identificação do LNS nesta neoplasia pela combinação do ^{99m}Tc com azul patente, especialmente

por pesquisadores brasileiros, nos propusemos a realizar o presente estudo, que foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado Piauí (FAPI). Considerando-se ainda que seja comprovada uma correlação do linfonodo sentinela com o *status* linfonodal pélvico em câncer do colo útero – como ocorre em melanoma cutâneo e câncer de mama – que traria mudanças significativas na abordagem cirúrgica desta neoplasia, poupando de uma linfonodectomia radical aquelas pacientes em que o LNS seja negativo ao exame histológico.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Identificar o linfonodo sentinela em câncer do colo do útero através do azul patente e tecnécio^{99m}.

2.2. Objetivos Específicos

- **Artigo 1:** Avaliar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo na identificação do linfonodo sentinela em câncer do colo uterino com a utilização de azul patente e tecnécio^{99m}. Avaliar o valor da linfocintigrafia pélvica pré-operatória na identificação de linfonodo sentinela.
- **Artigo 2:** Verificar alterações no registro da oximetria de pulso com a utilização do azul patente e complicações decorrentes do uso deste corante.

3. Publicações

Artigo 1 – Preoperative Pelvic Lymphoscintigraphy is Unnecessary for Sentinel Lymph Node Detection in Cervical Cancer

Enviado para European Journal of Surgical Oncology

Artigo 2 – Changes in Pulse Oximetry Following Patent Blue Dye Injection into the Uterine Cervix

Publicado em Annals Surgical Oncology 2008;15(10):2862-6.

3.1. Artigo 1

PREOPERATIVE PELVIC LYMPHOSCINTIGRAPHY IS UNNECESSARY FOR SENTINEL LYMPH NODE DETECTION IN CERVICAL CANCER

Sabas Carlos Vieira¹

Rodrigo Beserra Sousa²

Marília Buenos Aires Cabral Tavares²

Benedita Andrade Leal de Abreu³

Lina Gomes dos Santos¹

Jeany Borges e Silva²

Benedito Borges da Silva¹

Luiz Carlos Zeferino⁵

Study conducted in the *Hospital São Marcos, Universidade Federal do Piauí* and *Universidade Estadual de Campinas*.

Address for correspondence:

Sabas Carlos Vieira

Rua Félix Pacheco 2159, Sala 305 – Edifício Shecap. Teresina – Piauí – Brasil.

Cep: 64001-160. Telephone (Fax): +55(86) – 3226-1555. E-mail:

sabas.vieira@uol.com.br

¹Professor of the *Universidade Federal do Piauí (UFPI)*.

²Medical student at UFPI.

³Phd in Radiology.

⁴Pathologist at the *Hospital São Marcos (HSM)*.

⁵Associated-Professor in the Department of Gynecology and Obstetrics, School of Medical Sciences, Unicamp, Brazil.

ABSTRACT

Objectives: To analyze if preoperative lymphoscintigraphy offers any advantage over intraoperative lymphatic mapping (ILM) for sentinel lymph node identification using technetium^{99m}-labeled-dextran 500 (^{99m}TC) and patent blue dye in patients with early cervical cancer undergoing radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy, as well as to evaluate sentinel lymph node detection (SLN).

Methods: Fifty-six patients underwent surgical treatment cervical cancer. For SLN identification, ^{99m}TC and blue patent were injected into the cervix on the eve and day of surgery, respectively. Preoperative pelvic lymphoscintigraphy was performed in all patients after ^{99m}TC injection. The agreement between preoperative lymphoscintigraphy and ILM was evaluated.

Results: Of the 56 patients who underwent preoperative lymphoscintigraphy, 43 (81.13%) had at least one lymph node identified. Bilateral lymph nodes were identified in 21 (37.5%) patients. Sentinel lymph nodes detected on ILM had been previously found on preoperative lymphoscintigraphy in 66.7%, 67.2% and 0% in the right, left and central locations, respectively. In 14 patients (25%), only one lymph node was identified on preoperative lymphoscintigraphy, but more than one sentinel lymph node was detected on intraoperative mapping. Lymphoscintigraphy of nine (16.1%) patients showed only unilateral lymph nodes, but bilateral sentinel lymph nodes were identified on ILM.

Conclusion: The combination of patent blue and radionuclide techniques produced excellent results for SLN detection in cervical cancer. Preoperative lymphoscintigraphy does not offer any value over ILM for SLN identification.

Keywords: Cervical cancer; Lymphoscintigraphy; Sentinel lymph node; Patent blue dye; Radionuclide.

INTRODUCTION

Treatment of early invasive cervical cancer includes radical hysterectomy and bilateral pelvic lymphadenectomy. To potentially prevent the unnecessary performance of lymphadenectomy and minimize the complications associated with surgery, the identification of sentinel lymph node (SLN) has been tested.^{1,2,3,4}

Sentinel lymph node identification in cervical carcinoma combining patent blue with ^{99m}Tc is a procedure that involves a preoperative and intraoperative scintigraphy phase. The preoperative phase includes the performance of pelvic lymphoscintigraphy after the injection of radioactive colloid into the cervix, subsequently obtaining pelvic lymphoscintigraphy. However, the need to routinely use preoperative lymphoscintigraphy in cervical cancer is unclear.^{5,6}

The aim of this study was to analyze SLN detection using the combined injection of patent blue and ^{99m}Tc and to evaluate whether preoperative lymphoscintigraphy brings any clinical advantage over intraoperative lymphatic mapping (ILM) using a gamma probe and patent blue for sentinel lymph node identification in patients with early cervical cancer who undergo radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy.

MATERIALS AND METHODS

Between May 2006 and December 2007, 56 consecutive patients underwent radical hysterectomy and bilateral pelvic lymphadenectomy for treatment of FIGO Stages Ia2,Ib1,Ib2 and IIa cervical cancer in the *Hospital São Marcos (HSM)*. All surgeries were performed by a single surgeon. The study was approved by the Research Ethics Committee of the *Universidade Federal do Piauí (UFPI)*. The patients signed an informed consent term before undergoing surgical treatment. Surgery was aborted in patients with lymph node involvement on macroscopic evaluation, confirmed by frozen histopathologic examination and those who had lymph nodes adhered to the iliac vessels and/or obturator fossa. Patients who had undergone previous radiotherapy, chemotherapy and/or who had a previous history of allergy were not included in the study.

On the day before surgery, technetium^{99m}-labeled dextran 500 was injected. The dose injected with an insulin needle into the cervical mucosa near the tumor site was 0.8 to 1.0 ml, with 600 to 800 uCi, which was fractionated into four quadrants with 0.20 to 0.25ml each. Injection sites around the cervix corresponded to approximately 3, 6, 9 and 12 o'clock. The patients were imaged three to four hours after radiopharmaceutical injection in the anterior and lateral views.

The location of SLN on preoperative lymphoscintigraphy was defined as left (left iliac and obturator regions), right (right iliac and obturator regions) or central (para-aortic and pre-sacral regions), due to difficulty in describing a more precise location. SLN were counted by a single nuclear medical doctor. However, it is important to highlight that counting was not absolutely reliable. Depending on

image intensity, it was possible that uptake of the radiotracer by more than one lymph node had occurred.

Following anesthesia, the cervix was visualized and 4 mL of patent blue 2.5% were injected with a 25-gauge spinal needle into the cervix mucosa near the tumor at 3, 6, 9 and 12 o'clock positions. The surgeon was careful to avoid dye injection into the tumor.

After dye injection, the patients were placed in a supine position for the beginning of surgery. The abdominal cavity was opened and stained lymph nodes were simultaneously located with a probe to identify "hot" lymph nodes. Subsequently, these nodes were dissected and identified according to the topography where they were situated. If stained lymphatic channels were not observed upon opening the abdominal cavity, the surgeons waited 10 minutes and only then opened the pelvic peritoneum. Any lymph node that was blue was considered a sentinel lymph node. Radioactive lymph nodes were scanned during surgery with a gamma-probe device. Only lymph nodes whose radioactive count was at least 10-fold above baseline radiation levels were considered SLN. SLN were divided into three categories: stained (blue), "hot" (radioactive) or both.

All SLN were submitted to frozen section histopathologic examination during the intraoperative period. In addition, SLNs were also submitted to pathology for paraffin section in the postoperative period to establish the agreement between both evaluations.

In patients with positive or negative SLN on frozen section histopathology, surgery proceeded with the performance of pelvic lymphadenectomy. All patients underwent hysterectomy with parametrectomy and upper colectomy. Surgery

was only aborted when lymph nodes adhered to the iliac vessels or to the obturator fossa.

Unstained lymph nodes were submitted to histopathologic exam and were stained with hematoxylin and eosin.

A descriptive statistical analysis was made to evaluate the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of SLN both on frozen section and paraffin section analysis. To analyze the agreement between preoperative lymphoscintigraphy and ILM in SLN detection, the Kappa index was used. For these tests, the SPSS[®] program version 14.0 was used. In all tests, a significance level of 5% was set.

RESULTS

Sample description

The mean age of the patients was 45.7 years. The most common histologic tumor type was spinocellular carcinoma (Table 1). The mean largest tumor diameter was 2,9cm.

Sentinel lymph nodes were identified in 47 patients (83.9%). There were no stained or hot lymph nodes bilaterally in nine patients (16.07%). Of these patients, however, five had surgery aborted due to the presence of lymph node metastasis or lymph nodes adhered to the iliac vessels.

Table 2 shows the location of the stained, “hot” and stained and “hot” SLN.

There were five patients with positive SLN on frozen section and six on paraffin section histopathology study, with an average of one lymph nodes in both tests. The five patients who had compromised lymph nodes on frozen biopsy also had compromised nodes on paraffin section analysis. Thus, compared to the remaining lymph nodes there was only one false-negative result for SLN. No false-positive results occurred.

A total of 559 lymph nodes were dissected, in addition to sentinel lymph nodes. Of these, 26 were compromised, averaging about 0.55 per patient. There were five patients with compromised lymph nodes (not sentinel nodes).

The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the frozen section and paraffin section histopathologic exams were similar (Table 3).

Preoperative scintigraphy

A total of 92 lymph nodes were found on preoperative lymphoscintigraphy. Forty-six lymph nodes were in the right region, 41 were in the left and only 5 were in the central region, an average of 1.64 nodes per patient. Of the 56 patients who underwent preoperative lymphoscintigraphy, 43 (81.1%) had at least one lymph node identified. Bilateral lymph nodes were identified in 21 (37.5%) patients. There were only three patients with central lymph nodes, and only one of these patients also had a pelvic lymph node.

Lymph node identification in the intraoperative period

SLN were identified in 47 patients (83.9%). Bilateral lymph nodes were identified in 30 (46.4%) patients. Bilaterally, there were no stained or “hot” lymph nodes in nine patients (16.1%). Of these patients, however, surgery was aborted in five patients due to the presence of lymph node metastasis and lymph nodes adherent to the iliac vessels.

Correlation and agreement between preoperative lymphoscintigraphy and intraoperative lymphatic mapping

SLN detected on ILM had been previously found on preoperative lymphoscintigraphy in 66.7%, 67.2% and 0%, respectively, in the right, left and central locations (Table 4).

In 14 patients (25%) only one lymph node was identified on preoperative lymphoscintigraphy, but on intraoperative lymphatic mapping, more than one SLN was found. Lymphoscintigraphy of nine (16.1%) patients showed only unilateral lymph nodes, but on ILM bilateral SLN were identified.

The Kappa test showed poor agreement between preoperative lymphoscintigraphy findings and ILM findings in the right and central regions (Table 5).

DISCUSSION

In the present study, the location of sentinel lymph nodes using at least one of the methods was possible in 47 patients (83.93%). The results of this study are in agreement with those found in the literature,⁵ which describes an average of around 78%¹ to 100% detection of sentinel lymph nodes by several techniques used.⁴

The most common sentinel lymph node site was in the topography of the external iliac arteries, which has also been observed in the majority of studies.⁵ Only one para-aortic lymph node was found and was negative. This is also an uncommon site and is described as one of the least possible regions where SLN are found.⁴

The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the frozen section and paraffin section exams, are similar to those described in the literature.^{3,7}

Our results showed that preoperative lymphoscintigraphy for the identification of pelvic sentinel lymph nodes in cervical carcinoma in patients undergoing radical hysterectomy offers no advantage over ILM using a gamma probe. It underestimates the number of lymph nodes that are found with ILM.^{3,6} However, there are studies suggesting that lymphoscintigraphy provides guidance for sentinel lymph node location, and especially knowledge if these nodes are unilateral or bilateral.⁸

In cervical cancer, drainage occurs to the pelvis and para-aortic region. The occurrence of metastasis from cervical carcinoma to the inguinal region is uncommon in early-stage tumors⁹. Whether the approach is laparotomy or laparoscopy, both the pelvis and the para-aortic regions are accessible to the surgeon, and

eventually all lymph nodes may be stained and/or “hot”. Thus, preoperative scintigraphy does not influence the surgical approach or type of incision.⁶

Many factors may contribute to the poor agreement between preoperative lymphoscintigraphy and ILM results in cervical cancer patients with the use of patent blue and a gamma probe. First, the site of injection surrounding the tumor may differ between the two techniques, especially because the radiocolloid is injected while the patient is awake, whereas patent blue is injected when the patient is already anesthetized, a fact that enables greater manipulation and better visualization of the cervix and primary tumor. Second, the volume of radiocolloid injected is much smaller than the volume of patent blue injected. In the present study, the volume of patent blue injected was 4ml and colloid volume was only 1 ml. Thus, some authors have suggested increasing the volume and dose of injection.^{6,10} Another factor that could interfere would be radiocolloid drainage to regions beyond the lymph nodes. However, there are studies that fail to demonstrate this, suggesting that similar to what occurs in melanoma and breast cancer, once the colloid is absorbed by the lymph node, it does not migrate any further.^{6,10} The ability of the surgeon to locate and identify SLN should also be taken into account.^{6,11} It is important to consider the fact that preoperative lymph node count based upon scintigraphy is liable to be fraught with errors, as already explained. Finally, the assumption that all patients have bilateral lymphatic drainage may be wrong, since a history of obstetric trauma, endometriosis or pelvic inflammatory disease, among other conditions, may alter patterns of lymphatic drainage.⁶

The combination of a radionuclide and patent blue currently appears to be the best method for SLN detection and data found in this study reinforces this

thesis. With time, clinical trials should be able to evaluate the safety and effectiveness of SLN procedure without pelvic lymphadenectomy in patients with negative SLN.⁸

Preoperative lymphoscintigraphy, nevertheless, does not offer any benefit to the detection of SLN in patients undergoing ILM during radical hysterectomy.

REFERENCES

- 1- Malur S, Krause N, Köhler C, Scheneider A. Sentinel Lymph Node Detection in Patients with Cervical Cancer. *Gynecologic Oncology* 2001;80:254-7.
- 2- Silva LB, Silva-Filho AL, Traiman P, Triginelli SA, Lima CF, Siqueira CF, Barroso A, Rossi TMFF, Pedrosa MS, Miranda D, Melo JRC. Sentinel node detection in cervical cancer with ^{99m}Tc -phytate. *Gynecologic Oncology* 2005;97(2):588-95.
- 3- Di Stefano AB, Acquaviva G, Garozzo G, Barbic M, Cvjeticanin B, Meglic Leon, Kobal Borut, Rakar S. Lymph node mapping and sentinel node detection in patients with cervical carcinoma: A 2-year experience. *Gynecologic Oncology* 2005;99:671-9.
- 4- Niikura H, Okamura C, Akahira J, Takano T, Ito K, Okamura K, Yaegashi Nobuo. Sentinel lymph node detection in early cervical cancer with combination ^{99m}Tc phytate and patent blue. *Gynecologic Oncology* 2004;94:528-32.
- 5- Lande J, Torrenga B, Rajmakers PGHM, Hoekstra OS, Baal MW, Brölmann HAM, Verheijen RHM. Sentinel lymph node detection in early stage uterine cervix carcinoma: A systematic review. *Gynecologic Oncology* 2007;106:604-13.
- 6- Frumovitz M, Coleman RL, Gayed IW, Ramirez PT, Wolf JK, Gershenson DM, Levenback CF. Usefulness of preoperative lymphoscintigraphy in patients who undergo radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy for cervical cancer. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2006;194:1186–95.

- 7- Vieira SC, Zeferino LC, Silva BB, Santana JOI, Santos LG, Carvalho TCB *et al.* Estudo do linfonodo sentinela no câncer do colo uterino com azul patente. Rev Assoc Med Bras 2004;50(3):302-4.
- 8- Plante M, Renaud MC, Têtu B, Harel F, Roy M. Laparoscopic sentinel node mapping in early-stage cervical cancer. Gynecologic Oncology 2003;91:494-503.
- 9- Hauspy J, Verkinderen L, De Pooter C, Dirix LY, van Dam PA. Sentinel node metastasis in the groin detected by technetium^{99m}-labeled nannocolloid in a patient with cervical cancer. Gynecol Oncol 2002;86(3):358-60.
- 10- Pijpers R, Buist MR, van Lingen A, Dijkstra J, van Diest PJ, Teule GJ, *et al.* The sentinel node in cervical cancer: scintigraphy and laparoscopic gamma probe-guided biopsy. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2004;31:1479-86.
- 11- Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, *et al.* Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. Arch Surg 1992;127:392-9.

Table 1: Cervical cancer characteristics of the 56 studied patients

Characteristics		n	%
Histologic type	Spinocellular carcinoma	46	82.10
	Adenocarcinoma	7	12.50
	Adenosquamous carcinoma	3	5.40
Degree of histologic differentiation	G1	14	25.00
	G2	16	28.60
	G3	26	46.40
Location*	Cervical canal	1	1.85
	Periorificial	25	46.30
	Anterior cervix	5	9.26
	Posterior cervix	9	16.67
	Occupying the entire cervix	14	25.92

* In two patients who had surgery aborted, it was not possible to identify tumor location.

Table 2: Location of lymph nodes in 47 patients with detected sentinel lymph nodes

	Location	n	%	%	np*
Only stained	Right External Iliac	4	18.2	54.6	4
	Left External Iliac	8	36.4		5
	Left Internal Iliac	1	4.5	18.1	1
	Right obturator fossa	3	13.6		2
	Left obturator fossa	2	9.1	27.3	2
	Left Common Iliac	4	18.2		4
Only hot	Right External Iliac	5	16.1	41.9	5
	Left External Iliac	8	25.8		6
	Right Internal Iliac	4	12.9	16.1	4
	Left Internal Iliac	1	3.2		1
	Right obturator fossa	2	6.5	16.2	2
	Left obturator fossa	3	9.7		3
	Right Common Iliac	3	9.7	25.8	2
	Left Common Iliac	5	16.1		5
Hot and stained	Right External Iliac	32	32.0	63.0	24
	Left External Iliac	31	31.0		24
	Right Internal Iliac	4	4.0	8.0	3
	Left Internal Iliac	4	4.0		4
	Right obturator fossa	10	10.0	16.0	6
	Left obturator fossa	6	6.0		6
	Right Common Iliac	9	9.0	11.0	9
	Left Common Iliac	2	2.0		1
	Paraaortic	1	1.0	1.0	1
	Left parametrium	1	1.0	1.0	1

*np: number of patients with detection of this lymph node.

Table 3: Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the frozen section and paraffin section histopathologic exams in the 47 patients undergoing surgery in the identification of metastasis in sentinel lymph node in cervical cancer

Diagnostic test	Frozen section	Paraffin section
Sensitivity	80.0%	83.33%
Specificity	100%	100%
Positive predictive value	100%	100%
Negative predictive value	97.67%	97.62%

Table 4: Location and number of sentinel lymph nodes found on preoperative lymphoscintigraphy and intraoperative lymphatic mapping (gamma probe-guided) among 56 patients in the study

		Preoperative lymphoscintigraphy			
		Right	Left	Central	Not found
Intraoperative lymphatic mapping	Right	46	0	0	23
	Left	0	41	0	20
	Central	0	0	0	0
	Not found	0	0	5	0

Table 5: Value of Kappa test and significance level between the agreement of lymph node detection on preoperative lymphoscintigraphy and intraoperative lymphatic mapping with the use of patent blue and a gamma probe

Correlation between findings	Kappa Test	Significance
Right	0.085	0.480
Left	0.118	0.935
Central	*	*

? Not possible to evaluate because central lymph node was not found on ILM.

3.2. Artigo 2

Changes in Pulse Oximetry after Patent Blue Dye Injection into the Uterine Cervix

Sabas Carlos Vieira^{1,2}

Rodrigo Beserra Sousa¹

Marília Buenos Aires Cabral Tavares¹

Benedita Andrade Leal de Abreu²

Jerúsia Oliveira Ibiapina²

Alexandra Kolontai de Sousa Oliveira¹

Luiz Carlos Zeferino³

1- Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Brazil.

2- São Marcos Hospital, Teresina, Brazil.

3- Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil.

Address for correspondence:

Sabas Carlos Vieira

Rua Félix Pacheco 2159, Sala 305, Edifício Shecap

64001-160, Teresina, Piauí, Brazil.

Telephone/Fax: + 55 (86) 3226-1555

E-mail: sabas.vieira@uol.com.br

Key-words: sentinel lymph node; uterine cervix; patent blue dye; pulse oximetry.

Abstract

Background: To evaluate changes in pulse oximetry readings in patients with cervical carcinoma following the injection of patent blue dye into the uterine cervix for sentinel lymph node detection.

Methods: Fifty-six patients were submitted to radical hysterectomy and bilateral pelvic lymphadenectomy for the treatment of FIGO stage I or II cervical cancer. Four milliliters of patent blue dye were injected into the cervix. On the eve of surgery, all patients also received an injection of Dextran 500 labeled with technetium^{99m} (^{99m}Tc Dextran, 600-800 µCi) into the cervix and subsequently underwent pelvic lymphoscintigraphy.

Results: Of the 56 patients, 1 (1.79%) had an anaphylactic reaction and in 13 (23.22%) pulse oximetry readings were below 96%. The lowest median pulse oximetry reading in these patients was 87%. Pulse oximetry readings began to decrease between 2 and 10 minutes after patent blue dye injection into the cervix and lasted for approximately five minutes. No changes in blood pressure, heart rate or electrocardiogram were found during the period in which this alteration was recorded by the pulse oximeter. **Conclusion:** The decrease in pulse oximetry readings following patent blue dye injection into the cervix was associated with larger tumors and tumors that surrounded the external cervical.

Synopsis

Analyze the changes in pulse oximetry after patent blue dye injection in the uterine cervix for the study of sentinel lymph node in cervical cancer.

Introduction

In recent years, the identification of sentinel lymph nodes has increased in oncology. Various dyes, such as isosulfan blue and patent blue, have been used for this purpose [1,2,3]. The technique of sentinel lymphadenectomy has already been well-established for cases of breast cancer or melanoma, and is under investigation for other neoplasias, including cervical carcinoma [1]. Studies of sentinel lymph nodes in cervical cancer have increased worldwide in the literature since the first report in 1999 [4]. A systematic review published in 2007 identified 842 cases in the English scientific literature [5].

A transient decrease in oxygen saturation of hemoglobin measured by pulse oximetry has been described as an adverse effect of these dyes [3,6-8]. However, changes in arterial blood gas analysis or in the hemodynamic status of these patients did not occur [3,6,7]. This occurrence results from interference in oximetry readings, which require two wavelengths (660 and 940 nm) to distinguish between oxygenated hemoglobin (longer wavelength) and reduced hemoglobin (shorter wavelength). Since the wavelength of these dyes is close to 660 nm (around 640 nm), absorption of light in the red spectrum is increased, producing a falsely low oxygen saturation reading [8]. This type of adverse event has been described following patent blue dye injection either dermally, hypodermically or subcutaneously, mainly in cases of breast neoplasias and skin melanoma [2,3,9].

The objective of the present study was to evaluate changes in pulse oximetry readings in patients with cervical carcinoma following injection of patent blue dye into the cervix for sentinel lymph node detection.

Patients and Methods

This descriptive, analytical study was carried out in 56 patients who were submitted to radical hysterectomy and bilateral pelvic lymphadenectomy by laparotomy for the treatment of FIGO stages I and II cervical cancer between May 2006 and December 2007 at the Gynecology and Mastology Clinic of the *São Marcos* Hospital in Teresina, Piauí, Brazil. Patients who had previously undergone radiotherapy, chemotherapy and/or those with a previous history of allergic reaction were not included in the study. The study was approved by the Internal Review Board of the institution and the patients gave their written informed consent to participate prior to enrollment in the study.

Following anesthesia, the patients were placed in the lithotomy position and the cervix was visualized with the aid of a vaginal speculum. Four milliliters of patent blue dye 2.5% (Patent blue V Guerbet®) were injected into the cervix using a 25-gauge spinal needle. The injection was given into the mucosa surrounding the tumor at the 3, 6, 9 and 12 o'clock positions. Whenever possible, direct injection of the dye into the tumor was avoided in order to reduce outflow of patent blue dye.

Following dye injection, the surgical team remained constantly alert to the possibility of complications such as allergic reactions or a reduction in pulse oximetry readings to below 96% (oxygen saturation values). The lowest pulse oximetry reading for each patient was then recorded. In this study, pulse oximetry was measured as two wavelengths (660 and 940 nm) to differentiate oxygenated from reduced hemoglobin. Changes in blood pressure, heart rate and electrocardiogram were also recorded during the procedure.

All surgical samples were later analyzed macroscopically by a pathologist and tumor sites were defined: cervical canal, surrounding the external cervical os, anterior cervix, posterior cervix or occupying the entire cervix. On macroscopic examination, the pathologist also measured tumor size with a ruler marked at 0.1 cm-intervals and recorded the largest tumor diameter. Hematoxylin-eosin-stained histological tumor sections were analyzed microscopically and graded as well differentiated, moderately differentiated, poorly differentiated or undifferentiated.

All patients received an injection of Dextran 500 labeled with technetium^{99m} (^{99m}Tc Dextran), administered an average of 19.3 hours before surgery. Initially, subjects were placed in the lithotomy position and the cervix was visualized using a vaginal speculum. With an insulin needle, ^{99m}Tc Dextran was injected into the cervical mucosa surrounding the tumor. The dose was 0.8-1.1 ml, with 600-800 μ Ci (22.2-29.6 MBq), fractionated into four applications of 0.20-0.25 ml, each containing 150-200 μ Ci (5.5-7.4 MBq). The injections were given at the 3, 6, 9 and 12 o'clock positions. Images were captured 3-4 hours following radiocolloid administration using a single-head, ADAC gamma camera (ADAC Laboratories, Milpitas, CA), with a large field of vision in both anterior and lateral views and a 20% energy window centered at 140keV, equipped with a low-energy high-resolution collimator, matrix size of 128 x 128.

A descriptive statistical analysis of the clinical and pathological features of the patients was performed using the Winstat[®] software program, version 2007.1. The chi-squared test and Pearson's correlation were used to compare nominal variables. The SPSS[®] software program, version 14.0 was used for the calculation of both tests. During the entire statistical analysis, significance level was set at 0.06-0.09.

Results

The mean age of the 56 patients was 45.7 years. Squamous cell carcinoma was the most common histological type. The most common degree of differentiation was poorly differentiated and the most common tumor site was surrounding the external cervical os (Table 1).

Fourteen women suffered some form of adverse event. Of these, only 1 (1.79%) had an anaphylactic reaction, while 13 (23.22%) showed a reduction in pulse oximetry readings to values below 96%. Minimum oximetry readings are shown in Table 2. The lowest median pulse oximetry reading for the entire sample of patients was 87%, while 57% was the lowest single measurement recorded. This decrease in pulse oximetry reading occurred between two and ten minutes after patent blue dye was injected into the cervix, lasting approximately five minutes. No changes in blood pressure, heart rate or electrocardiogram were recorded during the period in which the oximeter registered a reduction in pulse oximetry readings.

Pearson's correlation indicated an association between larger tumor size and a decrease in pulse oximetry readings. Nevertheless, correlation was only of borderline significance ($p=0.08$). No correlation was found between patient age or number of lymph nodes and pulse oximetry measurements (Table 3).

An association was also found between tumors surrounding the cervical external os and a decrease in pulse oximetry readings. However, this correlation was also of borderline statistical significance ($p=0.06$). No association was found with histological type or degree of differentiation (Table 3).

The patient who suffered an anaphylactic reaction received immediate treatment with orotracheal intubation and the administration of glucocorticoid and

epinephrine. The color of her skin and mucosa turned bluish. Surgery was cancelled and the patient remained in the intensive care unit for 24 hours. Three days after hospital discharge, she was readmitted for surgery. The patient underwent radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy without the use of patent blue dye or technetium^{99m}. On the seventh day after surgery, the patient was discharged from the hospital without any further complications.

Discussion

Changes in pulse oximetry readings may occur when patent blue dye is used for sentinel lymph node detection in oncological surgery [2,3,6]. A report in the literature describes an anemic patient whose pulse oximetry remained altered for up to five days after intra-arterial injection of patent blue [7]. Pulse oximetry measures the oxygen saturation of hemoglobin. It does not measure oxygen pressure, carbon dioxide pressure or blood pH [3,6,7].

Experimental studies have consistently shown that the reduction in pulse oximetry readings is not accompanied by a decrease in arterial oxygen saturation, and only represents interference in pulse oximetry readings (wavelength of 660 nm) [10]. For this reason, routine arterial blood gas analysis was not performed in the present study. The wavelength of 660 nm distinguishes oxyhemoglobin which is the fraction of hemoglobin that is read by pulse oximetry. When patent blue dye is used, the red blood cells become impregnated with dye and turn bluish in color, despite being saturated with oxygen. Oxyhemoglobin is not identified, thereby affecting pulse oximetry readings [3,10]. In the present study, no adverse effect associated with decreased pulse oximetry was observed.

The injection of patent blue into the cervical mucosa causes systemic absorption through the highly vascular parametrial lymph nodes, even though this dye has a predilection for the lymphatic channels. Pulse oximetry is affected, resulting in a transient decrease in oximetry readings that generally lasts from three to five minutes [1,10]. These data are in agreement with values found in the present study, in which the decrease in oximetry measurements lasted around five minutes.

Little has been published in the literature about the frequency of this occurrence. One study has reported a mean minimum value of 61.02% following intravenous injection of methylene blue dye; however, these data were derived from only five patients [10]. In the present study, the minimum value recorded was 57%.

To the best of our knowledge, no data have been published on variables that may affect this event. Although no statistically significant correlation was found between any of the variables analyzed and changes in pulse oximetry readings, two variables (larger tumor diameter and tumor site) were considered of borderline statistical significance (5-9%), suggesting that they may be related to this event. This may be due to the small sample size in the present study. Studies with larger sample sizes may succeed in achieving results with greater statistical significance that might confirm these findings. It is likely that tumors surrounding the external cervical os and larger tumors may determine a greater area of angiogenesis. As a result, there is a greater absorption of patent blue dye, leading to a decrease in pulse oximetry reading. In theory, tumors surrounding the external cervical os have a greater area of absorption, due to dye injection into the four quadrants of the cervix. Furthermore, dye may be injected into the tumor in cases of large

tumors. This causes a greater absorption and consequently a decrease in pulse oximetry readings, since it is difficult to ensure submucosal injection alone.

It is important to make a differential diagnosis between a reduction in pulse oximetry readings that occurs in tension pneumothorax, pulmonary embolism, dislocation of an endotracheal tube and acute myocardial infarction. A factor that indicates a decreased pulse oximetry reading following dye injection is the bluish coloring of the skin and mucosa that was also observed in all patients in the present study. Previous communication with the anesthetist in charge of the procedure is important to minimize the occurrence of stressful situations for the surgeons and anesthesiologists involved [1,8,9].

Regarding the allergic reaction to patent blue dye, our data was similar to those reported in the literature that describe a 0.1-2% incidence of allergic reactions. This type of reaction may occur even in patients who had no previous contact with the dye, since they may have become sensitized to products containing this dye or similar substances [3,11-14]. Treatment is administered with intravenous epinephrine and glucocorticoids, the dose varies according the severity of the reaction [15]. The patient who had an anaphylactic reaction received immediate treatment with epinephrine, antihistamines, glucocorticoids and orotracheal intubation [11], resulting in complete reversal of the condition. Three days later, the patient underwent surgery without the use of patent blue dye and had no further complications.

Some investigators defend the use of methylene blue dye as an alternative to patent blue dye due to its wider availability, lower cost and reduced risk of allergic reactions (although anaphylaxis has already been reported after the use of this dye). In addition, it has been shown to be effective in detecting lymph nodes

in up to 95.5% of cases [11,12,16]. Nevertheless, methylene blue may also induce intense tissue reaction following even superficial injection and provoke vasospasms due to inhibition of nitric oxide synthase [13,17]. However, methylene blue dye has not been evaluated for this specific indication and further studies are needed to confirm its efficacy and safety [13].

Another alternative to avoid allergic reactions to patent blue dye would be the systematic prophylactic administration of preoperative antiallergy medication, mainly glycocorticoids and antihistamines, particularly to patients with a history of allergy [13]. However, further studies are needed to confirm the efficacy of this alternative, in view of the uncommon allergic reactions [13,18]. Finally, another alternative would be to conduct studies to evaluate whether a lower dose of patent blue dye would reduce the frequency and severity of allergic reactions [18].

It is always important to be alert to the possibility that a decrease in pulse oximetry after dye administration does not mean that the dye is the cause. There are a number of causes that may interfere in this measurement, e.g. anemia, dysfunctional hemoglobins, venous pulse, ambient light, motion artifacts and the penumbra effect (probe malposition). The first three are conditions usually known in the preoperative period, and a low oximetry reading should come as no surprise. However, the three latter conditions may occur during surgery, producing a reduction in oxygen saturation. If any of these conditions coincide with dye injection, the reduction in oxygen saturation may be erroneously attributed to the dye [20].

The risks of using patent blue dye should also be weighed against the benefit of mapping sentinel lymph nodes for cervical cancer, although this has not yet

been well-established. Recent studies have indicated the advantages in including the sentinel node mapping technique for the treatment of cervical cancer [19,21].

Conclusion

In the present study, changes in pulse oximetry readings after the injection of patent blue dye into the cervix of patients with cervical carcinoma correlated positively with tumors surrounding the external cervical os and larger tumor size, although the correlation was of borderline statistical significance.

References

1. Vieira SC, Zeferino LC, Silva BB, *et al.* Estudo do linfonodo sentinela no câncer do colo uterino com azul patente. Rev Assoc Med Bras 2004, 50:302-4.
2. Massa EC, Grion LF, Ghaname NS. Reação alérgica ao azul patente. Sao Paulo Med J 2005, 123:53.
3. Noirot A, Vigneau A, Salengro A, Bonnet F. Allergic reaction to patent blue dye for sentinel lymph node detection during uterus oncological surgery. Ann Fr Anesth Reanim 2005, 24:541-2.
4. Echt ML, Finan MA, Hoffman MS, Kline RC, Roberts WS, Fiorica JV. Detection of sentinel lymph nodes with lymphazurin in cervical, uterine, and vulvar malignancies. South Med J 1999, 92:204-8.
5. van de Lande J, Torrença B, Raijmakers PG, *et al.* Sentinel lymph node detection in early stage uterine cervix carcinoma: a systematic review. Gynecol Oncol 2007, 106:604-13.

6. Koivusalo AM, Von Smitten K, Lindgren L. Sentinel node mapping affects intraoperative pulse oximetric recordings during breast cancer surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 2002, 46:411-4.
7. Saito S, Fukura H, Shimada H, Fujita T. Prolonged interference of blue dye “patent blue” with pulse oximetry readings. *Acta Anaesthesiol Scand* 1995, 39:268-9.
8. Hueter L, Schwarzkopf K, Karzai W. Interference of patent blue V dye with pulse oximetry and co-oximetry. *Eur J Anaesthesiol* 2005, 22:475-6.
9. Yusim Y, Livingstone D, Sidi A. Blue dyes, blue people: the systemic effects of blue dyes when administered via different routes. *J Clin Anesth* 2007, 19:315–21.
10. Scheller MS, Unger RJ, Kelner MJ. Effects of intravenously administered dyes on pulse oximetry readings. *Anesthesiology* 1986, 65:550-2.
11. Beenen E, de Roy van Zuidewijn DB. Patients blue on patent blue: An adverse reaction during four sentinel node procedures. *Surg Oncol* 2005, 14:151–4.
12. Mansouri R, Chicken DW, Keshtgar MR. Allergic reactions to patent blue dye. *Surg Oncol* 2006, 5:58.
13. Thierrin L, Steiger D, Zuber JP, Spertini F, Brunisholz Y, Delaloye JF. Severe anaphylactic shock to patent blue V with cardiac arrest during breast carcinoma surgery with lymphatic mapping. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007: In Press.
14. Dewachter P, Mouton-Faivre C, Benhaijoub A, Abel-Decollogne F, Mertes PM. Anaphylactic reaction to patent blue V after sentinel lymph node biopsy. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006, 50:245-7.

15. Albo D, Wayne JD, Hunt KK, *et al.* Anaphylactic reactions to isosulfan blue dye during sentinel lymph node biopsy for breast cancer. *Am J Surg* 2001, 182:393-8.
16. Dewachter P, Mouton-Faivre C, Trechot P, Llieu JC, Mertes PM. Severe anaphylactic shock with methylene blue instillation. *Anesth Analg* 2005, 101:149–50.
17. Stradling B, Aranha G, Gabram S. Adverse skin lesions after methylene blue injections for sentinel lymph node localization. *Am J Surg* 2002, 184:350–2.
18. Keller B, Yawalkar N, Pichler C, Braathen LR, Hunger RE. Hypersensitivity reaction against patent blue during sentinel lymph node removal in three melanoma patients. *Am J Surg* 2007, 193:122–4.
19. Loar PV 3rd, Reynolds RK. Sentinel lymph node mapping in gynecologic malignancies. *Int J Gynaecol Obstet* 2007, 99:69-74.
20. Tobin MJ – Principles and practice of intensive care monitoring, First Edition. New York:McGraw Hill, 1998.
21. Schneider A. The sentinel concept in patients with cervical cancer. *J Surg Oncol* 2007, 96:337-41.

Table 1: Cervical cancer characteristics

Characteristics		n	%
Histological type	Squamous cell carcinoma	46	82.1
	Adenocarcinoma	7	12.5
	Adenosquamous carcinoma	3	5.4
Degree of differentiation	G1	14	25
	G2	16	28.6
	G3	26	46.4
Localization*	Cervical canal	1	1.85
	Surrounding the external cervical os	25	46.30
	Anterior cervix	5	9.26
	Posterior cervix	9	16.67
	Occupying the entire cervix	14	25.92

* In two patients, surgery was not performed and tumor site could not be identified.

Table 2: Minimum pulse oximetry readings in patients showing decreased oximetry.

Patient	Minimum pulse oximetry reading for each patient (%)*	Duration of decreased oximetry (in minutes) for each patient	
1	57	Lowest reading	6
2	66		7
3	70		3
4	73		2
5	73		2
6	81		7
7	87	Median	3
8	89		5
9	91		5
10	92		10
11	92		4
12	93		7
13	94	Highest reading	4

* Only oximetry readings below 96%.

Table 3: Association between patient age, tumor characteristics and decrease in pulse oximetry readings calculated by Pearson's correlation and the chi-square test.

Characteristics	p-value	Test
Patient age	0.53	Pearson's correlation
Tumor size	0.08	
Number of stained lymph nodes	0.78	
Histological type	0.34	Chi-square Test
Degree of differentiation	0.97	
Tumor site	0.06	

4. Discussão

O tratamento do câncer do colo do útero inicial está sendo submetido à validação do conceito da linfonodectomia sentinela. Este procedimento já está bem estabelecido em câncer de mama e melanoma, e dados consistentes de um estudo multicêntrico obtiveram taxa de recorrência linfonodal baixa em pacientes que se submeteram à linfonodectomia sentinela em câncer de vulva inicial quando o LNS foi negativo, afirmando os autores que o procedimento é seguro para estas pacientes (Van der Zee et al., 2008). A principal vantagem da linfonodectomia sentinela é a diminuição das complicações decorrentes da linfonodectomia radical. A traquelectomia radical com pesquisa do linfonodo sentinela é uma opção para as pacientes que desejam manter a capacidade reprodutiva. No entanto, ainda não é conduta-padrão, uma vez as pacientes elegíveis para estes procedimentos devem assinar consentimento informado. Em uma revisão de 520 casos publicados de traquelectomia radical e linfonodectomia pélvica, os índices de recidivas foram de 4,2% em 48 meses e houve 2,8% de morte por câncer de colo do útero no mesmo período. Cerca de 70% das pacientes submetidas à traquelectomia tentaram engravidar e, destas, em 21%, a gravidez terminou entre 24 e 36 semanas e em 50% após 36 semanas (Ramirez et al., 2008).

Estes dados apontam para a necessidade de estudos randomizados multicêntricos para validação do conceito da linfonodectomia em câncer do colo uterino inicial, sobretudo as pacientes com tumores menores que 2cm, como demonstrado em outro estudo (Altgassen et al., 2008).

A presente tese demonstrou que a taxa de identificação do linfonodo sentinela para pacientes com tumores menores ou iguais a 2cm foi de 96,5% e para tumores maiores que 2cm foi de 72,7%. A sensibilidade, especificidade, valor preditivo e valor preditivo negativo estão de acordo com os dados publicados na literatura.

A taxa de falso negativo no presente estudo foi de 2,3%. No maior estudo publicado (Altgassen et al., 2008) a taxa de falso negativo foi de 4,2%, sendo que 4 dos 24 pacientes com LNS falso negativo apresentaram metástase somente em linfonodos parametriaes. Entretanto, o impacto na sobrevida e recorrência das pacientes com metástase em linfonodo parametrial, sem metástase para linfonodos pélvicos ou paraórticos, é incerta (Winter et al., 2002), pois os mesmos são removidos no espécime cirúrgico da histerectomia radical. Portanto, o impacto na sobrevida e recorrência pode ser limitado nestes casos.

As principais dificuldades da linfonodectomia sentinela em câncer do colo uterino ainda são a ausência de padronização da técnica, qual o volume do corante que deve ser injetado no colo do útero e se a diluição do corante tem impacto clínico na identificação do linfonodo parametrial, como demonstraram Altgassen et al. (2007). A identificação do linfonodo parametrial utilizando

somente o tecnécio^{99m} é difícil por causa da captação pelo gamma probe do tecnécio injetado no colo do útero, e a visualização através do corante é mais factível. No presente estudo a taxa de identificação do linfonodo parametrial foi de 2,1%. No entanto, esta série é pequena e não se realizou diluição do corante, pois a injeção do azul patente deixa a área parametrial totalmente azul, o que dificulta a visualização de linfonodos parametriais corados. Outra dúvida que precisa ser solucionada por futuros estudos é o local apropriado da injeção do corante, pois em tumores maiores é difícil de se estabelecer a real quantidade injetada, devido ao extravasamento que ocorre freqüentemente nestes casos, mesmo evitando-se injeção dentro do tumor.

Em uma revisão sistemática publicada recentemente, a maioria dos estudos utilizou a injeção do corante em quatro quadrantes no colo do útero. No entanto, a maioria dos estudos não relatou como foi realizada a injeção do corante, se intra ou subepitelialmente (Lande et al., 2007)

A taxa de LNS bilateral no presente estudo foi de 46,4%. Esta taxa tem variado de 19% a 90% (Dargent et al., 2000; Verheijen et al., 2000; Dargent et al., 2003; Barranger et al., 2003; Lambaudie et al., 2003; Plante et al., 2003; Wydra et al., 2003; Angioli et al., 2005), demonstrando mais uma vez a necessidade de padronização da técnica para que os dados possam ser reproduzíveis e aplicados na rotina. Como o útero é um órgão mediano, teoricamente a detecção de LNS deveria ser sempre bilateral para representar o *status* linfonodal pélvico. Entretanto, uma taxa de metástase para linfonodo pélvico unilateral foi encontrada em 73% das pacientes com câncer do colo do

útero que se submeteram à linfonodectomia pélvica (Niikura et al., 2002). Admitindo-se a pelve como uma unidade, se somente um LNS foi detectado a linfonodectomia pélvica bilateral pode ser desnecessária (Altgassen et al., 2008). Aplicando os resultados do estudo multicêntrico alemão, que avaliou pacientes com tumores menores ou iguais a 2cm, de cada 100 pacientes 85 seriam beneficiadas com um procedimento de linfonodectomia sentinela (verdadeiros negativos) e apenas uma paciente apresentaria LNS falso negativo (Altgassen et al., 2008). Estes resultados são melhores do que os obtidos com a linfonodectomia sentinela em câncer de mama, onde os falsos negativos ocorreram em cerca de 4% dos casos. No entanto, a recorrência axilar em pacientes com câncer de mama inicial que se submeteram à linfonodectomia sentinela, quando comparados com os da linfonodectomia axilar radical são semelhantes (Veronesi et al., 2003).

As taxas de complicações da linfonodectomia sentinela precisam também ser estabelecidas, pois não é um procedimento simples. Quando o linfonodo sentinela está localizado na fossa obturadora, a ressecção do mesmo implica um procedimento maior do que quando está localizado na topográfica da artéria ilíaca externa. Isto pode determinar linfedema, sangramento, linfocistos e lesões nervosas. Estas complicações não têm sido relatadas nos estudos acerca da linfonodectomia sentinela em câncer do colo do útero, pois a linfonodectomia pélvica radical tem sido realizada em todos os estudos. Em câncer de mama, a taxa de linfedema é significativamente maior nas pacientes submetidas à linfonodectomia axilar radical quando comparada à da linfonodectomia sentinela (Veronesi et al., 2003).

No outro artigo, abordamos as alterações na oximetria de pulso determinada pelo azul patente e complicações. A mortalidade determinada pela histerectomia radical é inferior a 1%, portanto a incorporação de novos procedimentos não deve alterar estas taxas. Reações graves ao azul patente têm sido documentadas, principalmente reações anafiláticas graves. No presente estudo, anafilaxia foi observada em uma paciente que teve a cirurgia abortada, sendo reoperada depois sem intercorrências. A equipe envolvida nestes procedimentos, principalmente os anestesistas, deve estar familiarizada com estes eventos, pois se medidas de suporte relativamente simples forem adotadas nestas complicações, geralmente há uma recuperação sem seqüelas, como visto no presente caso. As pacientes precisam ser comunicadas da possibilidade destes eventos. Outra alteração vista em 100% das pacientes é a coloração azul-esverdeada da urina, que persiste por 24 a 72 horas. Pele e mucosas também sofrem alterações na cor, ficando com aspecto cadavérico temporário, havendo reversão completa, geralmente, em 24 horas.

Portanto, a elaboração de um estudo multicêntrico brasileiro faz-se necessário para se determinar a utilidade clínica da técnica do LNS em câncer do colo uterino, já que esta doença é um problema de saúde importante em nosso meio. As pacientes elegíveis para este estudo seriam as com tumores menores ou iguais a 2cm, utilizando-se o técnésio em dose acima de 100mci e azul patente (4ml) diluído em soro fisiológico. As pacientes que apresentassem lifonodo sentinela positivo no exame de congelação seriam tratadas com rádio e quimioterapia exclusivas. As com LNS negativo seriam randomizadas para realização ou não da linfonodectomia pélvica radical.

5. Conclusões

– Artigo 1

A combinação de um radionuclídeo com o azul patente atualmente aparenta ser o melhor método para detecção do linfonodo sentinela, e os dados encontrados no estudo reforçam esta hipótese.

Entretanto, a linfocintigrafia pélvica pré-operatória não oferece qualquer benefício para a detecção dos linfonodos sentinelas em pacientes submetidas ao mapeamento linfático intra-operatório durante a histerectomia radical.

– Artigo 2

A alteração na leitura da oximetria de pulso após injeção de azul patente no colo do útero de pacientes com câncer de colo do útero correlacionou-se positivamente com tumores ao redor do orifício externo e maiores tumores, apesar da correlação ser de significância limítrofe. Essas alterações não tiveram repercussão clínica.

6. Referências Bibliográficas

Angioli R, Palaia I, Cipriani C, Muzzi L, Calcagno M, Gullota G, et al. Role of sentinel lymph node biopsy procedure in cervical cancer: A critical point of view. *Gynecol Oncol* 2005;96:504-9.

Altgassen C, Hertel H, Brandstädt A, Köhler C, Dürst M, Schneider A. Multicenter validation study of the sentinel lymph node concept in cervical cancer: AGO Study Group. *J Clin Oncol* 2008;26(18):2943-51.

Altgassen C, Paseka A, Urbanczyk H, Dimpfl T, Diedrich K, Dahmen G, et al. Dilution of dye improves parametrial SLN detection in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2007;105(2):329-34.

Barranger E, Grahek D, Cortez A, Talbot JN, Uzan S, Darai E. Laparoscopic sentinel lymph node procedure using a combination of patent blue and radioisotope in women with cervical carcinoma. *Cancer* 2003;97:3003-9.

Beenen E, de Roy van Zuidewijn DBW. Patients blue on patent blue: An adverse reaction during four sentinel node procedures. *Surg Oncol* 2005;14:151-4.

Boronow RC. Stage I Cervix cancer and pelvic metastasi. Special reference to the implications of the new recently replaced FIGO classifications of stage Ia. *Am J Obstet Gynecol* 1977;27:135-7.

Buchsbaun HJ. Extrapelvic lymph node metastasis in cervical carcinoma. Am J Obstet Gynecol 1989;133:814-24.

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

Camilien L, Gordon D, Fruchter RG, Maimam R, Boyce JG. Predictive value computerized tomography in the presurgical evaluation of primary carcinoma of the cervix. Gynecol Oncol 1988;30:209-15.

Chassard JL, Jenn A, Gerar JP, Jacob F, Serin D. Les complications graves de la lymphographie au lipiodol. Ann Radiol 1977;20:193-201.

Chuang L, Burke TW, Tornos C, Marino DB, Mitchell MF, Tortolero-Luna G, et al. Staging laparotomy for endometrial carcinoma: assessment of retroperitoneal lymph nodes. Gynecol Oncol 1995;58:189-93.

Dargent D, Enria R. Laparoscopic assessment of the sentinel lymph nodes in early cervical cancer: Technique - Preliminary results and future developments. Crit Rev Oncol Hematol 2003;48:305-10.

Dargent D, Martin X, Mathevet P. Laparoscopic assessment of the sentinel lymph node in early stage cervical cancer. Gynecol Oncol 2000;79:411-5.

Dewatcher P, Mouton-Faivre C, Benhajjoub A, Abel-Decollogne F, Mertes PM. Anaphylactic reaction to patent blue V after sentinel lymph node biopsy. Acta Anaesthesiol Scand 2006;50:245-7.

Di Stefano AB, Acquaviva G, Garozzo G, Barbic M, Cvjeticanin B, Meglic L, et al. Lymph node mapping and sentinel node detection in patients with cervical carcinoma: A 2-year experience. Gynecol Oncol 2005;99:671-9.

Echt ML, Finan MA, Hoffman MS, Kline RC, Roberts WS, Florica JV. Detection of sentinel lymph nodes with lymphazurin in cervical, uterine, and vulvar malignancies. *South Med Surg* 1999;92:204-8.

Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994;230:391-401.

Hill ADK, Tran KN, Akhurst T, Yeung H, Yeh SDJ, Rosen PP, et al. Lessons learned from 500 cases of lymphatic mapping for breast cancer. *Ann Surg* 1999;229:528-35.

Hsu CT, Cheng YS, Su SC. Prognosis of uterine cervical cancer with extensive lymph node metastases. *Am J Obstet Gynecol* 1972;114:954-62.

Kettlewell S, Moyes C, Bray C, Soutar DS, MacKay A, Byrne D, et al. Value of sentinel node status as a prognostic factor in melanoma: prospective observational study. *BMJ* 2006;332(7555):1423.

Kraft O, Sevcik L, Kát J, Koliba P, Curík R, Krízová H. Detection of sentinel lymph nodes in cervical cancer. A comparison of two protocols. *Nucl Med Rev* 2006;9(1):1-4.

Lambaudie E, Collinet P, Narducci F, Sonoda Y, Papageorgiou T, Carpentier P, et al. Laparoscopic identification of sentinel lymph nodes in early stage cervical cancer: Prospective study using a combination of patent blue dye injection and technetium^{99m} radiocolloid injection and technetium^{99m} radiocolloid. *Gynecol Oncol* 2003;89:84-7.

Lande J, Torrens B, Raijmakers PGHM, Hoekstra OS, Baal MW, Brölmann HAM, Verheijen RHM. Sentinel lymph node detection in early stage uterine cervix carcinoma: A systematic review. *Gynecol Oncol* 2007;106:604-13.

Langley II, More DW, Tarnarsky JW, Roberts PHR. Radical Hysterectomy and pelvic lymph node dissection. *Gynecol Oncol* 1980;9:37-42.

Lee YN, Wang KW, Lim MH, Liu CH, Wang KG, Lan CC, et al. Radical hysterectomy with pelvic lymph node dissection for treatment of cervical cancer: a clinical review of 954 cases. *Gynecol Oncol* 1989;32:135-42.

Levenback C, Coleman RL, Burke TW, Lin WM, Erdman W, Deavers M *et al.* Lymphatic mapping and sentinel node identification in patients with cervix cancer undergoing radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. *J Clin Oncol* 2002;20:688-93.

Malur S, Krause N, Köhler C, Scheneider A. Sentinel Lymph Node Detection in Patients with Cervical Cancer. *Gynecol Oncol* 2001;80:254-7.

Matsukuma K, Tsukamoto N, Matsuyama T, Ono M, Nakano H. Preoperative CT study of lymph node in cervical cancer - its correlation with histological findings. *Gynecol Oncol* 1989;33:168-71.

Mortazavi SH, Burrows BD. Allergic reaction to patent blue dye in lymphangiography. *Clin Radiol* 1971;22:389-90.

Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992;127:329-39.

Niikura H, Okamura C, Akahira J, Takano T, Ito K, Okamura K *et al.* Sentinel lymph node detection in early cervical cancer with combination ^{99m}Tc phytate and patent blue. *Gynecol Oncol* 2004;94:528-32.

Noguchi M, Tsugawa L, Miwa K. Internal mammary chain sentinel lymph node identification in breast cancer. *J Surg Oncol* 200;73:75-80.

Noirot A, Vigneau A, Salengro A, Bonnet F. Allergic reaction to patent blue dye for sentinel lymph node detection during uterus oncological surgery. *Ann Fr Anesth Reanim* 2005;24(11-12):1406-7.

Plante M, Renaud MC, Têtu B, Harel F, Roy M. Laparoscopic sentinel node mapping in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2003;91:494-503.

Ramirez PT, Schmeler KM, Soliman PT, Frumovitz M. Fertility preservation in patients with early cervical cancer: Radical trachelectomy. *Gynecol Oncol* 2008: No prelo.

Sakuragi N, Satoh C, Takeda N, Hareyama G, Takeda M, Yamamoto R *et al.* Incidence and distribution pattern of pelvic and paraaortic lymph node metastasis in patients with stages IB, IIA, and IIB cervical carcinoma treated with radical hysterectomy. *Cancer* 1999;85:1547-54.

Sieber F. Incidents after the subcutaneous instillation of blue patent violet for lymphography. *Med Biol* 1968;11:102-3.

Silva LB, Silva-Filho AL, Traiman P, Triginelli SA, de Lima CF, Siqueira CF, *et al.* Sentinel node detection in cervical cancer with (99m)Tc-phytate. *Gynecol Oncol* 2005;97(2):588-95.

Van der Zee AGJ, Oonk MK, De Hullu JA, Ansink AC, Vergote I, Verheijen RH *et al.* *J Clin Oncol* 2008;26(6):884-9.

Verheijen RHM, Pijpers R, van Diest PJ, Burger CW, Buist MR, Kenemans P. Sentinel node detection in cervical cancer. *Obstet Gynecol* 2000;96:135-8.

Veronesi U, Paganelli G, Viale G, Luini A, Zurrada S, Galimberti V *et al.* A Randomized Comparison of Sentinel-Node Biopsy with Routine Axillary Dissection in Breast Cancer. *New Eng J Med* 2003;349(6):546-53.

Vieira SC, Zeferino LC, Silva BB, Santana JOI, Santos LG, Carvalho TCB, et al. Estudo do linfonodo sentinela no câncer do colo uterino com azul patente. Rev Assoc Med Bras 2004;50(3):302-4.

Thierrin L, Steiger D, Zuber JP, Spertini F, Brunisholz Y, Delaloye JF. Severe anaphylactic shock to patent blue V with cardiac arrest during breast carcinoma surgery with lymphatic mapping. Eur J Obstet Gynecol 2007: No prelo.

Winter R, Haas J, Reich O, Koemetter R, Tamussino K, Lahousen M, et al. Parametrial spread of cervical cancer in patients with negative pelvic lymph nodes. Gynecol Oncol 2002;84:252-7.

Wydra D, Sawicki S, Emerich J, Romanowicz G. The influence of depth of marker administration on sentinel node detection in cervical cancer. Nucl Med Rev Cent East Eur 2003;6:131-3.

Yusim Y, Livingstone D, Sidi A, Paulus DA. Blue dyes, blue people: the systemic effects of blue dyes when administered via different routes. J Clin Anesth 2007; 19:315–21.

7. Anexos

7.1. Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

LINFONODO SENTINELA EM CÂNCER DO COLO DO ÚTERO

INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS: Centro de Ciências da Saúde (UFPI), UNICAMP e Associação Piauiense de Combate ao Câncer – Hospital São Marcos – Clínica de Ginecologia e Mastologia (Local do Estudo)

O câncer do colo do útero é a neoplasia ginecológica mais frequente na mulher piauiense. O tratamento dos casos iniciais é através de cirurgia, que implica em alguns casos na retirada do útero e linfonodos (“gânglios linfáticos”) na região pélvica. A cirurgia é chamada de histerectomia radical. Para as pacientes que desejam engravidar pode ser discutida a possibilidade de preservação do útero.

A histerectomia radical está associada a várias complicações. Entre as quais, a formação de cistos na cavidade pélvica, inchaço (chamado “linfedema”) nas pernas, sangramentos e lesões nervosas. Estas complicações, bem como, o aumento do tempo de duração da cirurgia, estão associadas a retirada dos “gânglios linfáticos” da região pélvica.

Estamos desenvolvendo um pesquisa que consiste em estudar a possibilidade de evitar-se a “linfonodectomia pélvica” (“retirada dos gânglios da

região pélvica) nas pacientes com câncer do colo uterino. Esta pesquisa não trará nenhum benefício para você, mas poderá beneficiar outras pacientes no futuro, com câncer do colo uterino. A pesquisa consiste em retirar inicialmente o(s) linfonodo(s) (“gânglios”) sentinela, que é o primeiro gânglio a receber a drenagem linfática do tumor. Este procedimento hoje já é realizado rotineiramente em câncer de mama e em um tipo de câncer de pele chamado “melanoma”. Nestes pacientes quando o linfonodo sentinela é negativo, não há necessidade de se retirar os demais linfonodos, diminuindo as complicações do tratamento. O que se espera em câncer do colo uterino é que o mesmo princípio possa ser verdadeiro, e assim poderia ser evitada a retirada de todos os “gânglios” pélvicos quando o(s) linfonodo(s) sentinela(s) for(em) negativo(s). A cirurgia que será realizada em você é a cirurgia padrão para tratamento do câncer do colo uterino, ou seja, a histerectomia radical com retirada de todos os gânglios. O que faremos de diferente é inicialmente retirar o(s) “linfonodo(s) sentinela(s)” e em seguida se retirará todos os “gânglios” linfáticos pélvicos.

Este estudo será realizado utilizando-se uma substância radiotiva (tecnécio^{99m}) e um corante (chamado azul patente) que serão injetados em volta do tumor do colo do útero. O tecnécio^{99m} será injetado no colo uterino na véspera da cirurgia. Você será colocada em posição ginecológica no consultório (da mesma forma em que é realizado o exame de prevenção do câncer do colo uterino). Aplicaremos o tecnécio^{99m} no colo uterino utilizando-se uma seringa pequena (a mesma utilizada em pacientes com diabetes). Esta aplicação do tecnécio^{99m} no colo uterino causa uma dor de leve a moderada, mas de curta duração, pois o procedimento dura cerca de um minuto somente. Após a injeção do tecnécio^{99m} será realizado um exame chamado linfocintigrafia pélvica, que consiste em você ficar deitada numa cama (aparelho chamado gama câmara) e realizado algumas imagens da região pélvica. O exame não é doloroso, porém pode demorar algumas horas para ser conduzido. Às vezes pode ser necessária a repetição da injeção do tecnécio^{99m} no colo uterino, quando o exame não fica adequado (não ocorre migração do tecnécio^{99m} para a região pélvica).

A operação será realizada após anestesia geral ou raquianestesia, portanto isento de dor para a paciente. A reação alérgica ao corante é muito rara e não há relato na literatura médica de óbito por este evento e as pacientes com antecedentes alérgicos ao corante serão excluídas do estudo.

Os órgãos retirados (útero, ovários e linfonodos) serão analisados no departamento de anatomia patológica do Hospital São Marcos, onde serão processados e arquivados da mesma forma que as peças das pacientes que não participarem do estudo. A única diferença é o estudo mais detalhado do linfonodo sentinela.

O tratamento cirúrgico será o mesmo realizado para as pacientes que não participarem do estudo, portanto sem nenhum prejuízo do ponto de vista curativo. As pacientes que participarem do estudo serão acompanhadas no ambulatório no Hospital São Marcos pelo médico responsável pelo estudo (Sabas Carlos Vieira). A qualquer momento, até a cirurgia, a paciente terá o direito de retirar seu consentimento, sem que isto prejudique a continuação do seu tratamento na instituição.

Não haverá identificação da paciente, e todas as informações serão mantidas em sigilo.

Eu declaro que o Dr. Sabas Carlos Vieira explicou-me, e eu entendi, que vou participar de uma pesquisa médica, intitulada “Estudo do linfonodo sentinela em câncer do colo uterino”. Foi-me explicado que eu terei que me submeter à anestesia para a realização da cirurgia proposta. A anestesia poderá ser raque (“anestesia com injeção do anestésico nas costas”) ou geral. Foram-me devidamente explicados a cirurgia, os riscos e complicações de um modo claro (fácil entendimento para uma pessoa leiga, ou seja, não médica ou profissional de saúde). Recebi todas as informações que desejo conhecer e a possibilidade de fazer perguntas e questionar dúvidas. Também entendi que, a qualquer momento e sem necessidade de dar qualquer explicação, poderei revogar o consentimento que agora presto. Assim, declaro, agora, que estou satisfeita com a informação recebida e que compreendo o alcance e os riscos do

tratamento. Reservo-me expressamente o direito de retirar minha autorização para participar deste estudo, a qualquer momento. Também sei que poderei pleitear indenização inclusive, judicialmente, se me sentir prejudicada por este estudo. Por tal razão, e nestas condições, consinto em participar deste estudo.

Endereço de contato (Dr. Sabas Carlos Vieira): Rua Félix Pacheco 2159, centro, Teresina- Piauí CEP 64001-160, telefone (86) 3233-1419, (86)9981-1804, fax (86) 3226-1555, e-mail: sabas.vieira@uol.com.br

Teresina

Data:

Assinatura do médico: _____

Assinatura da paciente: _____

Assinatura da testemunha _____

Assinatura da testemunha _____

Revogo o consentimento prestado no dia _____ e afirmo que não desejo prosseguir no estudo que me foi proposto e que dou como finalizado nesta data.

Teresina

Data:

Assinatura do médico: _____

Assinatura da paciente: _____

Assinatura da testemunha: _____

Assinatura da testemunha: _____

7.2. Anexo 2 – Ficha de Coleta de Dados

1. Número do prontuário da paciente: |__|__|__|__|__|__|
2. Data da injeção tecnécio^{99m}: ____/____/____ hora: ____:____
Data da cirurgia: ____/____/____
3. Hora da realização da cintigrafia pélvica: ____:____
Hora da cirurgia: ____:____
4. Linfonodos quentes total:_____
5. Linfonodos quentes direito:_____
6. Linfonodos quentes esquerdo:_____
7. Linfonodos quentes central:_____
8. Idade ao diagnóstico (Anos)_____|__|
9. Tipo histológico: (1) CEC (2) Adenocarcinoma
(3) Carcinoma adenoescamoso_____|__|
10. Grau de diferenciação: G1 (1) G2 (2) G3 (3) GX (4)
Ignorado (9)_____|__|
11. Localização do tumor: (1) canal cervical (2) periorifical
(3) lábio anterior (4) lábio posterior (5) ocupando todo o colo
(9) ignorado_____|__|
12. Número de linfonodos corados: _____
13. Número de linfonodos quentes: _____
14. Número de linfonodos corados e quentes: _____

15. Localização dos Linfonodos corados: (0) Ausência de LC
 (1) Ilíaco Externo D (2) Ilíaco Externo E (3) Ilíaco Interno D
 (4) Ilíaco Interno E (5) Fossa Obturadora D (6) Fossa Obturadora E
 (7) Ilíaco Comum D (8) Ilíaco Comum E (10) Paraórtico
 (11) Paramétrio D (12) Parametrio E (13) pré-sacral
 (14) paracervical direito (15) paracervical esquerda |_|_|_|_|_|_|_|_|

16. Localização dos Linfonodos Quentes: (0) Ausência de LC
 (1) Ilíaco Externo D (2) Ilíaco Externo E (3) Ilíaco Interno D
 (4) Ilíaco Interno E (5) Fossa Obturadora D (6) Fossa Obturadora E
 (7) Ilíaco Comum D (8) Ilíaco Comum E (10) Paraórtico
 (11) Paramétrio D (12) Parametrio E (13) pré-sacral
 (14) paracervical direito (15) paracervical esquerda |_|_|_|_|_|_|_|_|

17. Localização dos Linfonodos corados e quentes: (0) Ausência de LC
 (1) Ilíaco Externo D (2) Ilíaco Externo E (3) Ilíaco Interno D
 (4) Ilíaco Interno E (5) Fossa Obturadora D (6) Fossa Obturadora E
 (7) Ilíaco Comum D (8) Ilíaco Comum E (10) Paraórtico
 (11) Paramétrio D (12) Parametrio E (13) pré-sacral
 (14) paracervical direito (15) paracervical esquerda |_|_|_|_|_|_|_|_|

18. Complicações: (0) Não (1) Reação Alérgica ao Corante (2) outras_____|_|

19. Comprometimento do Linfonodo sentinela na congelação: (1) não (2) sim_|_|

20. Comprometimento do Linfonodo sentinela na parafina: (1) não (2) sim_|_|

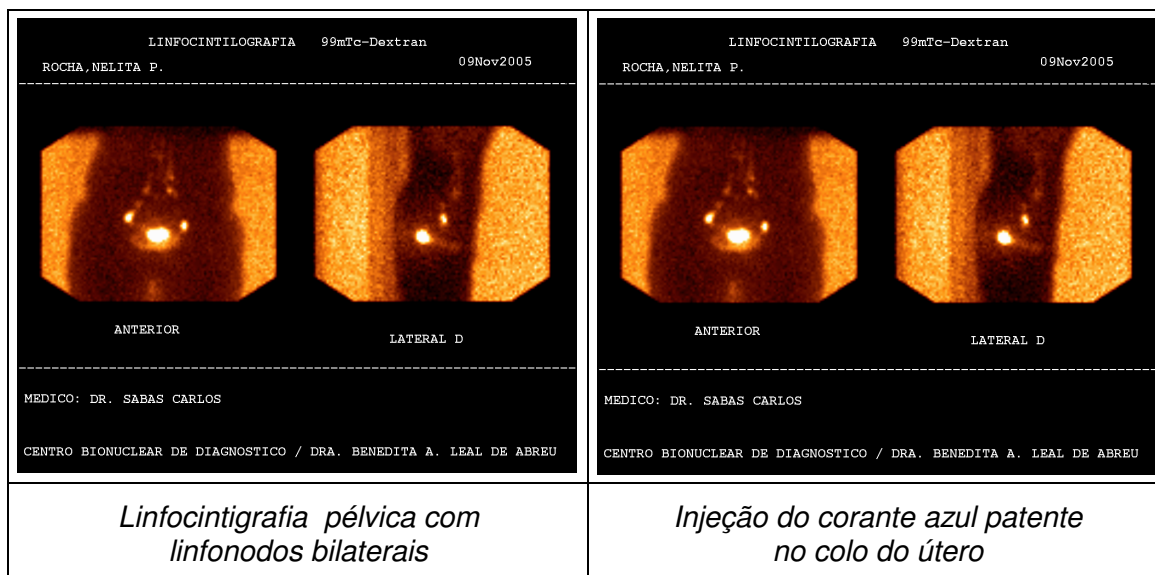
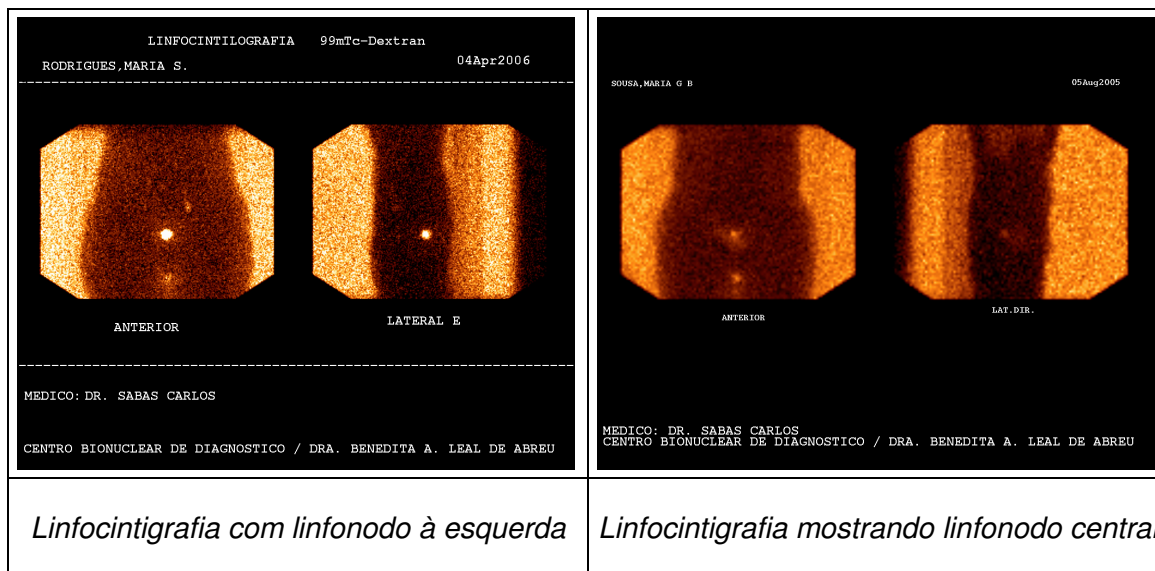
21. Número de linfonodos dissecados além do Linfonodo sentinela: _____

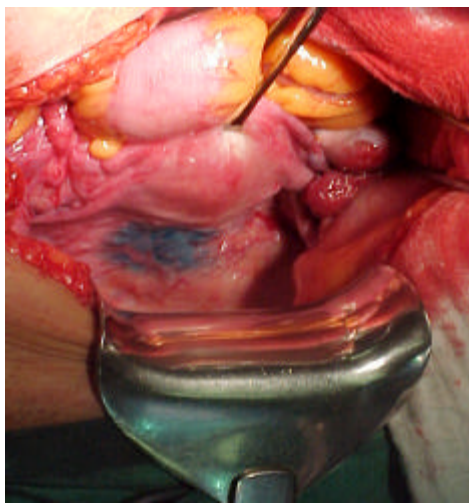
22. Número de Linfonodos comprometidos além do Linfonodo sentinela: _____

23. Maior diâmetro do tumor (cm)_____

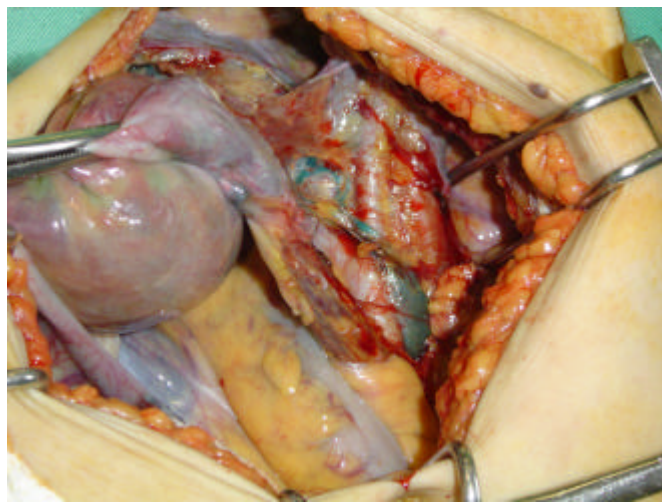
24. Queda da oximetria: inicial_____mínima _____duração queda _____

7.3. Anexo 3 – Linfocintigrafias pélvicas pré-operatórias e fotos do procedimento





Coloração azulada região cervical e parametrial, dificultando a indentificação de linfonodo parametrial



Linfonodo pélvico corado pelo azul patente

7.4. Anexo 4 – Tabela demonstrando percentagem de identificação do linfonodo sentinela no câncer de colo do útero por estágio

Estádio	Número de Casos	Número de casos com SNL identificados	% Identificação de SNL
Ia2	3	3	100%
Ib1	31	29	93,9%
Ib2	17	15	88,2 %
Ila	5	0	0%

7.5. Anexo 5 – Tabela demonstrando pacientes que tiveram linfonodos sentinela identificados durante a cirurgia

Paciente	Dados				
	Idade	Estádio	Tamanho do tumor (cm)	Grau de diferenciação**	LNS
1	50	Ib1	1,3	3	U
2	56	Ib1	2,7	1	B
3	48	Ib2	2,3	3	U
4	42	Ib1	1,5	1	U
5	33	Ib2	4,5	3	U
6	33	Ib1	3,2	1	B
7	49	Ib2	4,5	2	U
8	41	Ib1	3,6	3	B
9	36	Ib1	4	3	U
10	42	Ib1	4	3	B
11	40	Ib2	*	2	B
12	34	Ib2	4,5	2	U
13	48	Ib1	1	3	U
14	43	Ib1	3	1	B
15	38	Ia2	0,3	2	U
16	68	Ib1	1,2	1	B
17	69	Ia2	0,7	2	U
18	38	Ib1	3,6	3	B
19	54	Ib2	5,5	2	B
20	36	Ib1	1,9	3	U
21	51	Ib1	*	1	U
22	44	Ib2	5,5	2	U
23	40	Ib1	1,5	1	B
24	32	Ib2	*	3	B
25	61	Ib2	5,4	2	U
26	72	Ib1	2,2	3	B
27	35	Ia2	0,5	2	B
28	48	Ib1	1,2	3	B
29	35	Ib2	4,5	3	B
30	32	Ib1	2,4	3	B
31	42	Ib1	1,5	3	B
32	39	Ib1	2,7	3	B
33	47	Ib1	0,5	3	B
34	58	Ib2	4,5	3	B
35	43	Ib1	0,7	1	B
36	57	Ib2	1	2	B
37	55	Ib1	4	3	B
38	29	Ib1	2,7	3	B
39	44	Ib1	1	1	B
40	44	Ib1	0,7	2	B
41	64	Ib2	4,1	1	B
42	41	Ib1	2,6	2	B
43	42	Ib1	3	2	B
44	52	Ib2	4,1	1	B
45	24	Ib2	4,5	1	B
46	39	Ib1	3,7	3	B
47	45	Ib1	3,7	3	U

*Pacientes em que a cirurgia foi abortada , realizado somente linfonodectomia parcial

**Legenda: 1 = Bem diferenciado; 2 = Moderadamente diferenciado; 3 = Pouco diferenciado; B = Bilateral; U = Unilateral.

7.6. Anexo 6 – Tabela demonstrando pacientes que não tiveram linfonodos sentinela identificados durante a cirurgia

Paciente	Dados			
	Idade	Estádio	Tamanho do tumor (cm)	Grau de diferenciação**
1	41	Ila	2	3
2	33	Ib2	4,4	2
3	69	Ila	4,5	3
4	65	Ib2	7	1
5	53	Ib1	4	3
6	81	Ib1	2,2	2
7	32	Ila	5	2
8	26	Ila	*	1
9	44	Ila	*	3

*Pacientes em que a histerectomia radical não foi realizada.

**Legenda: 1 = Bem diferenciado ; 2 = Moderadamente diferenciado; 3 = Pouco diferenciado

7.7. Anexo 7 – Taxa de detecção de linfonodo sentinela de acordo com o tamanho dos tumores

Tamanho do tumor	Taxa de detecção
$\leq 2\text{cm}$	96,5%
$> 2\text{cm}$	72,7%

7.8. Anexo 8 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFPI



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Comitê de Ética em Pesquisa**

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil CEP 64049-550
Telefones: (86) 215-5734 Fax (86) 215 5560
e-mail: cep.ufpi@ufpi.br

PARECER

Parecer Nº. 085/05

Pesquisador (a) Responsável: Sabas Carlos Vieira

Equipe executora: Benedito Borges da Silva

Luiz Carlos Zeferino

CAAE Nº.: 0085.0.045.000-05

Instituição onde será desenvolvido: Universidade Federal do Piauí

Instituição onde os dados serão coletados: Hospital São Marcos

Situação: APROVADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí analisou na sessão do dia 30.03.2006 o projeto de pesquisa: "Linfonodo sentinela em câncer do colo uterino".

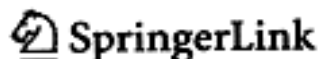
Mediante a importância social e científica que o projeto apresenta, a sua aplicabilidade e conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como **APROVADO**, pois o mesmo atende aos requisitos fundamentais da Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/MS.

Solicita-se ao pesquisador o envio, a este CEP, de relatórios parciais sempre quando houver alguma alteração no projeto, bem como o relatório final impresso e gravado em CD-ROM.

Teresina, 30 de março de 2006

Regina Ferraz Mendes
Profa. Dra. Regina Ferraz Mendes
Coordenadora do CEP-UFPI

7.9. Anexo 9 – Carta de aceitação do artigo “Changes in Pulse Oximetry After Patent Blue Dye Injection Into the Uterine Cervix” do periódico Annals of Surgical Oncology



TUESDAY, AUGUST 12

DEAR SABAS CARLOS VIEIRA,

We are very pleased to be the first to congratulate you on the electronic publication of your work Changes in Pulse Oximetry After Patent Blue Dye Injection Into the Uterine Cervix published in Annals of Surgical Oncology. If your institution has access to this publication, you may view your paper at: <http://dx.doi.org/10.1245/s10434-008-0089-6> (you may need to copy and paste the URL into your browser).

We encourage you to forward this email to your co-authors and colleagues who may be interested in your work, in this topic, or in research being done in this area. Please be aware that this e-mail has been prompted by your paper appearing on SpringerLink in an electronic Online First article or in an electronic paginated issue.

We thank you for your contribution and hope that your experience publishing with Springer was a satisfying one. We look forward to your future contributions and invite you to visit our website at <http://www.springeronline.com/authors>, where you will find valuable services.

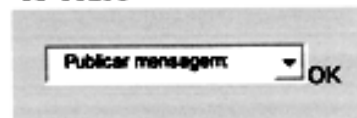
With kind regards,
Springer Author Services

Springer Heidelberg
Tiergartenstraße 17
69121 Heidelberg
Germany
Tel.: +49 6221 487 0
Fax: +49 6221 487 8366

Springer New York
233 Spring Street
New York, NY 10013
USA
212-460-1500
Tel.: 800-SPRINGER

7.10. Anexo 10 – Carta de confirmação de submissão do artigo “Preoperative Pelvic Lymphoscintigraphy is Unnecessary for Sentinel Lymph Node Detection in Cervical Cancer” para o periódico European Journal of Surgical Oncology

De: EJSO
Para: sabas.vieira@uol.com.br
Data: 23/06/2008 07:36
Assunto: A manuscript number has been assigned to EJSO-D-08-00293



Dear SABAS,

Your submission entitled "Preoperative Pelvic Lymphoscintigraphy is Unnecessary for Sentinel Lymph Node Detection in Cervical Cancer" has been assigned the following manuscript number: EJSO-D-08-00293.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author.
The URL is <http://ees.elsevier.com/ejsol/>.

Thank you very much for submitting your work to the EJSO.

Kind regards,

Abi Robinson (Ms)
Administrative Editor
EJSO - "The Journal of Cancer Surgery"

Health Sciences
Elsevier Ltd
The Boulevard
Langford Lane
Kidlington, Oxford OX5 1GB
UK
Tel: (0) 1865 843753
Fax: (0) 1865 843992
Email: EJSO@elsevier.com