CAMILA TREVISAN PEREIRA

**Avaliação cintilográfica da vascularização e drenagem
linfática das glândulas mamárias de cadelas**

SÃO PAULO

2005

CAMILA TREVISAN PEREIRA

**Avaliação cintilográfica da vascularização e drenagem
linfática das glândulas mamárias de cadelas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Mestre em Ciências

Departamento:
Cirurgia

Área de Concentração:
Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:
Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato

SÃO PAULO

2005

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1557 FMVZ	<p>Pereira, Camila Trevisan</p> <p>Avaliação cintilográfica da vascularização e drenagem linfática de glândulas mamárias de cadelas / Camila Trevisan Pereira. – São Paulo : C. T. Pereira, 2005.</p> <p>181 f. : il.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2005.</p> <p>Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.</p> <p>Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato.</p> <p>1. Cintilografia. 2. Glândula mamária de animais.</p> <p>3. Linfonodos de animais. I. Título.</p>
----------------	--

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo anátomo-cintilográfico dos linfocentros mamários de cadelas", Protocolo nº478/2004, utilizando 25 cães, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Mammary lymph centers in female dogs: a lymphoscintigraphic study", protocol number 478/2004, utilizing 25 dogs, under the responsibility of Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting.

São Paulo, 20 de julho de 2004

Profª Drª Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA FACULDADE DE MEDICINA
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DIRETORIA CLÍNICA

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 14.07.04, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **493/04**, intitulado: "Estudo anátomo-cintilográfico dos linfocentros mamários de cadelas" apresentado pelo Departamento de RADIOLOGIA.

Pesquisador(a) Responsável: Sr. Fábio Luiz Navarro Marques

Pesquisador(a) Executante: Sra. Camila Trevisan Pereira

CAPPesq, 14 de Julho de 2004.

PROF. DR. CLAUDIO LEONE
Vice-Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

OBSERVAÇÃO: Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c")

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: PEREIRA, Camila Trevisan

Título: Avaliação cintilográfica da vascularização e drenagem linfática das glândulas mamárias de cadelas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

À minha amada mãe, meu pai e meu irmão,
pelo amor, pela convivência e os ensinamentos diários

À minha tia Ziza, quem me ensinou
a beleza da relação entre os homens e os animais

Aos animais

AGRADECIMENTOS

Embora o tempo e a convivência já digam por si, gostaria de agradecer em palavras ao Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato, pela oportunidade de convivência e aprendizado e por ele ter viabilizado a realização deste projeto. Agradeço pela sua forma humana de trabalho, que cria um ambiente propício para aprendermos mais do que ciência.

Ao Prof. Dr. Benedicto Wladimir de Martin, um dos pioneiros da medicina nuclear veterinária, agradeço pela receptividade desde os primórdios desta idéia, pelas longas conversas e sugestões, enfim, pelo exemplo de vida. O Professor Benedicto é uma daquelas raras pessoas que têm em si tamanha alegria de viver e iniciativa para tornar os sonhos realidade.

Ao carinho e incentivo da minha amada mãe.

Aos animais, pela prazerosa companhia.

Aos amigos e colegas de pós-graduação, pela convivência e ensinamentos.

Para Ana Paula Rodrigues, Cristiane Takamine, Hildebrando Gomes Benedicto, Juliana Guimarães, Káterin Elena B. Grondona e Tais Harumi de C. Sasahara, registro aqui o meu “muito obrigada!”, pelas conversas e pelo apoio de sempre.

Ao Guilherme, por ter acordado tão cedo, vindo de tão longe e estar disposto a me ajudar na parte experimental do projeto.

Pela disposição de sempre, paciência, orientações e ensinamentos, eu agradeço ao Fábio Luiz de Navarro Marques, chefe da Radiofarmácia do Centro de

Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FM/USP).

À Miriam Okamoto, farmacêutica da Radiofarmácia do Centro de Medicina Nuclear HC-FM/USP, eu agradeço igualmente pela paciência, ajuda e disposição para ensinar.

À Vani, bioquímica chefe da Clínica do Centro de Medicina Nuclear do HC-FM/USP, pela convivência durante o estágio junto a este Centro durante o mês de Julho de 2003.

Ao Leandro, bioquímico do Centro de Medicina Nuclear do HC-FM/USP, pelos primeiros ensinamentos práticos sobre Medicina Nuclear.

Ao Dr. Marcelo Tatit Sapienza pelas discussões iniciais e finais que nos ajudaram a definir e redefinir a metodologia aplicada a este estudo.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Buchpiguel, pela oportunidade de estágio junto ao Centro de Medicina Nuclear e por ter viabilizado a realização dos estudos cintilográficos veterinários no centro experimental.

À Jackie, ao Maicon, ao Índio, à Graça e ao Diogo, funcionários do Departamento de Cirurgia e que trabalham no Setor de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ-USP: Obrigada pelo convívio sempre agradável e pelas ajudas estratégicas.

Ao Prof. Dr. Antonio Augusto Coppi Maciel Ribeiro, professor titular da FMVZ-USP, pela valiosa orientação durante o meu trabalho de iniciação científica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela “bolsa de auxílio à pesquisa” concedida durante a realização deste projeto.

À Professora Maria Angélica Miglino pela oportunidade de vínculo junto ao programa de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ-USP.

"A ciência sempre será uma busca
È uma viagem, nunca uma chegada".

Karl Popper

“Fazer ou não fazer algo só depende
de nossa vontade e perseverança”

Albert Einstein

RESUMO

PEREIRA, C. T. **Avaliação cintilográfica da vascularização e drenagem linfática das glândulas mamárias de cadelas.** [Scintigraphic evaluation of mammary glands lymphatic drainage and lymphatic vascularization in female dogs]. 2005. 181 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

A identificação e biópsia do primeiro linfonodo a receber a linfa de uma formação neoplásica, ou seja, do linfonodo sentinela, fornecem informações essenciais para o tratamento e prognóstico de pacientes humanos acometidos por neoplasia. Entretanto, em Medicina Veterinária existem poucos estudos sobre a drenagem linfática dos órgãos e o conceito de linfonodo sentinela ainda não é amplamente aplicado ao tratamento oncológico dos animais. Desta forma, nosso objetivo no presente estudo foi estabelecer um protocolo de aquisição cintilográfica linfática, ou linfocintilográfica, capaz de fornecer informações funcionais e topológicas da drenagem linfática mamária, pois, em cadelas, as glândulas mamárias ainda são uns dos principais órgãos acometidos por neoplasias. Neste estudo, a linfocintilografia foi utilizada para caracterização topológica e funcional *in vivo* da drenagem linfática de glândulas mamárias sadias de 30 fêmeas da espécie canina (*Canis familiares*), sem raça definida e peso aproximado de 10 Kg. O radiofármaco [^{99m}Tc]-dextran70 foi administrado por via intraparenquimatosa mamária em quatro pontos ao redor da papila (0,1 ml cada), na dose de 18,5 MBq. As imagens foram obtidas em duas seqüências de projeções laterais e ventrais, sendo uma logo após a administração do [^{99m}Tc]-dextran70 e a outra após uma hora. O radiofármaco administrado nas glândulas mamárias torácicas craniais foi drenado pelos linfocentros torácico ventral

e axilar, sendo que em duas destas 5 glândulas (40%) o radiofármaco também foi para o linfocentro cervical superficial. Este resultado foi semelhante para as glândulas torácicas caudais, entretanto, em nenhuma das linfocintilografias destas glândulas o linfocentro cervical superficial foi identificado. A drenagem das glândulas abdominais craniais foi realizada exclusivamente pelo linfocentro axilar. Os linfocentros inguinais superficial e profundo drenaram as glândulas abdominais caudais e inguinais, porém, uma das glândulas abdominais caudais foi drenada também pelo linfocentro cervical superficial e outra pelo linfocentro mediastínico. A técnica linfocintilográfica utilizada possibilitou a identificação de comunicações linfáticas entre os linfonodos axilares próprio e acessório, entre o axilar próprio e o cervical superficial e entre os linfonodos inguinais superficial e profundo. O número de linfocentros e linfonodos, a taxa de drenagem dos linfocentros e seu funcionamento variaram entre as glândulas mamárias e entre os animais. Em conclusão, o protocolo de aquisição linfocintilográfica adotado foi simples, rápido e eficaz para a caracterização da drenagem linfática mamária. As informações topológicas e funcionais obtidas neste estudo poderão ser aplicadas nos procedimentos investigativos como a ultra-sonografia e a biópsia dos linfonodos mamários em pacientes acometidos por neoplasias mamárias, uma vez que os vasos linfáticos representam vias de disseminação para células neoplásicas.

Palavras Chave: Cintilografia. Glândula mamária de animais. Linfonodos de animais.

ABSTRACT

PEREIRA, C. T. **Scintigraphic evaluation of mammary glands lymphatic drainage and vascularization in female dogs.** [Avaliação cintilográfica da vascularização e drenagem linfática das glândulas mamárias de cadelas]. 2005. 181 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

The knowledge of lymphatic drainage has prognostic and surgical value for oncological treatment. Once you know the lymph nodes that drain the organ, you can predict the possible neoplastic cell route and avoid or predict metastasis. The lymphoscintigraphy is not common in Veterinary Nuclear Centers, however this technique has high applicability in oncological studies. During this study, the lymphoscintigraphie was used to characterize topological and functional aspects of lymphatic health mammary drainage in 30 adult mongrel female dogs, 10Kg in weigh. Lymphoscintigraphies were performed immediately after 4 intramammary peripapilare injections (0, 1 ml each) of 18,5 MBq of [^{99m}Tc]-dextran70 and one hour later. Animals were imaged by lateral and ventral projections. Cranial thoracic glands were drained by ventral thoracic and axillary lymph centers, but we observed the simultaneous participation of superficial cervical lymph center in 40% of these (2 animals). This result was similar for caudal thoracic mammary glands, but not for cervical lymph center drainage, that was not observed in caudal thoracic glands lymphoscintigraphies. Cranial abdominal glands were drained exclusively by the axillary lymph center. Superficial and deep inguinal lymph centers drained caudal abdominal and inguinal mammary glands, but we observed one superficial cervical lymph center participation in a caudal abdominal mammary gland drainage. Our

lymphoscintigraphic technique provided image of lymphatic communication between axillary lymph nodes and between superficial and deep inguinal lymph nodes. The number of lymph centers and lymph nodes, the lymph center drainage rate and functional behavior of each lymph nodes were variable. In conclusion, the lymphoscintigraphic protocol performed was simple, quickly and provided the lymphatic drainage characterization. Technique, topologic and functional information provided by the present study can be applied to understand neoplastic mammary cells dissemination routes, which has prognostic and treatment value for patients. Veterinary centers that have no Nuclear Medicine facilities can use these topologic and functional information of the present study in other diagnostic procedures such as the abdominal ultra-sound and lymph node biopsy of patients with mammary neoplasia.

Key words: Scintigraphy. Mammary lymph nodes. Nuclear Medicine. Female dogs

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Esquema para identificação das glândulas mamárias nas cadelas estudadas, de acordo com a abreviatura utilizada neste estudo73
- Figura 2 - Câmara de cintilação planar modelo LEM, marca Siemens® (Siemens Ltda.) (A), com colimador paralelo de baixa energia (B) e computador equipado (PIP – Portable Imaging Processing for Processing Images in Medicine v. 5.2, Leapfrog Technology Ltd., 1995) (C)75
- Figura 3 - Colimador paralelo de baixa energia, acoplado ao detector da Câmara de cintilação planar modelo LEM, marca Siemens® (Siemens Ltda.)...75
- Figura 4 - Utilização de avental de chumbo (seta) para proteção radiológica.....77
- Figura 5 - Cadela em decúbito dorsal, sob câmara de cintilação, acomodada em suporte de espuma em formato de calha (seta menor), para obtenção de imagem linfocintilográfica em projeção ventral. Observa-se que o colimador foi posicionado o mais próximo possível do corpo do animal (seta maior).....79
- Figura 6 - Cão em decúbito lateral direito sob câmera de cintilação planar. Observa-se posicionamento da seringa com volume residual de radiofármaco para identificação topográfica do linfonodo81
- Figura 7 - Linfocintilografia da glândula mamária torácica caudal (T2) em projeção ventral, uma hora após a administração intraparenquimatosa de [^{99m}Tc]-dextran-70 e imediatamente após a aplicação endovenosa de [^{99m}Tc]O₄⁻ (pertecnetato). Observamos a imagem do linfonodo axilar próprio (Axp) e cervical superficial (Cs)82
- Figura 8 - Cintilografia óssea e linfocintilografia da glândula mamária torácica cranial (T1) em projeção ventral. Observa-se a sintopia do linfonodos axilares próprio (Axp) e acessório (Axa) e linfonodo esternal (Es).....83
- Figura 9 - Imagem linfocintilográfica em projeção ventral representando a delimitação da região de interesse (“ROI”) para quantificação do

	número de contagens da imagem da glândula torácica cranial (T1), do linfonodo axilar próprio (Axp) e do volume residual da seringa	85
Figura 10 -	Escalas de coloração utilizadas para o processamento das imagens linfocintilográficas do grupo piloto. “ICE” (A), “FIRE” (B) E “SPECTRUM” (C).....	84
Figura 11 -	Linfocintilografia da glândula mamária T1 em projeção ventral. Escala de coloração ICE	54
Figura 12 -	Animal em decúbito dorsal para realização de imagem linfocintilográfica em projeção ventral (ilustração A). Observa-se posicionamento da seringa com volume residual do radiofármaco sob a câmara de cintilação planar. Na ilustração B, observamos a imagem cintilográfica formada pela emissão radioativa do volume residual da seringa, a imagem da região da glândula mamária onde foi injetado o radiofármaco (T2) e a imagem do linfonodo axilar próprio (Ax, circulado)	86
Figura 13 -	Suporte de ferro (A) utilizado para fixação da seringa sob a câmara de cintilação. Seringa fixada pelo dispositivo do suporte de ferro (B)	86
Figura 14 -	Linfocintilografia mamária da glândula abdominal caudal (A2) em projeção lateral. Observamos marcação da glândula mamária abdominal cranial (A1), do fígado (setas) e do linfonodo axilar próprio (Axp).....	89
Figura 15 -	Linfocintilografias mamárias em projeção ventral. Na imagem “A” observamos que houve espalhamento do radiofármaco, uma consequência da massagem realizada após a administração do radiofármaco. A imagem “B” demonstra que não houve espalhamento do radiofármaco, uma vez que não foi realizada massagem local.....	45
Figura 16 -	Linfocintilografia da glândula mamária abdominal caudal (A2), em projeção ventral. A seta indica anastomoses entre os vasos linfáticos aferentes. Observamos imagem do linfonoo inguinal superficial (Is).....	94
Figura 17 -	Linfocintilografias da glândula mamária torácica cranial (T1). Em projeção lateral (A) observamos a sobreposição da radiação do	

linfonodo axilar próprio (Axp) ao linfonodo esternal cranial (Ecr - delimitado por um círculo). Em projeção ventral (B), a imagem do linfonodo esternal cranial ficou evidente, livre de sobreposições..... 95

Figura 18 - Linfocintilografias da glândula mamária abdominal caudal (A2). Em projeção lateral (A) observamos a imagem do linfonodo inguinal profundo (IP). Em projeção ventral (B) foram identificados apenas a glândula abdominal caudal (A2) e o linfocentro inguinal superficial (delimitado pelo quadrado), devido a sobreposição de radiação da glândula mamária A2 ao linfonodo inguinal profundo 96

Figura 19 - Imagem linfocintilográfica da glândula mamária inguinal (I) em projeção ventral uma hora após a administração do radiofármaco [^{99m}Tc]-dextran-70. A radiação da glândula mamária inguinal (I) sobrepõe-se ao linfonodo inguinal 96

Figura 20 - Imagem linfocintilográfica da glândula mamária torácica caudal, 2 horas após a administração endovenosa de [^{99m}Tc]-metilenodifosfonado para cintilografia óssea. Identificamos a imagem do linfocentro torácico ventral, representado pelo linfonodo esternal cranial (Ecr), devido a sua sintopia com o osso esterno em projeções ventral (à esquerda) e lateral (à direita) 97

Figura 21 - Linfocintilografia mamária em projeção lateral (A) e ventral (B). Observamos que a sobreposição de vasos poderia ser confundida com imagem de linfonodo, porém, em projeção ventral (B) esta sobreposição não ocorre e a imagem de apenas um linfonodo é identificada..... 25

Figura 22 - Linfocintilografia da glândula mamária torácica cranial (T1), em projeção ventral. Observamos a imagem linfocintilográfica dos linfonodos axilar próprio (Axp), axilar acessório (Axa) e esternais cranial (Ecr) e caudal (ECd) 102

Figura 23 - Cintilografia óssea e linfocintilografia mamária da glândula mamária torácica cranial (T1), em projeção lateral. Cranialmente à articulação escapulo-umeral identificamos o linfonodo cervical superficial (Cs) e caudalmente o linfonodo axilar próprio (Axp)..... 103

Figura 24 -	Linfocintilografia da glândula mamária abdominal cranial (A1) em projeção ventral. Observamos a participação simultânea de 2 linfonodos axilares próprio (Axp) e acessório (Axa)	104
Figura 25 -	Linfocintilografia mamária da glândula mamária abdominal cranial, em projeção ventral. Opção de processamento "Spectrum". Observamos imagem do linfonodo intra-abdominal (Ia)	105
Figura 26 -	Linfocintilografia da glândula mamária abdominal caudal (A2). Observamos 3 linfonodos inguinais superficiais (setas)	106
Figura 27 -	Linfocintilografia da glândula mamária abdominal caudal em projeção lateral. Observamos 3 linfonodos inguinais profundos (Ip) participando da vascularização linfática	107
Figura 28 -	Linfocintilografia da glândula mamária inguinal (I) em projeção ventral. Observamos sobreposição da glândula mamária inguinal ao linfocentro inguinal superficial (Is)	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Marcação hepática uma hora após a administração peripapilar intra-parenquimatosa de [^{99m} Tc]-dextran-70, realizada para linfocintilografia em cadelas. São Paulo, 2005	90
Tabela 2 -	Número de vasos linfáticos aferentes e eferentes identificados na linfocintilografia mamária de fêmeas da espécie canina. São Paulo, 2005	91
Tabela 3 -	Linfonodos que apresentaram comunicação linfática. Identificação realizada durante a linfocintilografia mamária de cadelas. São Paulo, 2005	93
Tabela 4 -	Número de linfonodos participantes nos respectivos linfocentros identificados na linfocintilografia das glândulas mamárias de cadelas. São Paulo, 2005	99
Tabela 5 -	Linfocentros e linfonodos identificados nas linfocintilografias das glândulas mamárias de cadelas. São Paulo, 2005	100
Tabela 6 -	Valor mediano do número de linfocentros e linfonodos identificados nas linfocintilografias das glândulas mamárias de cadelas. São Paulo, 2005	101
Tabela 7 -	Participação relativa de linfocentros intra-cavitários (intra abdominais ou intra-torácicos) em cada uma das glândulas mamárias estudadas. São Paulo, 2005	101
Tabela 8 -	Comportamento da cinética funcional dos linfonodos mamários avaliados pelo processamento da imagem linfocintilográficas mamárias de cadelas. São Paulo, 2005	110
Tabela 9 -	Taxa percentual da máxima captação de radiofármaco pelos linfocentros durante a linfocintilografia das glândulas mamárias em cadelas. São Paulo, 2005	111

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar próprio entre a primeira e a última imagem infocintilográfica da glândula mamária torácica cranial 112
- Gráfico 2 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar acessório entre a primeira e a última imagem infocintilográfica da glândula mamária torácica cranial 112
- Gráfico 3 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo esternal cranial entre a primeira e a última imagem infocintilográfica da glândula mamária torácica cranial 113
- Gráfico 4 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo cervical superficial entre a primeira e a última imagem infocintilográfica da glândula mamária torácica cranial 113
- Gráfico 5 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar próprio entre a primeira e a última imagem infocintilográfica da glândula mamária torácica caudal 114
- Gráfico 6 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar acessório entre a primeira e a última imagem infocintilográfica da glândula mamária torácica caudal 114
- Gráfico 7 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo esternal cranial entre a primeira e a última imagem infocintilográfica da glândula mamária torácica caudal 115
- Gráfico 8 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar próprio entre a primeira e a última imagem infocintilográfica da glândula mamária abdominal cranial 115

Gráfico 9 -	Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar acessório entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária abdominal cranial	116
Gráfico 10 -	Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo inguinal superficial entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária abdominal caudal	116
Gráfico 11 -	Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo inguinal profundo entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária abdominal caudal	117
Gráfico 12 -	Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo mediastínico cranial entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária abdominal caudal	117
Gráfico 13 -	Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo inguinal superficial entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária inguinal	118
Gráfico 14 -	Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo inguinal profundo entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária inguinal	118

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μCi	-	microcurie
A1	-	glândula mamária abdominal cranial
A2	-	glândula mamária abdominal caudal
Axa	-	linfonodo axilar acessório
Axp	-	linfonodo axilar próprio
Cs	-	linfonodo Cervical Superficial
ECd	-	linfonodo Estral Caudal
ECr	-	linfonodo Estral Caudal
Es	-	linfocentro estral
I	-	glândula mamária inguinal
Ig	-	linfonodo Inguinal
IL	-	linfonodo ilíaco medial
IP	-	linfocentro inguinal profundo
Ip	-	linfonodo inguinal profundo
Is	-	linfonodo inguinal superficial
Isa	-	linfocentro ILio Sacral
KeV	-	kiloeletrovolt
Kg	-	quilograma
MBq	-	mega Bequerel
mCi	-	milicurie
Mcr	-	linfonodo mediastínico cranial
min	-	minutos

T1	-	glândula mamária torácica cranial
T2	-	glândula mamária torácica caudal
ROI	-	região de Interesse ("region of interest")
W	-	wats

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	33
2	REVISÃO DA LITERATURA	37
2.1	IMPORTÂNCIA DOS ESTUDOS DA VASCULARIZAÇÃO E DRENAGEM LINFÁTICA.....	37
2.2	MEDICINA NUCLEAR VETERINÁRIA	40
2.2.1	Considerações técnicas sobre a cintilografia	42
2.3	ESTUDOS DA VASCULARIZAÇÃO E DRENAGEM LINFÁTICA MAMÁRIA	44
2.3.1	A linfocintilografia em animais	52
2.3.2	A linfocintilografia em pacientes humanos	57
3	MATERIAL E MÉTODO	74
3.1	ANIMAIS	74
3.1.1	Seleção dos animais	75
3.1.2	Identificação dos animais	75
3.1.3	Grupos	76
3.2	CONTENÇÃO QUÍMICA.....	77
3.2.1	Grupo Piloto	77
3.2.2	Grupos 1 a 5	78
3.3	CÂMARA DE CINTILAÇÃO	78
3.4	RADIOFÁRMACOS	80
3.4.1	Marcação dos radiofármacos	80

3.4.2	Avaliação da eficiência de marcação	81
3.5	PROTEÇÃO RADIOLÓGICA	81
3.6	TÉCNICA LINFOCINTILOGRÁFICA.....	82
3.6.1	Administração do radiofármaco	83
3.6.1.1	Grupo Piloto	83
3.6.1.2	Grupos 1 a 5	84
3.6.2	Posicionamento dos animais	84
3.6.3	Aquisição das imagens	85
3.6.3.1	Grupo Piloto	86
3.6.3.2	Grupos 1 a 5	86
3.6.4	Identificação linfonodos	87
3.7	PROCESSAMENTO DA IMAGEM.....	90
3.7.1	Grupo piloto	91
3.7.2	Grupo 1 a 5	92
3.7.3	Avaliação funcional dos linfonodos	85
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	95
4	RESULTADOS	98
4.1	IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS	98
4.2	CONTENÇÃO QUÍMICA	98
4.3	EFICIÊNCIA DE MARCAÇÃO DO [^{99m} Tc]-DEXTRAN-70.....	99
4.4	CAPTAÇÃO DO [^{99m} Tc]-DEXTRAN-70.....	99

4.4.1	Grupo piloto	99
4.4.2	Grupos 1 a 5	99
4.5	TÉCNICA DE ADMINISTRAÇÃO DO RADIOFÁRMACO	102
4.5.1	Grupo piloto	102
4.5.2	Grupos 1 a 5	103
4.6	IDENTIFICAÇÃO DOS VASOS LINFÁTICOS	103
4.6.1	Identificação de comunicações e anastomoses linfáticas	105
4.7	IDENTIFICAÇÃO DOS LINFONODOS	107
4.7.1	Diferenciação entre artefato de técnica e imagens correspondentes a linfonodos	110
4.8	PARTICIPAÇÃO DOS LINFOCENTROS E LINFONODOS NA DRENAGEM LINFÁTICA DAS GLÂNDULAS MAMÁRIAS	112
4.8.1	Glândula Mamária Torácica Cranial	115
4.8.2	Glândula Mamária Torácica Caudal	117
4.8.3	Glândula Mamária Abdominal Cranial	118
4.8.4	Glândula Mamária Abdominal Caudal	120
4.8.5	Glândula Mamária Inguinal	122
4.9	AVALIAÇÃO FUNCIONAL DA DRENAGEM LINFÁTICA MAMÁRIA .	123
4.9.1	Grupo piloto	123
4.9.2	Grupos 1 a 5	124

4.9.2.1	Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela drenagem da glândula mamária torácica cranial.....	128
4.9.2.2	Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela drenagem da glândula mamária torácica caudal.....	130
4.9.2.3	Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela drenagem da glândula mamária abdominal cranial.....	131
4.9.2.4	Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela drenagem da glândula mamária abdominal caudal.....	132
4.9.2.5	Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela drenagem da glândula mamária inguinal	134
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	135
5	DISCUSSÃO.....	138
6	CONCLUSÕES.....	166
	REFERÊNCIAS	170
	APÊNDICES	179

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros estudos dos vasos linfáticos foram motivados pela curiosidade de se descobrir mais sobre o que se denominava “artérias de leite”, cuja primeira descrição foi feita pelo anatomista grego Herófilo (300 a.C.), (CORDEIRO; BARACAT, 1983).

Em 1627, em Milão, Gaspar Aselius publicou a primeira descrição vascular do sistema linfático, intitulada “De lactibus sive lacteis venis, quarto mesaraicorumvasorum genere dissertatio” (CORDEIRO; BARACAT, 1983).

Naquela época, as observações eram realizadas por vividissecção em cães, até que foram desenvolvidas técnicas de coloração linfática para o estudo anatômico *post mortem*, das quais se destacam o uso do mercúrio, do azul da Prússia, do cinábrio, do brometo de bismuto, do azul de Evans, do bióxido de Tório (CORDEIRO; BARACAT, 1983), da “tinta da China” (RUBERT et al., 1990) e da solução alcoólica de nanquim (PEREIRA et al., 2003).

Com o advento das técnicas de diagnóstico por imagem, a partir do século XX, surgiu a possibilidade de avaliação da drenagem linfática em pacientes, o que representou um avanço para o diagnóstico e tratamento de neoplasias e outras afecções que acometem o sistema linfático.

As técnicas contrastadas de radiografia (POTENA; SALVATORE; LORIZIO, 1976), tomografia computadorizada (SUGA et al., 2003), ressonância magnética (TUROGLU et al., 1992) e a ultra-sonografia (CARVALHO, 2004) forneceram informações linfáticas anátomo-topográficas, entretanto, apresentaram

particularidades técnicas que restringem a sua aplicação (CARVALHO, 2004; POTENA; SALVATORE; LORIZIO, 1976; TUROGLU et al., 1992).

Em contrapartida, a cintilografia da drenagem linfática, ou linfocintilografia, uma técnica de diagnóstico por imagem da medicina nuclear, apresenta inúmeras vantagens operacionais, além de fornecer informações linfáticas funcionais (POTENA, SALVATORE; LORIZIO, 1976; SMITH, 2002).

O mapeamento linfático trans-cirúrgico, obtido pela técnica de administração do azul de metileno, também pode ser realizado para a avaliação *in vivo* da drenagem linfática de pacientes, entretanto, esta técnica exige acesso cirúrgico e não é eficaz na identificação de linfonodos profundos (GIULIANO et al., 1995).

Desta forma, a linfocintilografia tornou-se a técnica de escolha para a identificação do linfonodo sentinela em mulheres acometidas por neoplasias mamárias (MARIANI et al., 2001).

O linfonodo sentinela é o primeiro linfonodo a receber a linfa de uma formação neoplásica (GOULD, 1960), portanto, sabendo-se que os vasos linfáticos representam a principal via de disseminação dos carcinomas (MAJNO; JORIS, 1996), em medicina humana, o resultado da biópsia deste linfonodo é considerado o principal fator para definição do tratamento e do prognóstico das mulheres acometidas por neoplasias mamárias (MARIANI et al., 2001).

Da mesma forma que ocorre em pacientes humanos, em muitos países, a glândula mamária é frequentemente acometida por neoplasias em cães (ARNESEN et al., 2000; DONNAY; RAUIS; VERSTEGEN, 1994; PIRES; TRAVASSOS; PIRES, 2003), portanto, a linfocintilografia apresenta uma aplicação clínica potencial para a medicina veterinária (SMITH, 2002).

O presente estudo teve como objetivo criar o protocolo de aquisição linfocintilográfica para caracterização da drenagem linfática das glândulas mamárias de cadelas.

As informações técnicas obtidas neste estudo poderão ser aplicadas nos centros de medicina nuclear veterinários.

Nos centros veterinários que não dispõem das facilidades de medicina nuclear, os resultados deste estudo topológico e funcional da drenagem linfática mamária poderão ser aplicados aos procedimentos investigativos e de tratamento como a ultra-sonografia e o tratamento cirúrgico, respectivamente.

Revisão da Literatura

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA DOS ESTUDOS DA VASCULARIZAÇÃO E DRENAGEM LINFÁTICA

Em 1895, Halsted definiu neoplasia mamária como uma lesão capaz de envolver apenas o tumor primário e a região axilar, porém, durante o estudo sobre o tratamento de neoplasias mamárias em cadelas, Stalker, Fellow e Scholothauer (1936) observaram que as neoplasias mamárias poderiam envolver outras regiões além da axilar e que havia relação entre as metástases e a drenagem linfática.

Desta forma, estes autores propuseram como tratamento cirúrgico a ablação da glândula mamária neoplásica e dos músculos superficiais e profundos, além dos linfonodos responsáveis pela drenagem da lesão neoplásica.

Esta relação entre a drenagem linfática e as metástases também foi observada por Gould et al. (1960), que definiu pela primeira vez o conceito de linfonodo sentinela, o primeiro linfonodo a receber diretamente os vasos linfáticos da lesão neoplásica e que, geralmente, é o primeiro foco de metástase (GOULD et al., 1960).

A relação entre as metástases, o tamanho e o tipo da lesão neoplásica mamária foi estudada por Else e Hannant (1979) no estudo epidemiológico das neoplasias mamárias em cadelas.

Neste estudo, a ocorrência de metástases apresentou correlação apenas com o tipo histopatológico da lesão, portanto, o tamanho da lesão não influenciou a ocorrência de metástases.

A avaliação histopatológica mamária e dos tecidos acometidos por metástases foi realizada por Wilson e Hayes (1980). As metástases de diferentes neoplasias mamárias envolveram os linfonodos cervicais, poplíteos, esternais e ilíacos mediais, assim como também o tecido subcutâneo dorsal torácico, tecido vulvar, perineal e vascular intercostal.

De acordo com estes resultados, Wilson e Hayes (1980) concluíram que a drenagem linfática das glândulas mamárias neoplásicas de cadelas pode ser consideravelmente mais ampla, podendo abranger outros linfonodos além dos axilares e inguinais.

Em estudo semelhante, porém em mulheres, Bourgeois e Frühling (1999) estudaram a drenagem linfática de glândulas mamárias neoplásicas e identificaram metástases em linfonodos mamários contra-laterais e homo-laterais simultaneamente em 1/3 das 153 pacientes.

Estas metástases contralaterais devem-se a ação de fatores linfoangiogênicos secretados pela célula tumoral que aumentam a rede vascular linfática e suas anastomoses, agindo a favor da disseminação neoplásica (GRAHAM; MYERERS, 1999; OLOFSSON; JELTSCH; ERIKSSON, 1999; SKOBE et al., 2001; VEIKKOLA; KARKKAINEN; CLAEISSON-WELSH, 2000).

Os fatores linfoangiogênicos são responsáveis pela variação do padrão de drenagem linfática independentemente da presença de neoplasia, portanto, muitos estudos têm sido realizados para investigar a relação entre a linfoangiogênese e as metástases, principalmente para verificar se a inibição destes fatores poderia ter efeito terapêutico contra a disseminação de células neoplásicas (SCHOPPMANN; HORVAT; BIRNER, 2002).

Embora a linfocintilografia não seja um exame utilizado com frequência nos Hospitais Veterinários, esta técnica é bastante fácil de ser realizada e representa alto potencial para o estudo oncológico (SMITH, 2002).

Segundo Daniels et al. (2003), a linfocintilografia pode ser utilizada para caracterização funcional e anatômica da vascularização linfática sob ação de fatores linfoangiogênicos.

No relato de caso de Benamor et al. (2003), os autores observaram metástases em linfonodos mamários internos, embora a biópsia do linfonodo sentinela axilar tenha sido negativa para células neoplásicas.

A identificação dos linfonodos mamários internos foi possível pela linfocintilografia, uma hora após a administração intra-tumoral de 60 MBq (1.62 mCi) de [^{99m}Tc]- rhenium enxofre coloidal. A captação de cada imagem durou 10 minutos.

Além dos linfonodos axilares, os autores observaram a participação de 2 linfonodos internos mamários e 1 intramuscular, na região do segundo espaço intercostal.

Utilizando software específico, os autores quantificaram a captação de radiofármaco em cada um dos linfonodos identificados na imagem linfocintilográfica. A taxa de captação nos linfonodos internos mamários foi maior que nos linfonodos axilares (BENAMOR et al., 2003).

Devido às variações individuais no padrão de drenagem linfática, em Medicina Humana, o mapeamento linfático tem se tornado freqüente para o estadiamento axilar de pacientes com neoplasia mamária e a linfocintilografia tem permitido a identificação de linfonodos sentinelas não axilares (NIEWEG; BARTELINK, 2004).

Os linfonodos sentinelas extra-axilares são encontrados em até 34% destes pacientes, portanto, os cirurgiões, radioterapeutas e médicos oncologistas devem

considerar as implicações da presença ou não de metástases nestes linfonodos, incorporando-os ao protocolo de estadiamento e tratamento do paciente com neoplasia mamária (NIEWEG; BARTELINK, 2004).

2.2 MEDICINA NUCLEAR VETERINÁRIA

Segundo De Martin (1970), o marco inicial da pesquisa biológica com radiofármacos foram os estudos de George Hevesy.

Após a Segunda Guerra Mundial, a Medicina Nuclear, especialidade que se utiliza de radioisótopos, apresentou progressos surpreendentes principalmente no que se refere à imagem nuclear, ou cintilografia (QUINN, 1964).

Este desenvolvimento técnico foi possível devido a grande disponibilidade e variedade de radioisótopos originalmente descobertos em projetos de pesquisa, principalmente norte-americanos e alemães, que objetivavam a construção da primeira bomba nuclear (QUINN, 1964).

O uso da cintilografia em animais teve início em estudos experimentais, como o realizado por Harold¹ (1958) *apud* Potena, Salvatore e Lorzio (1976), para caracterização da drenagem linfática em cadelas.

No Brasil, a utilização de procedimentos de medicina nuclear começou com a realização da tese de doutoramento do Professor Benedicto Wladimir De Martin, em 1970, sendo que, na mesma década, começaram a serem desenvolvidos trabalhos

¹ HAROLD, H. Lymphatic scintigrams a method for studying the functional pattern of lymphatics and lymph nodes. **Cancer**. v. 2, p.200-203. 1958.

de aplicação clínica em pequenos animais em outros países.

A primeira aplicação clínica da cintilografia em pequenos animais tinha como objetivo a detecção precoce de metástases. Neste estudo, Gelbard et al. (1977) observaram que imagem nuclear foi mais sensível que a radiografia para a detecção metástases tumorais em cães com adenocarcinoma mamário e linfoma.

Na clínica de eqüinos, Ueltschi (1977) foi um dos primeiros médicos veterinários a aplicar a cintilografia para detecção precoce de lesões ósseas.

Durante vinte anos, a utilização da cintilografia em animais esteve restrita às escolas, porém, a partir da década de 90, o exame passou a estar disponível em diversas clínicas veterinárias dos Estados Unidos (KOTZ, 1995).

A ampliação do uso da técnica cintilográfica deve-se ao reconhecimento do seu potencial para a avaliação da fisiologia e fisiopatologia do tecido, órgão ou sistema de interesse clínico do médico veterinário (BALOGH et al., 1999).

Atualmente, a medicina nuclear veterinária é utilizada em muitos países e a cintilografia tem ampliado seu campo de aplicação a cada ano, principalmente devido às atividades de pesquisa na área e ao trabalho de Universidades e organizações como a “Society of Veterinary Nuclear Medicine” (pertencente ao “American College of Veterinary Radiology”) e o “Club of Scintigraphists” (inserido na “European Association of Veterinary Diagnostic Imaging”) (JONES, 2002).

2.2.1 Considerações técnicas sobre a cintilografia

A compreensão dos princípios envolvidos nos procedimentos com radioisótopos exige conhecimento básico prévio a respeito da composição dos radiofármacos, como eles são obtidos, suas características desejáveis e indesejáveis, e como eles são utilizados para a obtenção da informação procurada (QUINN, 1964).

O radioisótopo comporta-se quimicamente de maneira similar aos demais elementos não radioativos. Porém, a energia do núcleo do átomo radioativo é maior do que a existente nos átomos não radioativos, em função da ocorrência de relações entre número de prótons e neutrons. Para diminuir sua energia, o átomo emite partículas (alfa e beta) ou radiação eletromagnética (radiação X ou gama) (QUINN, 1964).

A radiação eletromagnética é utilizada nos procedimentos diagnósticos, enquanto que a radiação particulada é utilizada em procedimentos terapêuticos, embora também possa ser detectada por equipamentos específicos (QUINN, 1964).

Os radioisótopos desintegram-se em taxas constantes e o tempo necessário para a desintegração de 50% do número de átomos é denominado “meia-vida”, podendo variar de segundos a anos (QUINN, 1964).

O “curie” foi a unidade empregada inicialmente para mensurar esta desintegração, sendo que um “curie” equivale a $3,7 \times 10^{10}$ desintegrações por segundo, um milicurie (mCi) é igual a $3,7 \times 10^7$ desintegrações por segundo e um microcurie (μCi) correspondente a $3,7 \times 10^4$ desintegrações por segundo (QUINN, 1964).

Atualmente, a unidade internacional oficial utilizada para medir a radioatividade é o “Bequerel” (Bq), sendo que um Bq representa uma desintegração por segundo.

A câmara de cintilação, ou “gama câmera”, é constituída basicamente pelas seguintes partes: colimador, detector, fotomultiplicador e computador (QUINN, 1964).

O colimador delimita a detecção de radiação especificamente ao campo de visualização pré-determinado, dependendo do objetivo do exame e do radiofármaco utilizado (QUINN, 1964).

A radiação que passa pelo colimador interage com os cristais de iodeto de sódio (NaI) dopados com cloreto de Tálcio (Tl) que compõem o detector, desta interação há formação de uma radiação secundária que é captada e multiplicada, gerando um pulso elétrico (MAYNARD, 1969).

Acoplado a este sistema, há um computador que receberá os pulsos elétricos e formará a imagem cintilográfica (MAYNARD, 1969).

De acordo com o tipo de câmara utilizada pode-se obter diferentes tipos de imagens. Desta forma, a câmara de cintilação planar produz imagens planas e as câmaras de PET (“Positron Emission Tomography” ou “Tomografia por Emissão de Positrons”) e de SPECT (“Single Photon Emission Computer Tomography” ou “Tomografia Computadorizada por Emissão de Photons Únicos”) produzem imagens tomográficas (BRAWNER e DANIEL, 1993).

Entretanto, a utilização das câmaras de cintilação que fornecem imagens tomográficas representa um custo muito alto, devido aos radiofármacos e aparelhagem necessários para a realização deste exame (BRAWNER e DANIEL, 1993).

A interpretação do exame é feita sob dois tipos de imagens: regiões de maior captação do radiofármaco (“áreas quentes” ou “hot spots”) e regiões de menor captação (“regiões frias” ou “cold spots”), sendo que esta maior ou menor captação pode ser representada mediante a escolha de diferentes escalas de coloração (VOTION, 2001).

A maioria dos softwares instalados nos computadores dos Centros de Medicina Nuclear Veterinária são específicos para a cintilografia plana e os programas apresentam quatro principais funções: display, processamento, análise gráfica, edição e armazenamento da imagem (VOTION, 2001).

A resolução espacial da imagem é influenciada pela resolução intrínseca da gama câmera, energia do radioisótopo, quantidade de contagens, movimento do paciente, tamanho da matriz, distância do paciente ao colimador e pelo tipo de colimador (VOTION, 2001).

2.3 ESTUDOS DA VASCULARIZAÇÃO E DRENAGEM LINFÁTICA MAMÁRIA

A primeira descrição dos padrões de drenagem linfática mamária em humanos e animais vertebrados foi realizada por Sappey, em 1898, segundo Cox et al. (2000).

O início dos estudos do sistema linfático foi marcado pela publicação da obra intitulada “De Lactibus sive lacteis venis, quarto mesaraicorumvasorum genere dissertatio”, em 1627, cuja autoria deve-se a Asellius *apud* Cordeiro e Baracat (1983).

Naquela época, os estudos dos vasos linfáticos eram realizados em cães que haviam recebido dieta gordurosa. A gordura ingerida era absorvida pelos capilares linfáticos intestinais do cão, portanto, após determinado intervalo de tempo, os vasos linfáticos estavam preenchidos de gordura, o que facilitava identificá-los durante a vividissecção.

Em 1918, quando já havia sido desenvolvida técnica de coloração dos vasos linfáticos, a vascularização linfática das glândulas mamárias de cadelas foi descrita em detalhes por Baum.

Baum (1918) administrou nanquim no parênquima ao redor da papila mamária de animais vivos, que em seguida foram eutanasiados para dissecação *post mortem*.

As glândulas mamárias torácica cranial, torácica caudal e abdominal cranial foram drenadas pelo linfonodo axilar e axilar acessório, porém, em alguns animais as glândulas mamárias torácica caudal e abdominal cranial também foram drenadas pelo linfonodo esternal.

O autor observou comunicações entre os vasos linfáticos dos linfonodos axilares e inguinais superficiais e entre os vasos linfáticos de glândulas mamárias craniais e caudais.

Na revisão da literatura realizada por Veaux (1978), o objetivo foi fornecer informações sobre a etiologia e tratamento dos tumores mamários em cadelas tendo como base a fisiologia e anatomia das glândulas mamárias destes animais.

De acordo com este estudo, a linfa proveniente das 3 glândulas mamárias “anteriores” podem ser drenadas pelos linfonodos axilares, axilares acessórios e esternal e o linfocentro inguinal recebe vasos linfáticos das glândulas mamárias abdominais “posteriores” e inguinais.

Quanto às particularidades da vascularização linfática, Veaux (1978) relata que existem anastomoses linfáticas entre as glândulas mamárias torácica caudal e abdominal cranial e entre a glândula abdominal cranial e as abdominais “posteriores”, porém não foram encontradas anastomoses linfáticas contra-laterais.

Veaux (1978) concluiu que as anastomoses linfáticas são responsáveis pelas metástases das neoplasias mamárias em cadelas.

Nickel et al. (1981) relata que a vascularização linfática de glândulas mamárias normais envolve a participação dos linfonodos axilares, inguinais superficiais e esternais caudais, de acordo com a posição das mesmas.

O linfonodo axilar próprio recebe linfa das glândulas mamárias torácicas craniais, torácicas caudais e abdominais craniais, sendo que os vasos eferentes deste linfonodo drenam para o tronco jugular ipsilateral ou ducto torácico ou diretamente no ângulo venoso.

Estando presente em apenas 1/4 dos animais, o linfonodo axilar acessório, localizado junto à borda dorsal do músculo peitoral profundo ou ventral do longíssimo dorsal, drena para o linfonodo axilar próprio.

O linfocentro torácico ventral (linfonodos esternais cranial e caudal) drena a primeira metade das glândulas mamárias, sendo que os vasos eferentes do linfonodo esternal cranial se comunicam com linfonodos mediastínicos (NICKEL et al., 1981).

Em 1990, Rubert et al. estudaram a drenagem linfática de 143 glândulas mamárias sadias em fêmeas da espécie canina.

A eutanásia dos animais foi realizada de 1h30min até 24h após a injeção peripapilar intraparenquimatosa *in vivo* de “tinta da China” no interstício mamário. As cadeias mamárias foram retiradas para posterior diafanização e microdissecação.

A coloração dos vasos linfáticos mamários superficiais e profundos foi obtida em 67 cadelas (47%).

Este foi o primeiro relato em que o estudo da topografia linfática da cadeia mamária foi realizado pela injeção de apenas uma glândula mamária por cadeia, o que evitou o risco de confusão com a drenagem de glândulas mamárias adjacentes (RUBERT et al., 1990).

Apenas um linfonodo axilar acessório (Axa) foi colorido após a injeção das glândulas mamárias torácicas craniais e caudais (T1 e T2) e de glândulas mamárias abdominais craniais (A1),

Durante o estudo da topografia dos vasos linfáticos mamários de torácica cranial foram observados vasos linfáticos aferentes ao linfonodo esternal cranial (EsCr).

A glândula mamária abdominal cranial também foi drenada pelo linfonodo inguinal superficial (Is).

Os autores observaram comunicação linfática entre as glândulas mamárias abdominais caudais (A2) e inguinais (I), que foram drenadas por 2 linfonodos inguinais superficiais ipsilaterais (Is).

Em 1991, Rubert et al. promoveram a microdissecação e diafanização de glândulas mamárias após a injeção *in vivo* de tinta da Índia no interstício mamário e injeção intravenosa *post mortem* de látex com sulfato de bário.

A caracterização das anastomoses linfovenosas foi feita da seguinte maneira:

-Tipo1 (relativamente freqüente): veia, de calibre inferior ao do vaso linfático, comporta-se como um *vasa vasorum*.

-Tipo 2 (encontradas em cadelas de 1 ano): O vaso linfático, de calibre comparável ao da veia, é desprovido de elementos contrácteis, com exceção da região onde a túnica média é rica em fibras musculares.

Esta técnica permitiu a identificação das anastomoses entre vasos linfáticos e veias localizadas cranialmente aos linfonodos, o que sugere uma possível via de metástase que impediria a chegada das células neoplásicas ao interior do linfonodo, onde seriam destruídas (RUBERT et al., 1991).

Em 1992, juntamente com Rubert e colaboradores, Sautet realizou o estudo do sistema linfático mamário de 141 fêmeas da espécie canina. A tinta preta da Índia foi administrada na região peripapilar do parênquima de glândulas mamárias sadias de animais vivos, que foram posteriormente eutanasiados para o estudo *post mortem*.

O objetivo de Sautet et al. (1992) foi obter informações relevantes para a elaboração de técnicas de tratamento cirúrgico específico para todas as glândulas mamárias acometidas por neoplasia. Portanto, estes autores estudaram apenas os linfonodos cirurgicamente acessíveis, ou seja, o linfonodo esternal cranial não foi incluído.

As 10 glândulas torácicas craniais estudadas foram drenadas para o linfonodo axilar, enquanto que das 11 glândulas torácicas caudais drenadas por este mesmo linfonodo, uma (9,1%) foi drenada também pelo linfonodo inguinal superficial.

Em 145 das 155 glândulas abdominais craniais estudadas (93,4%), Sautet et al. (1992) observou a participação do linfonodo axilar. O linfonodo inguinal superficial participou da drenagem de 88 destas glândulas mamárias (56,9%).

A drenagem da glândula mamária abdominal caudal envolveu o linfonodo inguinal superficial em todas as 12 glândulas estudadas, sendo que uma destas glândulas foi drenada também pelo linfonodo axilar.

As 11 glândulas inguinais estudadas foram drenadas exclusivamente pelo linfonodo inguinal superficial.

Os autores observaram comunicações linfáticas ipisilaterais entre as glândulas mamárias abdominais craniais e torácicas caudais e entre esta e a abdominal caudal, entretanto não foram observadas comunicações linfáticas contralaterais.

Rahal, Hoosne e Teixeira (1995) estudaram vasos linfáticos e linfonodos superficiais (axilares e inguinais superficiais) de 89 fêmeas da espécie canina pela técnica de incidência de luz ultravioleta ("lâmpada de Wood") em sala escura 30 minutos após as injeções peripapilares *in vivo* de solução aquosa de fluoresceína 5%.

As glândulas mamárias torácicas craniais, torácicas caudais e abdominais craniais foram drenadas pelo linfonodo axilar e as glândulas mamárias abdominais caudais e inguinais foram drenadas pelo linfonodo inguinal superficial.

A técnica utilizada por Rahal, Hoosne e Teixeira (1995) não permitiu observar comunicações linfáticas entre as glândulas mamárias.

Em estudo radiográfico da drenagem linfática mamária de fêmeas da espécie canina em período de lactação, Patsikas e Dessiris (1996) estudaram as anastomoses linfáticas entre as glândulas mamárias torácica cranial, torácica caudal, abdominal caudal e inguinal.

O lipiodol, agente de contraste radiográfico, foi administrado no parênquima mamário peripapilar (volume variando entre 1 e 3mL, dependendo do tamanho do animal) e o local foi massageado em seguida.

As imagens foram obtidas imediatamente após a massagem, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180horas e 1, 3, 6, 10 e 20 dias após a injeção.

Esta técnica permitiu a identificação de 2 ou 3 vasos linfáticos mamários emergindo das primeiras e segundas glândulas mamárias, que dirigem-se para linfonodos axilares do mesmo lado.

Em um animal houve participação simultânea do linfonodo cervical superficial e em outro houve opacificação do linfonodo esternal 48 horas após a administração do contraste na primeira glândula mamária.

A opacificação do linfonodo esternal também foi observada após a administração do contraste em 3 glândulas mamárias torácicas caudais, sendo que em um animal, na imagem obtida 3 dias após a administração foi caracterizada opacificação de linfonodos mediastínicos e brônquicos.

Os 2, 3, 4 ou 5 vasos linfáticos que emergem da quarta glândula mamária, geralmente passam medialmente pela quinta glândula mamária e chegam ao linfonodo inguinal superficial do mesmo lado, entretanto, em 3 animais houve opacificação dos linfonodos do lado oposto, resultado este também encontrado no estudo da quinta glândula mamária no mesmo número de animais.

Além disso, em um animal o contraste administrado na quinta glândula mamária passou do linfonodo inguinal superficial para o linfonodo ilíaco medial do mesmo lado.

Finalmente, os autores demonstraram a existência de anastomoses entre as primeiras e segundas e entre a quarta e a quinta glândulas mamárias.

Em estudo subsequente, Patsikas e Dessiris (1996) injetaram o lipiodol apenas na terceira glândula mamária de 62 fêmeas da espécie canina.

Os animais foram divididos em 2 grupos, sendo o primeiro composto por 24 e o segundo por 38 cadelas.

No primeiro grupo apenas a drenagem linfática da glândula mamária abdominal cranial foi estudada, enquanto que o segundo grupo incluiu o estudo das comunicações linfáticas entre as glândulas mamárias e a relação entre o número de linfonodos e o tamanho do animal.

A glândula mamária abdominal cranial foi drenada simultaneamente pelos linfonodos axilar e inguinal superficial em 18 dos 24 animais estudados (75%), porém em 4 animais (17%) houve participação exclusiva do linfonodo axilar e em 2 o linfonodo inguinal superficial foi o único linfonodo responsável pela drenagem mamária.

Patsikas e Dessiris (1996) não observaram comunicações linfáticas entre as glândulas mamárias e não houve relação entre o tamanho do animal e o número de linfonodos.

Pereira et al. (2003) realizaram o primeiro estudo macroscópico comparativo da drenagem linfática de glândulas mamárias sadias e neoplásicas de cadelas após injeções *post mortem* peripapilares intraparenquimatosas de solução alcoólica de nanquim.

A vascularização linfática das glândulas torácicas craniais e caudais envolveu exclusivamente o linfocentro axilar ipsilateral, entretanto em 2 animais com neoplasia mamária, houve envolvimento simultâneo dos linfocentros torácico ventral ou cervical superficial na vascularização da glândula mamária torácica cranial.

Nas glândulas mamárias torácicas craniais sadias, a freqüência de participação exclusiva do linfocentro ipsilateral axilar foi de 83,5%, enquanto que em animais acometidos por neoplasia esta freqüência foi de 75%, pois nos demais animais houve a participação simultânea do linfocentro inguinofemoral.

A vascularização linfática da glândula mamária abdominal cranial de um animal com neoplasia mamária envolveu a participação do linfocentro axilar ipsilateral e contra-lateral simultaneamente

Em 85,7% das glândulas abdominais caudais estudadas, o linfocentro inguinofemoral teve participação exclusiva na vascularização linfática e em um animal houve participação simultânea do linfocentro axilar.

O linfocentro inguinofemoral participou da vascularização linfática de todas as glândulas mamárias inguinais, porém, em um animal foi observada a participação simultânea do linfocentro poplíteo.

Neste estudo, independente da presença de neoplasia mamária, as glândulas mamárias torácica cranial e abdominal cranial apresentaram maior variação de drenagem, e entre as glândulas mamárias abdominais craniais e inguinais foi observada maior quantidade de comunicações linfáticas mamárias ipsi e contralaterais (PEREIRA et al., 2003).

2.3.1 A linfocintilografia em animais

Harold¹ (1958) *apud* Potena, Salvatore e Lorizio (1976) foi o primeiro pesquisador que observou a facilidade da técnica de cintilografia dos vasos linfáticos e linfonodos em cães (linfocintilografia).

Os elementos radioativos Au¹⁹⁸ ou Tc^{99m} foram utilizados por Potena, Salvatore e Lorizio (1976) para o estudo de diferentes condições patológicas linfáticas em cães e comparação entre a técnica linfocintilográfica e a radiográfica linfoangiográfica.

¹ HAROLD, H. Lymphatic scintigrams a method for studying the functional pattern of lymphatics and lymph nodes. **Cancer**. v. 2, p.200-203. 1958.

As imagens linfocintilográficas foram obtidas uma hora após a administração de $3\mu\text{Ci/Kg}$ de Au^{198} ou Tc^{99m} nos 1º, 2º e 3º espaço interdigital dos membros torácicos e pélvicos, no tecido subcutâneo do metatarso e tecido sublingual. A técnica permitiu a identificação dos linfonodos cervical lateral e paratraqueal e fígado, além da avaliação funcional da drenagem linfática.

A técnica radiográfica por administração do contraste iodado forneceu apenas informações topográficas e anatômicas e apresentou alto grau de dificuldade, pois exigiu a canulação dos vasos linfáticos.

No entanto, a linfocintilografia apresentou maior facilidade técnica e forneceu informações anatômicas, topográficas e funcionais, de importância clínica (POTENA, SALVATORE; LORIZIO, 1976).

Strand e Persson (1979) testaram a eficácia linfocintilográfica dos seguintes agentes em coelhos: $[\text{}^{198}\text{Au}]$ -coloidal, $[\text{}^{99m}\text{Tc}]$ -antiamônio sulfídico, $[\text{}^{99m}\text{Tc}]$ -tin coloidal, $[\text{}^{99m}\text{Tc}]$ -fitato e $[\text{}^{99m}\text{Tc}]$ -enxofre coloidal.

Os radiofármacos foram administrados no tecido subcutâneo e as imagens foram obtidas a cada 15 segundos durante 2 a 4 horas. Posteriormente, as imagens do linfonodo paraesternal foram analisadas para quantificação da radioatividade captada.

A maior velocidade de drenagem para o linfonodo paraesternal foi obtida pela administração do $[\text{}^{198}\text{Au}]$ -coloidal, portanto, enquanto a taxa de captação pelo linfonodo paraesternal, 2 horas após a administração do $[\text{}^{99m}\text{Tc}]$ -antiamônio sulfídico, foi 5%, para o $[\text{}^{198}\text{Au}]$ -coloidal este valor foi 8%. Os demais agentes apresentaram taxa de captação mais baixa.

Norris et al. (1982) caracterizaram as imagens linfocintilográficas mamárias de 17 fêmeas da espécie canina, sendo 4 normais e 13 com evidências clínicas de neoplasia.

O radiofármaco utilizado foi o [^{99m}Tc]- Sb_2S_3 , cuja dose variou de 250 a 750 μCi e o volume de 0.1 a 0.3mL, de acordo com o peso do animal.

As imagens foram obtidas duas a 3h após a administração bilateral do radiofármaco diretamente no músculo reto do abdome e no tecido subcutâneo caudal à glândula mamária abdominal caudal.

Foram fixadas fonte de ^{57}Co para fornecer o referencial anatômico do manúbrio, processo xifóide e sínfise púbica.

Em alguns animais com neoplasia mamária, a invasão de células neoplásicas nos linfonodos ou vasos linfáticos impediu a caracterização da drenagem.

Na maioria dos animais, foi observada a participação de apenas um linfonodo axilar e de linfonodos esternais. A participação do linfonodo diafragmático foi observada em apenas 1 dos 13 animais estudados.

O número dos linfonodos identificados em cada animal foi variável, tendo sido identificados linfonodos esternais e abdominais.

Neste estudo, Norris et al. (1982) concluíram que a linfocintilografia é simples, não invasiva, segura e de alta acurácia.

Henze et al. (1982) testaram em 13 cães a eficácia da utilização do [^{99m}Tc]-dextran para a linfocintilografia.

Os autores analisaram as imagens obtidas pela administração interdigital de 1,0 mL (dose 0.5-5.0 mCi). Após, foi coletada amostra sanguínea para mensuração de radiação pelo curiômetro.

A avaliação de amostras sanguíneas coletadas logo após a administração do [^{99m}Tc]-dextran demonstrou que o radiofármaco foi retido exclusivamente nos linfonodos e vasos linfáticos, portanto, este radiofármaco é altamente eficaz para a linfocintilografia (HENZE et al., 1982).

Castronuovo et al. (1983) utilizaram a técnica linfocintilográfica para o estudo da vascularização linfática cardíaca e vascular em 4 cães e 8 coelhos.

O radiofármaco [^{99m}Tc]-antiamonio sulfídico (500mCi) foi administrado no miocárdio, na adventícia das artérias aorta, ilíaca, femoral e tibial, após toracotomia.

O número e topografia dos linfonodos foram caracterizados nas imagens obtidas logo após a administração do radiofármaco e 2, 9 e 24 e 48 horas após a injeção.

O [^{99m}Tc]-antiamonio sulfídico entrou no sistema vascular sanguíneo, pois houve marcação do fígado e do baço dos animais, porém, a linfocintilografia demonstrou processos fisiológicos como o fluxo linfático, a filtração e a função reticuloendotelial arterial e cardíaca.

Houve correlação positiva entre a linfocintilografia e anatomia macroscópica realizadas nos mesmos animais, portanto a técnica foi eficaz para o estudo do padrão de drenagem linfática em cães (CASTRONUOVO et al., 1983).

Os agentes [^{99m}Tc]-antiamonio sulfídico e [^{99m}Tc]-dextran foram administrados na dose 18,5MBq (0,5mCi) para o estudo linfocintilográfico da parede abdominal de cães realizado por Metcalf et al. (1986).

Os 12 animais (8 fêmeas e 4 machos) foram organizados em 2 grupos de 6 animais cada e a imagem linfocintilográfica foi realizada após a administração de [^{99m}Tc]-antiamonio sulfídico ou [^{99m}Tc]-dextran em 4 pontos (2 intramusculares, no

músculo reto do abdome e 2 subcutâneos, caudais à glândula mamária abdominal caudal, bilateralmente).

No grupo 1, as primeiras imagens foram obtidas após a administração do [^{99m}Tc]-antiamônio sulfídico e a administração do [^{99m}Tc]-dextran foi realizada após 4 dias. No grupo 2, a ordem dos agentes foi invertida.

As imagens foram obtidas em incidências cranio-ventral, caudo-ventral e ventral, 2 horas após a administração do [^{99m}Tc]-antiamônio sulfídico e a linfocintilografia 15 minutos após a administração do [^{99m}Tc]-dextran.

Os parâmetros avaliados para comparar a eficiência dos 2 agentes linfocintilográficos foram o número total de linfonodos observados por cão, a variação da atividade radioativa do linfonodo em relação à radiação de fundo e variação da radiação do linfonodo em relação ao marcador externo.

A quantificação do contraste da imagem linfocintilográfica foi realizada calculando-se a relação entre a taxa de radioatividade do linfonodo marcado e a radiação de fundo (METCALF et al., 1986).

Esta relação foi 121,7 para o [^{99m}Tc]-antiamônio sulfídico e 10,54 para o [^{99m}Tc]-dextran, isso significa que quando o [^{99m}Tc]-dextran foi utilizado, a captação dos linfonodos em relação à radiação de fundo foi menor.

Segundo Metcalf et al. (1986), o [^{99m}Tc]-dextran não permitiu a identificação dos vasos linfáticos, pois o agente é altamente solúvel, o que o torna ideal para a realização de estudos dinâmicos funcionais do fluxo linfático.

Portanto, os parâmetros quantitativos (atividade radioativa no linfonodo) e qualitativos (maior contraste) avaliados nas imagens linfocintilográficas obtidas pela utilização do [^{99m}Tc]-antiamônio sulfídico são melhores.

Neste estudo, o número, tamanho e localização dos linfonodos foi variável entre os cães.

No estudo das aplicações da cintilografia na prática clínica veterinária de pequenos animais, BALOGH et al. (1999) observaram a eficácia da linfocintilografia para a avaliação de linfedemas primários ou secundários e identificação de metástases em linfonodos de cães.

Os radiofármacos [$^{99m}\text{TcO}_4^-$], [^{99m}Tc]-albumina sérica humana, [^{99m}Tc]-dextran e [^{99m}Tc]-enxofre coloidal foram administrados por via intradérmica (dose variando entre 150 e 160MBq) para o estudo comparativo da eficácia para a formação de imagem dos linfonodos sentinelas de ratos (EDREIRA et al., 2001).

A captação linfonodal dos radiofármacos [^{99m}Tc]-albumina sérica humana e [^{99m}Tc]-enxofre coloidal foram semelhantes, entretanto, a captação do [^{99m}Tc]-albumina sérica humana apresentou aumento significativo na captação linfonodal 100 minutos após a injeção.

O [^{99m}Tc]-dextran apresentou baixa captação e não houve aumento significativo 100 minutos após a injeção (EDREIRA et al., 2001).

2.3.2 A linfocintilografia em pacientes humanos

A identificação linfocintilográfica do linfonodo sentinela foi inicialmente realizada em pacientes humanos com neoplasia peniana (CABANAS, 1977), sendo posteriormente utilizada para localização e tratamento radioterápico de linfonodos

mamários internos dos pacientes humanos com neoplasia mamária (HUNT et al., 1987).

Turoglu et al. (1992) realizaram a linfocintilografia mamária bilateral de 40 mulheres com formações neoplásicas mamárias de mais de 5 cm de diâmetro, metástases ósseas confirmadas pela cintilografia óssea e outros fatores que predisõem às metástases para linfonodos mamários internos.

O radiofármaco [^{99m}Tc]-antiamônio sulfídico (18,5MBq, 0,2mL) foi administrado 3cm inferior à cartilagem xifóide e 2cm medial à linha média clavicular.

As imagens linfocintilográficas foram comparadas à tomografia computadorizada e à ressonância magnética.

A linfocintilografia permitiu a identificação de alterações em 22 grupos de linfonodos mamários internos que não foram identificadas nas imagens tomográficas ou de ressonância magnética.

A tomografia computadorizada não foi eficaz para detecção de alterações dos linfonodos mamários internos e não demonstrou padrões de drenagem linfática.

Os autores afirmam que a avaliação clínica e histopatológica dos linfonodos axilares de pacientes com neoplasia mamária já é padrão na conduta médica diagnóstica e terapêutica, porém a função dos métodos não invasivos para a detecção da disseminação do câncer de mama para linfonodos mamários internos deve ser investigada (TUROGLU et al., 1992).

O radiofármaco [^{99m}Tc]-albumina sérica (dose de 20MBq) foi administrado no músculo reto do abdome, abaixo do processo xifóide, para a localização linfocintilográfica dos linfonodos mamários internos das 320 mulheres estudadas por Struikmans e Rijk (1996).

As imagens foram obtidas 2 a 4 horas após a injeção do radiofármaco e o lápis de Cobalto-57 foi utilizado para marcação dos seguintes referenciais anatômicos na imagem: veias jugulares, processo xifóide e linha mediana esternal.

O tamanho e a localização do linfonodo variou entre as pacientes e entre os antímeros de uma mesma paciente.

Segundo Struikmans e Rijk (1996), quando existe a suspeita de envolvimento de linfonodos mamários internos em mulheres com neoplasia mamária, a linfocintilografia é essencial para a localização destes linfonodos e eficácia da radioterapia.

A tomografia computadorizada e a ultra-sonografia podem ser utilizadas para a identificação de metástases em linfonodos, porém quando estes linfonodos apresentam apenas micrometástases, a linfocintilografia é a técnica ideal para localizá-los e facilitar a biópsia ou tratamento radioterápico de linfonodos mamários internos (STRUIKMANS; RIJK, 1996).

Na literatura consultada encontramos muitos estudos sobre os melhores protocolos de aquisição linfocintilográfica.

DeCicco et al. (1998), por exemplo, realizaram injeções peritumorais intraparenquimatosas e intradérmicas na base da lesão neoplásica mamária de 250 (duzentos e cinquenta) pacientes humanos com neoplasia mamária, que foram divididos em 6 grupos de acordo com a técnica empregada:

- Grupo 1: Injeções subdérmicas de [^{99m}Tc]-antiamônio enxofre coloidal (0.4mL)
- Grupo 2: Injeções peritumorais de [^{99m}Tc]-antiamônio enxofre coloidal (0.4mL)

- Grupo 3: Injeções subdérmicas de [^{99m}Tc]-albumina sérica (partículas menores que 80nm) (0.4mL)
- Grupo 4: Injeções peritumorais de [^{99m}Tc]-albumina sérica (partículas menores que 80nm)
- Grupo 5: Injeções subdérmicas de [^{99m}Tc]-albumina sérica (partículas entre 200 e 1000nm) (0.4mL)
- Grupo 6: Injeções peritumorais de [^{99m}Tc]-albumina sérica (partículas entre 200 e 1000nm)

Em apenas 5 dos 250 pacientes, o padrão de drenagem linfática não foi observado na linfocintilografia e em outros 5 pacientes foram identificados linfonodos mamários internos. Portanto, o número de linfonodos axilares ipsilaterais variou de 1 a 5, com média igual a 2, sendo que esta variação não foi decorrente do tipo de radiofármaco utilizado.

O número de linfonodos identificados por paciente não variou de acordo com o radiofármaco utilizado.

A identificação dos linfonodos demorou 30 minutos em 81% dos pacientes que receberam injeções subdérmicas, enquanto que pela técnica de injeção peritumoral intraparenquimatosa este tempo aumentou para 4 a 18 horas em 12% dos pacientes (DECICCO et al., 1998).

Além disso, nos pacientes que receberam injeções peritumorais, a captação intranodal foi insuficiente, prejudicando a caracterização do linfonodo sentinela.

A técnica de injeção subdérmica forneceu melhor imagem da rede vascular linfática profunda e superficial (DECICCO et al., 1998).

Neste estudo, os autores concluíram que a melhor técnica para caracterização da drenagem linfática mamária e identificação de linfonodos sentinelas é a técnica

de injeções subdérmicas de pequeno volume de radiofármaco (0,4mL), pois volumes muito grandes podem provocar obstrução e colapso dos vasos linfáticos devido à pressão exercida no local.

O delineamento corpóreo do paciente foi obtido pela utilização do ^{153}Ga para facilitar a localização do “linfonodo sentinela” mamário (DECICCO et al., 1998).

A radiação retida no local de injeção foi $0,70 \pm 0,45\text{MBq}$ e nos linfonodos axilares $0,03 \pm 0,02\text{MBq}$, calculada após a excisão cirúrgica do tecido. A taxa radioativa em outros tecidos foi considerada insignificante (DECICCO et al., 1998).

Alazraki, Styblo e Grant (1999) também compararam os resultados obtidos após injeções peritumorais e subdérmicas, porém o radiofármaco utilizado foi o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -enxofre coloidal, em mulheres com neoplasia mamária.

Os linfonodos mamários internos foram identificados apenas nas imagens dos pacientes que receberam o radiofármaco por via intraparenquimatosa peritumoral (ALAZRAKI, STYBLO, GRANT, 1999).

Valdés Olmos et al. (1999) realizaram estudo retrospectivo sobre a contribuição da Medicina Nuclear para o mapeamento linfático e identificação do linfonodo sentinela em oncologia.

Segundo Valdés Olmos et al. (1999), o uso de fonte plana de ^{57}Co ou de lápis de ^{57}Co , com o qual se marca o contorno da região estudada, contribui com detalhes anatômicos importantes para o estudo cintilográfico e para a localização do linfonodo.

O posicionamento do paciente para a obtenção de imagens laterais e ventrais é essencial para a identificação de linfonodos próximos ao local de injeção e a linfocintilografia pré-operatória é a única modalidade de imagem com qual é possível

caracterizar a drenagem linfática de cada paciente e identificar linfonodos sentinelas profundos.

Bourgeois e Frühling (1999) observaram a linfocintilografia de 1025 pacientes com neoplasia mamária para identificar a frequência de metástases em linfonodos mamários internos contra-laterais.

As linfocintilografias foram realizadas pela administração intramamária de [^{99m}Tc]-coloidal para localização e biópsia dos linfonodos.

A frequência de metástases em linfonodos intra-mamários contralaterais foi 15,6% (160 pacientes) (BOURGEOIS; FRÜHLING, 1999).

Devido ao potencial da linfocintilografia para o estudo da vascularização linfática, Krynyckyi et al. (2000) estudaram os aspectos técnicos do método com o objetivo de aperfeiçoar a obtenção das imagens linfocintilográficas mamários.

Os aspectos analisados foram o posicionamento do braço do paciente, benefícios do protocolo de aquisição dinâmica das imagens, a técnica de delineamento do corpo do paciente com Cobalto-57, a técnica de fixação de referenciais anatômicos, deslocamento da mama, massagem da mama após a administração do radiofármaco, manter o paciente aquecido, métodos para evitar contaminação radioativa.

A aquisição dinâmica das imagens dificulta a identificação de linfonodos que estão próximos um do outro, pois o paciente é mantido na mesma posição, entretanto facilita a diferenciação entre focos de contaminação ou dilatação de vasos linfáticos e linfonodos, pois este último apresenta quantidade de radiofármaco crescente ou decrescente com o decorrer do tempo.

Segundo Krynyckyi et al. (2000), a melhor técnica para delinear o corpo do paciente é a utilização de uma fonte de Cobalto-57 sob o paciente, entretanto,

quando a marcação do linfonodo é muito fraca, a opção é a utilização da técnica de fixação de referenciais anatômicos (triangulação) que consiste em marcar a pele do paciente no local que corresponde ao referencial anatômico procurado.

O deslocamento da mama e do braço da paciente facilita a identificação de linfonodos intramamários. Além disso, massagear a mama após a injeção e manter o paciente aquecido ajuda na evolução do radiofármaco para o linfonodo.

Krynycky et al. (2000) observou que algumas condutas são devem ser adotadas para minimizar o risco de contaminação durante o procedimento.

Antes de injetar o radiofármaco deve-se verificar se não existe ar na seringa e o local de cada injeção deve ser coberto com algodão ou gaze para evitar extravasamento durante a aquisição das imagens.

Caso o radiofármaco extravase, deve-se limpar a região imediatamente com algodão umedecido em álcool.

As mãos do paciente devem ser mantidas longe do local de injeção e as massagens após a injeção devem manter o sentido circular sempre, sem exercer muita pressão sobre o local.

Quando houver suspeita de artefato de imagem por contaminação, a realização de aquisição dinâmica das imagens permite a detectá-la (KRYNYCKYI et al., 2000).

As 76 mulheres estudadas por Haigh et al. (2000) apresentavam carcinoma mamário invasivo e foram submetidas à linfocintilografia mamária pré-operatória antes do tratamento cirúrgico. Estes autores analisaram os fatores que afetam a localização do linfonodo sentinela durante a linfocintilografia.

O radiofármaco [^{99m}Tc]-enxofre coloidal foi administrado em região peritumoral (3 a 8mL, dependendo do tamanho da glândula mamária) e as imagens foram obtidas

logo após a injeção. As projeções oblíquas e anteriores foram realizadas para a localização dos linfonodos axilares e mamários internos, respectivamente.

O linfonodo axilar participou da drenagem de 99% das glândulas mamárias estudadas (75 pacientes), linfonodos intramamários participaram da drenagem de 20% das glândulas (15 pacientes) e em 5% houve participação do linfonodo clavicular (4 pacientes).

Em 59 pacientes, apenas uma base de drenagem foi identificada (58 axilares e uma intramamária) e em 2 pacientes a linfa foi drenada igualmente por linfonodos axilares e intra-mamários ou axilares, intra-mamários e claviculares.

Nos demais pacientes (15 mulheres), a linfa foi drenada de forma desigual para uma base primária e outra secundária, envolvendo a participação conjunta de linfonodos axilar e intra-mamário, intra-mamário e clavicular ou axilar e clavicular.

A técnica de injeções peritumorais do radiofármaco [^{99m}Tc]- enxofre coloidal (12-16MBq, 3-8mL) proporcionou a localização do linfonodo sentinela em 100% dos casos, porém foram necessárias as projeções lateral e anterior para a localização de linfonodos mamários internos (HAIGH et al., 2000).

Segundo Canavese et al. (2000), a técnica linfocintilográfica em mulheres é indicada para identificação de linfonodos longe do local de injeção, porém, os linfonodos próximos ao local de injeção podem ser identificados pela técnica de mapeamento linfático transcirúrgico com injeção intramamária de “blue dye”.

Neville et al. (2000) utilizaram a técnica de injeção intratumoral de [^{99m}Tc]-enxofre coloidal uma hora antes da injeção do corante “Lymphanzarium Blue” para a localização trans-operatória dos linfonodos sentinelas de diferentes tumores malignos em 13 crianças.

Estes autores afirmam que a linfocintilografia e linfoangiografia não foram eficazes em pacientes previamente submetidos a procedimentos cirúrgicos na região, a tratamento radioterápico local, ou em pacientes que apresentam invasão tumoral em linfonodos.

A eficácia do mapeamento linfático trans-cirúrgico com corante azul patente e da linfocintilografia com [^{99m}Tc]-dextran para a identificação de linfonodos sentinelas localizados em diferentes bases linfáticas foi avaliada por Oliveira-Filho et al. (2000).

Das 70 bases linfáticas estudadas, 68 bases linfáticas (97%) foram identificadas nas linfocintilografias e 53 bases (76%) pelo mapeamento linfático trans-cirúrgico.

A taxa de identificação de linfonodos pela linfocintilografia com [^{99m}Tc]-dextran foi de 97% para base axilar e 83% para base cervical. Entretanto, com o mapeamento linfático, a taxa de identificação de linfonodos na base axilar foi 76% e 63% na base cervical.

Os linfonodos localizados na base inguinal foram identificados em 100% dos pacientes, independentemente da técnica utilizada (OLIVEIRA-FILHO et al., 2000).

Aproximadamente 1-6 horas antes da cirurgia, 450 μCi do radiofármaco [^{99m}Tc]-enxofre coloidal, diluído em solução salina, foi injetado no parênquima mamário periférico à lesão neoplásica mamária de mulheres. Cinco minutos antes do início do acesso cirúrgico, Cox et al. (2000) injetaram o “Lymphazarin blue dye” aproximadamente no mesmo local do radiofármaco.

O número de mulheres envolvidas neste estudo foi 1147, nas quais a combinação de injeções de radiofármaco e do “blue dye” foi satisfatória para identificação dos linfonodos sentinelas em 95.7% dos casos, sendo considerado o melhor método.

A injeção apenas do radiofármaco foi satisfatória em 88.3% dos pacientes e a injeção apenas do blue dye possibilitou a identificação do linfonodo sentinela em 80.3% dos pacientes (Cox et al., 2000).

A avaliação da aplicabilidade, especificidade e sensibilidade da técnica de linfocintilografia com [^{99m}Tc]-dextran e mapeamento linfático com azul patente foi realizado por Xavier et al. (2001), durante os anos de 1999 e 2000, em mulheres com neoplasia mamária atendidas no Hospital da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

O [^{99m}Tc]-dextran (dose 37MBq e volume 2mL) foi aplicado no parênquima do tumor mamário e no subcutâneo da glândula mamária. As imagens foram obtidas 1h30min a 2h após a aplicação.

Durante o procedimento cirúrgico, foi aplicado o corante azul patente ao redor do tumor para o mapeamento linfático trans-cirúrgico.

A associação destas técnicas possibilitou a identificação dos linfonodos sentinelas em 100% dos pacientes. Entretanto, quando os autores utilizaram apenas a linfocintilografia, esta taxa baixou para 84% e com o uso apenas do azul patente esta taxa foi para 58%.

O uso do [^{99m}Tc]-dextran para a identificação de linfonodos sentinelas é promissor devido a sua simplicidade para a marcação do composto, fácil acesso ao fármaco e baixo custo (XAVIER et al., 2001).

A especificidade da técnica de associação do azul patente com o [^{99m}Tc]-dextran foi 100% e a sensibilidade 96% (XAVIER et al, 2001).

Mateos et al. (2001) compararam as técnicas de injeção peritumoral intraparenquimatosa e subdérmica de [^{99m}Tc] não coloidal em pacientes humanos. A região estudada foi delineada com [^{99m}Tc] (39 MBq) ("retangular thin phantom") e os

pacientes foram divididos em 2 grupos de acordo com a via de administração do radiofármaco:

- Grupo A - injeção subdérmica
- Grupo B - injeção peritumoral intraparenquimatosa

A injeção subdérmica subestimou a drenagem extra-axilar do paciente com tumor mamário (MATEOS et al., 2001).

Birdwell et al. (2001) estudaram as variáveis que impossibilitaram a identificação dos linfonodos nas linfocintilografias realizadas durante os anos de 1997 a 2000 (136 imagens).

A linfocintilografia mamária de mulheres que apresentavam metástase linfática comprovada clinicamente, tumores mamários maiores que 5cm, multifocais ou multicêntricos e em pacientes submetidos previamente a procedimento cirúrgico ou quimioterapia não foi incluída neste estudo (BIRDWELL et al., 2001).

As imagens foram realizadas imediatamente após a administração do [^{99m}Tc]-enxofre coloidal (29,6-37,0MBq). A identificação do linfonodo sentinela foi obtida em média 2h30min após a administração do radiofármaco.

Os linfonodos sentinelas foram identificados em 73% das imagens (99 pacientes) e em 27% (37 pacientes) não foram identificados quaisquer linfonodos. O Cobalto-57 foi utilizado para obtenção de referencial anatômico.

A drenagem mamária para linfonodos axilares foi encontrada em 99 pacientes (73%), dos quais 24% (24 pacientes) apresentaram drenagem para linfonodo intramamário.

Neste estudo, os autores observaram a influência negativa da idade e metástase linfática sobre a identificação linfocintilográfica do linfonodo. A injeção do

radiofármaco no músculo peitoral profundo também prejudicou a identificação dos linfonodos mamários.

Realizando a cintilografia óssea prévia com [^{99m}Tc]-MDP (metileno difosfonado), autores obtiveram maior precisão topográfica que a obtida com o contorno corpóreo com ^{57}Co (MARGOLIN et al., 2001; TATINI; DWORKIN et al., 2001)

O local de injeção do radiofármaco e a sua profundidade também são importantes durante a realização da técnica, devendo-se tomar cuidado para não injetar o radiofármaco no músculo adjacente ao tecido mamário (MARIANI et al., 2001).

A influência da idade do paciente sobre a não caracterização cintilográfica dos linfonodos foi constatada por Krausz et al. (2001) e Mariani et al. (2001), que atribuíram estas limitações ao menor turgor de pele, menor atividade fagocitária e maior concentração de tecido adiposo em pacientes humanos idosos.

Segundo Krausz et al. (2001) e Mariani et al. (2001), a localização do tumor, tipo e estágio tumoral e a idade do paciente prejudicam identificação cintilográfica do linfonodo.

A aplicabilidade da localização e biópsia de linfonodos mamários internos foi estudada por Noguchi (2002), que realizou estudo de revisão da literatura.

Segundo o autor, a importância clínica dos linfonodos mamários internos em mulheres com neoplasia mamária é alta, pois eles são acometidos de metástases em 5 a 10% destas pacientes.

As metástases mamárias em linfonodos intra-mamários (paraesternais e supraclavicular) ocorrem juntamente às metástases em linfonodos axilares em 30 a 50% dos pacientes e em 7 a 20% dos pacientes em que o linfonodo axilar não foi invadido por células neoplásicas.

Os estudos mais recentes utilizam a técnica de injeção do radiofármaco no parênquima mamário ao redor da aréola mamária para garantir uma maior absorção do radiofármaco e consequentemente obter maior será a taxa de identificação linfonocintilográfica dos linfonodos (NOGUCHI, 2002).

Clarke et al. (2002) compararam duas técnicas utilizadas para delimitar o contorno corpóreo e facilitar a localização pré-cirúrgica linfocintilográfica do linfonodo sentinela da glândula mamária neoplásica.

Os pacientes humanos foram divididos em 2 grupos, de acordo com a técnica utilizada (fonte linear de ^{153}Ga ou fonte de fluxo contínuo de ^{57}Co). O escaneamento foi realizado em projeções laterais, oblíquas e “anteriores”.

A fonte linear de ^{153}Ga forneceu imagem mais clara, de maior definição e de menor emissão radioativa 25% menor que a fonte linear de ^{57}Co (CLARKE et al., 2002).

O tratamento radioterápico dos linfonodos mamários internos de mulheres com neoplasia mamária é possível mediante a localização exata deste linfonodo (SAARNAK et al., 2002).

A acurácia das técnicas de linfocintilografia, ultra-sonografia e tomografia computadorizada para localização de linfonodos mamários internos foi avaliada por Saarnak et al. (2002).

Embora a ultra-sonografia seja uma técnica simples, rápida e barata, seu uso não é recomendável para determinar a posição exata dos linfonodos mamários internos. Entretanto, quando outras técnicas não estão disponíveis, o exame ultra-sonográfico pode ser importante para avaliar a profundidade do linfonodo (SAARNAK et al., 2002).

A localização linfocintilográfica do linfonodo mamário interno foi possível pela utilização de fontes de Cobalto-57 fixadas no esterno, na cartilagem xifóide e nas costelas para fornecer o referencial anátomo-topográfico.

Os autores utilizaram modelos matemáticos para verificar a acurácia da linfocintilografia e da tomografia computadorizada, porém estes modelos permitiram verificar o erro na precisão da localização do linfonodo mamário interno apenas da linfocintilografia, que permitiu determinar a posição do linfonodo com acurácia de 5mm em profundidade e 6mm na direção lateral.

Pelosi et al. (2003) realizaram o estudo comparativo entre as técnicas de injeção periareolar e subdérmica de [^{99m}Tc] não coloidal para o mapeamento linfático cintilográfico considerando a origem embriológica do tecido mamário e de seus vasos linfáticos, assim como o aspecto histológico da rede vascular linfática localizada ao redor da aréola.

A dose variou entre 25 e 37 MBq (volume 0,5mL) e as imagens foi adquiridas 1 a 3 horas após as injeções.

Neste estudo, os autores concluíram que a técnica de injeção periareolar é bastante eficaz (98%) e fácil, pois a rica rede capilar linfática existente logo abaixo da aréola garante que grande quantidade do radiofármaco chegue ao linfonodo rapidamente (PELOSI et al., 2003).

A relevância clínica dos linfonodos mamários internos em pacientes humanos com neoplasia mamária ainda é estudada e a linfocintilografia é a técnica de escolha para a realização da biópsia (BENDA et al., 2004).

As linfocintilografias mamárias com [^{99m}Tc]-enxofre coloidal (2mCi, 2mL, intradérmico) de 248 pacientes atendidos no Hospital da Universidade da Flórida (Gainesville, FL), entre 1998 e 2002, foram estudadas por Benda et al. (2004).

A localização do tumor, tamanho, ocorrência de metástase linfovascular e linfonodal não apresentaram correlação significativa em relação à drenagem para linfonodos mamários internos observada em 23 linfocintilografias mamárias (9,3%) .

O mapeamento linfático cintilográfico foi utilizado por Estourgie et al. (2004) para observação da taxa de visualização de linfonodos mamários internos e sua importância clínica no tratamento de neoplasias em pacientes humanos.

A utilização de pequeno volume de radiofármaco minimizou o risco de alterar a fisiologia normal dos vasos linfáticos (ESTOURGIE et al., 2004).

Uren (2004) estudou o processo fisiológico da captação de radiofármaco pelos linfonodos que drenam a pele.

Segundo o autor, os radiofármacos são retidos nos linfonodos por um processo fisiológico ativo, fagocitados pelos macrófagos e histiócitos localizados no seio subcapsular do linfonodo. Este processo ocorre até 2 horas após a injeção, portanto as imagens após 2 ou 24 horas não apresentam diferenças que não relativas ao decaimento do radiofármaco (UREN, 2004).

As causas de falha linfocintilográfica na localização de linfonodos da cabeça e pescoço em paciente com melanoma foram atribuídas a 3 possibilidades segundo Stadelmann, Cobbins e Lentsch (2004): curtas distâncias entre foco de injeção e linfonodo; baixa concentração de radiofármaco nos linfonodos devido a participação de mais de um linfonodo na drenagem da região estudada; falhas técnicas dos profissionais envolvidos na realização e processamento do exame.

Wilczek et al. (2004) avaliaram as desvantagens da técnica de delineamento corpóreo utilizada com $[^{99m}\text{TcO}_4^-]$ (pertechnetato) para facilitar a identificação anatômica dos linfonodos responsáveis pela drenagem linfática mamária de mulheres.

Os pacientes estudados por estes autores receberam 4 injeções subcutâneas peritumorais (0.1 ml cada) de [^{99m}Tc]- albumina sérica humana (40MBq). As imagens foram obtidas 2 a 3 horas após as injeções, sendo realizadas novas imagens após a administração endovenosa de 25MBq de pertecnetato ($^{99m}\text{TcO}_4$), para o delineamento corpóreo.

O [$^{99m}\text{TcO}_4$] (pertecnetato) não auxiliou os autores na localização anatômica dos linfonodos e ocultou linfonodos que apresentavam menor captação de radiofármaco.

Barranger et al.(2004) afirmam que a drenagem extra-axilar é observada em 25% dos pacientes com neoplasia mamária, incluindo linfonodos mamários internos e aqueles que estão localizados internamente ao parênquima.

Os autores afirmam terem observado o primeiro caso de drenagem axilar contralateral sem drenagem ipsilateral, embora drenagem contralateral e ipsilateral já tenha sido publicada.

O mapeamento linfático para identificação do linfonodo sentinela mamário tem sido realizado em muitos países em pacientes com neoplasia mamária e a linfocintilografia é considerada a técnica de escolha, pois permite a caracterização da drenagem extra-axilar, principalmente quando o radiofármaco é administrado diretamente no parênquima mamário (BARRANGER et al., 2004).

Material e Método

3 MATERIAL E MÉTODO

Este projeto foi realizado segundo as normas da “Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa” (CAPPesp) da Diretoria Clínica e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e da “Comissão de Bioética” da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, portanto, todos os procedimentos foram realizados de forma a assegurar o bem estar dos animais estudados e a biosegurança dos profissionais envolvidos.

3.1 ANIMAIS

Os 30 animais foram disponibilizados pelo Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sendo transportados em veículo fechado e sob sedação obtida pela administração intra-muscular de 0,1 mg/Kg de Acepramazina (Acepran® 0,2 % - UNIVET S/A. Indústria Brasileira).

As imagens foram obtidas pela manhã e ao final de cada dia de experimento, os animais retornavam para o Biotério de origem.

3.1.1 Seleção dos animais

Foram estudadas 30 fêmeas adultas da espécie canina (*Canis familiares* – LINNAEUS, 1758), sem raça definida e peso aproximado de 10 kg.

A seleção destes animais foi realizada considerando-se os seguintes critérios:

- Presença de 10 glândulas mamárias, sendo 5 em cada antímero;
- Glândulas mamárias sem evidências de neoplasia à palpação e inspeção;
- Linfonodos palpáveis sem alterações de volume à palpação;
- Evidências de mastectomia ou biópsia prévia ausentes;
- Evidências de lactação ausentes;

3.1.2 Identificação dos animais

A identificação dos animais foi realizada utilizando-se roteiro de investigação específico, que continha espaço para anotações sobre o animal, a glândula estudada, a técnica, posicionamento do animal em cada imagem, identificação e horário da imagem e outras observações que auxiliaram no momento da caracterização das imagens linfocintilográficas (Apêndice A).

3.1.3 Grupos

Os 30 animais estudados foram divididos em 6 grupos, cada um composto por 5 animais.

O grupo piloto foi utilizado para padronização quanto ao posicionamento, tempos de aquisição das imagens, volume da dose e contenção química a serem aplicados aos demais grupos, os quais foram organizados de acordo com a glândula mamária estudada, uma vez que apenas uma glândula mamária foi estudada por animal.

A identificação das glândulas mamárias foi feita da seguinte maneira (Figura 1):

- Glândula mamária torácica cranial – T1
- Glândula mamária torácica caudal – T2
- Glândula mamária abdominal cranial – A1
- Glândula mamária abdominal caudal – A2
- Glândula mamária inguinal – I

Figura 1- Esquema para identificação das glândulas mamárias nas cadelas estudadas, de acordo com a abreviatura utilizada neste estudo

3.2 CONTENÇÃO QUÍMICA

3.2.1 Grupo Piloto

O seguinte protocolo foi adotado em 3 animais para contenção química: administração intramuscular de 1 mg/Kg de diazepam (Diazepam[®] 10 mg - SIGMA FARMA S/A, Indústria Brasileira) associado na mesma seringa a 3 mg/Kg de cloridrato de ketamina (Vetanarcol[®] 5 % - KÖNIG S/A, Indústria Argentina), 15 minutos após a sedação obtida pela administração intra-muscular de 0,1 mg/Kg de Acepramazina (Acepran[®] 0,2 % - UNIVET S/A. Indústria Brasileira).

Nos outros 2 animais, utilizamos a mesma sedação, entretanto, a associação anestésica foi obtida pela administração intramuscular de 1 mg/Kg de cloridrato de Xilasina (Kensol[®] 2 % - KÖNIG S/A, Indústria Argentina) e 15 mg/Kg de cloridrato de ketamina (Vetanarcol[®] 5 % - KÖNIG S/A, Indústria Argentina).

3.2.2 Grupos 1 a 5

A manipulação dos animais para posicionamento sob a câmera de cintilação foi realizada 20 minutos após a administração intramuscular de 1 mg/Kg de cloridrato de Xilasina (Kensol[®] 2 % - KÖNIG S/A, Indústria Argentina) associado a 15 mg/Kg de cloridrato de ketamina (Vetanarcol[®] 5 % - KÖNIG S/A, Indústria Argentina), a qual foi precedida pela administração intramuscular de 0,1 mg/Kg de Acepramazina (Acepran[®] 0,2 % - UNIVET S/A. Indústria Brasileira).

3.3 CÂMERA DE CINTILAÇÃO

O estudo foi realizado na unidade experimental do Centro de Medicina Nuclear do Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, que conta com câmera de cintilação dedicada exclusivamente a trabalhos experimentais (Figura 2).

As imagens infocintilográficas foram adquiridas em câmera de cintilação modelo LEM, marca Siemens® (Siemens Ltda.), com colimador paralelo de baixa energia (Figura 3) e computador equipado com programa de aquisição e processamento de imagem (PIP – Portable Imaging Processing for Processing Images in Medicine v. 5.2, Leapfrog Technology Ltd., 1995).

O detector foi calibrado para fotopico de 140 KeV do [^{99m}Tc]tecnécio, com janela de 15 % de energia.

Figura 2 - Câmera de cintilação planar modelo LEM, marca Siemens® (Siemens Ltda.) (A), com colimador paralelo de baixa energia (B) e computador equipado (PIP – Portable Imaging Processing for Processing Images in Medicine v. 5.2, Leapfrog Technology Ltd., 1995) (C)

Figura 3 - Colimador paralelo de baixa energia, acoplado ao detector da Câmera de cintilação planar modelo LEM, marca Siemens® (Siemens Ltda.)

3.4 RADIOFÁRMACOS

3.4.1 Marcação dos radiofármacos

Aos conjuntos de reativos liofilizados de dextran-70 e metilenodifosfonado (MDP) foram adicionados, respectivamente, 0,74 GBq (20 mCi) e 3,7 GBq (100 mCi) de solução de Na [^{99m}Tc]O₄ em 2 mL solução fisiológica. O material foi incubado por 15 minutos à temperatura do ambiente (aproximadamente 26°C), fim dos quais estavam prontos para avaliação da eficiência de marcação e utilização.

3.4.2 Avaliação da eficiência de marcação

Uma gota do radiofármaco [^{99m}Tc]-dextran-70 foi aplicada a 1 cm da borda de uma tira de papel Whatman® 3MM CHR (1x8 cm) e esta foi colocada em um tubo de vidro contendo acetona. Após o solvente ter percorrido 7 cm de distância, o papel foi removido, secado e cortado em duas partes iguais de 4 cm. A radioatividade em cada uma das partes foi determinada, sendo que o produto marcado, ou a maior atividade, foi encontrada na origem. A eficiência foi determinada como a razão entre a atividade na origem e a atividade total da amostra.

Procedimento semelhante foi utilizado para o MDP, somente que foram utilizados dois sistemas cromatográficos, ou papel Whatman® 3MM CHR/acetona, para determinação da concentração da impureza [^{99m}Tc] O_4^- (no frente) e Whatman® 3MM CHR/solução NaCl 0,9%, para determinação da concentração da impureza [^{99m}Tc] O_2 (na origem). A eficiência de marcação foi calculada pela subtração da concentração das impurezas em termos de porcentagem total.

3.5 PROTEÇÃO RADIOLÓGICA

Durante o estudo, os profissionais envolvidos na manipulação dos animais, utilizaram avental de chumbo (Figura 4).

Após a administração do radiofármaco e durante o período entre as imagens, os animais foram mantidos em sala separada. Além disso, a urina e as fezes dos animais foram depositadas em recipientes de chumbo e acondicionadas até o decaimento total do radioisótopo utilizado, ou seja, 24 horas.

Figura 4 - Utilização de avental de chumbo (seta) para proteção radiológica

3.6 TÉCNICA LINFOCINTILOGRÁFICA

A técnica linfocintilográfica mamária utilizada neste estudo, foi definida segundo trabalhos realizados em mulheres (DECICCO *et al.*, 1998; KRYNYCKYI *et al.*, 2000 e PELOSI *et al.*, 2003), adotando-se adaptações de acordo com os resultados obtidos durante o estudo piloto.

Em cada um dos animais foi realizada a linfocintilografia de apenas uma glândula mamária.

3.6.1 **Administração do radiofármaco**

A dose de [^{99m}Tc]-dextran-70 para cada animal foi de 18,5 MBq (500 μCi), administrada utilizando-se agulha 25X7.

3.6.1.1 Grupo Piloto

Em 2 animais, o volume da dose foi de 0,8 ml, administrado em 4 injeções intraparenquimatosas peripapilares (0,2 ml cada), seguidas de massagem local durante 5 minutos.

Para os outros 3 animais, adotamos o volume de 0,4 ml, portanto, em cada injeção intraparenquimatosa peripapilar administramos 0,1 ml. Nestes animais, a massagem local não foi realizada e o local das injeções foi coberto com um pequeno pedaço algodão umedecido com álcool, para evitar o extravasamento do volume injetado.

3.6.1.2 Grupos 1 a 5

Foram realizadas quatro injeções intraparenquimatosas peripapilares do radiofármaco [^{99m}Tc]-dextran-70 (0,1 ml cada) perfazendo um total de 18,5 MBq (500 μCi), utilizando-se agulha 25X7.

Após a administração do radiofármaco, o local das injeções foi coberto com um pequeno pedaço algodão umedecido com álcool, para evitar o extravasamento do volume injetado.

3.6.2 Posicionamento dos animais

Os animais foram posicionados em decúbitos lateral e dorsal, para realização das projeções lateral e ventral, respectivamente.

Na projeção lateral, a glândula mamária a ser estudada foi posicionada o mais próximo possível do detector da câmera de cintilação. Portanto, quando a glândula mamária estava localizada no antímero lateral esquerdo, o animal foi posicionado em decúbito lateral direito, e quando a glândula estava localizada no antímero lateral direito, o animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo.

Em projeção ventral, os animais foram acomodados sobre suporte de espuma em formato de calha e a distância entre o animal e o colimador foi definida como a menor possível (Figura 5).

Figura 5 - Cadela em decúbito dorsal, sob câmera de cintilação, acomodada em suporte de espuma em formato de calha (seta menor), para obtenção de imagem linfocintilográfica em projeção ventral. Observa-se que o colimador foi posicionado o mais próximo possível do corpo do animal (seta maior)

3.6.3 Aquisição das imagens

A dimensão da matriz utilizada foi de 256x256 "pixels", sem efeito de magnificação ou interpolação.

O tempo de captação de cada uma das imagens foi de aproximadamente 5 minutos, totalizando 300.000 contagens.

3.6.3.1 Grupo Piloto

As seqüências de captação de imagens foram realizadas 5 minutos, uma hora e duas horas e após a administração do radiofármaco.

Em ambas as seqüências de captação, a aquisição das imagens foi realizada em sentido crânio-caudal, garantindo a aquisição de imagens de todo o corpo do animal.

3.6.3.2 Grupos 1 a 5

As seqüências de captação de imagens foram realizadas 5 minutos e uma hora após a administração do radiofármaco.

Em ambas as seqüências de captação, a aquisição das imagens foi realizada em sentido crânio-caudal, garantindo a realização de imagens de todo o corpo do animal.

3.6.4 Identificação dos linfonodos

A identificação dos linfonodos responsáveis pela drenagem de cada uma das glândulas mamárias foi possível mediante a utilização de técnicas que forneceram referenciais anatômicos, que não são obtidos apenas pela imagem linfocintilográfica.

Neste estudo, utilizamos três técnicas para a identificação topológica dos linfonodos:

Técnica 1:

Esta técnica foi utilizada nos 30 animais estudados.

A seringa utilizada para administração do radiofármaco [^{99m}Tc]-dextran-70, e, portanto, contendo volume residual, foi posicionada justamente sobre a região anatômica correspondente à imagem cintilográfica do linfonodo.

Desta forma, sob o colimador da câmera de cintilação (Figura 6), o animal foi posicionado em decúbitos lateral e dorsal, e a seringa serviu de guia para definirmos a sintopia do linfonodo, ou seja, seus referenciais anatômicos.

Figura 6 - Cão em decúbito lateral direito sob câmera de cintilação planar. Observa-se posicionamento da seringa com volume residual de radiofármaco para identificação topográfica do linfonodo

Técnica 2:

O contorno corpóreo foi obtido em 2 animais, imediatamente após a administração endovenosa de $[^{99m}\text{Tc}]\text{O}_4^-$ (pertechnetato) (Figura 7).

Figura 7 - Linfocintilografia da glândula mamária torácica caudal (T2) em projeção ventral, uma hora após a administração intraparenquimatosa de $[^{99m}\text{Tc}]$ -dextran-70 e imediatamente após a aplicação endovenosa de $[^{99m}\text{Tc}]\text{O}_4^-$ (pertecnetato). Observamos a imagem do linfonodo axilar próprio (Axp) e cervical superficial (Cs)

Técnica 3:

Em 3 animais em que a identificação do linfonodo não foi precisa apenas pela realização da técnica 1, realizamos a cintilografia óssea, 2 horas após administração endovenosa do radiofármaco $[^{99m}\text{Tc}]$ -metilenodifosfonado na dose 55,5 MBq e volume 2 mL (Figura 8).

Figura 8 - Escala de coloração “SPECTRUM”. Cintilografia óssea e linfocintilografia da glândula mamária torácica cranial (T1) em projeção ventral. Observa-se a sintopia do linfonodos axilares próprio (Axp) e acessório (Axa) e linfonodo esternal (Es)

A identificação dos linfocentros foi baseada na “Nômina Anatômica e Histológica e Embriológica” do “International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature And Authorized” (1994).

3.7 PROCESSAMENTO DA IMAGEM

Após a escolha pela escala de coloração, o “ROI” (“region of interest” ou região de interesse) foi traçado na opção “free hand” (ou “mão livre”) ao redor da imagem de cada linfonodo.

A região de interesse da seringa foi traçada na opção “retangular” (Figura 9).

Em cada área traçada, obteve-se a média do número de “pixels”, contabilizados pelo “ROI Manager” (ImageJ[®]), valor este que foi considerado para o cálculo do número total de contagens.

Figura 9 - Imagem linfocintilográfica em projeção ventral representando a delimitação da região de interesse (“ROI”) para quantificação do número de contagens da imagem da glândula torácica cranial (T1), do linfonodo axilar próprio (Axp) e do volume residual da seringa

3.7.1 Grupo piloto

O processamento das imagens foi realizado pelo programa ImageJ[®], escala de coloração “ICE”, “FIRE” e “SPECTRUM” (Figura 10), com o objetivo de determinar qual seria a coloração em que seria possível a obtenção do maior número de contagens na imagem de cada linfonodo.

3.7.2 Grupo 1 a 5

O processamento das imagens foi realizado pelo programa ImageJ®, escala de coloração “ICE” (Figura 11).

Figura 10 - Escalas de coloração utilizadas para o processamento das imagens linfocintilográficas do grupo piloto. “ICE” (A), “FIRE” (B) E “SPECTRUM” (C)

Figura 11 - Linfocintilografia da glândula mamária T1 em projeção ventral. Escala de coloração ICE

3.7.3 Avaliação funcional dos linfonodos

Durante a aquisição de cada uma das imagens, a seringa foi posicionada sob a câmera de cintilação de forma a garantir a obtenção da imagem linfocintilográfica mamária juntamente com a imagem da seringa com volume residual do radiofármaco injetado (Figura 12).

A seringa foi posicionada na altura da glândula mamária injetada, sem se sobrepor ao corpo do animal. Este posicionamento foi possível pela utilização de suporte de ferro (Figura 13).

Figura 12 - Animal em decúbito dorsal para realização de imagem linfocintilográfica em projeção ventral (ilustração A). Observa-se posicionamento da seringa com volume residual do radiofármaco sob a câmera de cintilação planar. Na ilustração B, observamos a imagem cintilográfica formada pela emissão radioativa do volume residual da seringa, a imagem da região da glândula mamária onde foi injetado o radiofármaco (T2) e a imagem do linfonodo axilar próprio (Ax, circulado)

Figura 13 - Suporte de ferro (A) utilizado para fixação da seringa sob a câmera de cintilação. Seringa fixada pelo dispositivo do suporte de ferro (B)

Os valores de massa da seringa vazia, cheia e com volume residual foram obtidos pela utilização da Balança Mettler AE200 (Creifensee Switzerland).

A massa da dose administrada na glândula mamária foi calculada pela subtração entre a massa da seringa cheia e a massa da seringa com volume residual (peso da seringa após a administração do volume).

O valor da massa do volume residual foi calculado pela subtração entre a massa da seringa com volume residual e a massa da seringa vazia.

Desta forma, o número de contagens do volume residual, obtido pelo processamento da imagem, foi correlacionado à massa deste volume, o que nos permitiu estimar o número de contagens do volume administrado na glândula mamária.

Esta correlação entre a massa e número de contagens nos permitiu realizar cálculos quantitativos da função de cada linfonodo.

O número de contagens da glândula mamária injetada, de cada linfonodo que drenou esta glândula e de outras regiões foi transformado em valor percentual, uma vez que a correlação entre massa e número de contagens nos permitiu estimar o número de contagens total do volume injetado, ou seja, 100 % (Apêndice B).

Os valores utilizados para a avaliação funcional gráfica dos linfonodos responsáveis pela drenagem das glândulas mamárias torácicas craniais e caudais e abdominais caudais foram obtidos pelo processamento em projeção ventral, enquanto que para as glândulas mamárias abdominais caudais e inguinais, optamos pelas imagens em projeção lateral.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os animais foram divididos em 5 grupos, de acordo com a glândula mamária estudada. Desta forma, foram calculados o número mediano de linfonodos e linfocentros que participaram da drenagem mamária de cada grupo.

Para cada um dos linfocentros foi calculada a porcentagem de participação na drenagem das glândulas mamárias.

O valor percentual da dose administrada na glândula mamária e que foi drenado pelos linfonodos também foi calculado.

Os resultados foram submetidos à análise estatística descritiva, entretanto, aplicamos o teste de Wilcoxon, efetuado pelo programa SAS, para sabermos qual foi o principal linfocentro responsável pela drenagem de cada uma das glândulas mamárias.

Os valores da taxa de drenagem total de cada glândula mamária e da taxa de drenagem de cada linfocentro foram correlacionados calculando-se o coeficiente de correlação de Pearson (nível de significância 0,5%), efetuado pelo programa Bioestat 3.0.

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

O roteiro de investigação foi essencial para a interpretação após o processamento, pois nos permitiu identificar o posicionamento do animal no momento da aquisição de cada uma das imagens.

Além disso, a identificação e observações descritas no roteiro foram essenciais para a padronização da técnica, nos permitindo, inclusive, identificar artefatos.

4.2 CONTENÇÃO QUÍMICA

A produção de secreção nasal observada após a anestesia obtida pela associação do cloridrato de ketamina (Vetanarcol[®] 5 % - KÖNIG S/A, Indústria Argentina) ao diazepam produziu efeitos indesejáveis durante a aquisição das imagens, devido aos espirros conseqüentes apresentados pelos animais.

O protocolo de associação do cloridrato de Xilasina (Kensol[®] 2 % - KÖNIG S/A, Indústria Argentina) ao cloridrato de ketamina (Vetanarcol[®] 5 % - KÖNIG S/A, Indústria Argentina) manteve os animais imóveis durante a aquisição das imagens de maneira satisfatória.

4.3 EFICIÊNCIA DE MARCAÇÃO DO [^{99m}Tc]-DEXTRAN-70

Os valores referentes à eficiência de marcação do dextran pelo [^{99m}Tc] foram sempre maiores que 98%.

4.4 CAPTAÇÃO DO [^{99m}Tc]-DEXTRAN-70

4.4.1 Grupo piloto

O [^{99m}Tc]-dextran-70 foi captado pelos vasos linfáticos e linfonodos, porém houve captação hepática, identificada em imagens obtidas uma hora após a administração deste radiofármaco.

4.4.2 Grupos 1 a 5

Em 9 (36 %) animais dos grupos 1 a 5 foi possível identificar captação hepática uma hora após a administração do [^{99m}Tc]-dextran-70, além da captação na glândula mamária, vasos linfáticos e linfonodos (Figura 14).

A captação hepática foi observada uma hora após a administração do radiofármaco em uma (20%) glândula mamária torácica cranial, 3 (60%) glândulas mamárias torácicas caudais, uma (20%) glândula mamária abdominal cranial e 4 (80 %) glândulas mamárias abdominais caudais (Tabela 1).

Figura 14 - Linfocintilografia mamária da glândula abdominal caudal (A2) em projeção lateral. Observamos marcação da glândula mamária abdominal cranial (A1), do fígado (setas) e do linfonodo axilar próprio (Axp)

Tabela 1 - Marcação hepática uma hora após a administração peripapilar intra-parenquimatosa de [^{99m}Tc]-dextran-70, realizada para linfocintilografia em cadelas. São Paulo, 2005

GLÂNDULA MAMÁRIA	ANIMAL	MARCAÇÃO HEPÁTICA
T1	1	-
	2	-
	3	-
	4	-
	5	+
	6	-
T2	7	+
	8	+
	9	+
	10	-
A1	11	-
	12	-
	13	-
	14	-
	15	+
	16	+
	17	+
	18	+
A2	19	+
	20	-
I	21	-
	22	-
	23	-
	24	-
	25	-

4.5 TÉCNICA DE ADMINISTRAÇÃO DO RADIOFÁRMACO

4.5.1 Grupo piloto

Durante o estudo piloto, a dose foi administrada em volume de 0,8 ml e 0,4 ml, sendo que este último ofereceu menor área de sobreposição da imagem da glândula mamária aos linfonodos próximos a ela.

A realização de massagem logo após a administração do radiofármaco provocou espalhamento do radiofármaco injetado na glândula mamária (Figura 15).

Nos 3 animais em que não foi realizada a massagem posteriormente à administração do radiofármaco, observamos que logo na primeira linfocintilografia já havia imagem do linfonodo.

Figura 15- Linfocintilografias mamárias em projeção ventral. Na imagem “A” observamos que houve espalhamento do radiofármaco, uma consequência da massagem realizada após a administração do radiofármaco. A imagem “B” demonstra que não houve espalhamento do radiofármaco, uma vez que não foi realizada massagem local.

4.5.2 **Grupos 1 a 5**

Em todos os animais não foi procedida massagem após a administração do radiofármaco e a imagem de linfonodos foi identificada logo na primeira imagem em 92% dos animais.

4.6 IDENTIFICAÇÃO DOS VASOS LINFÁTICOS

A identificação linfocintilográfica dos vasos linfáticos aferentes foi possível em 19 (76 %) animais e dos vasos linfáticos eferentes em 14 (56 %) animais (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de vasos linfáticos aferentes e eferentes identificados na linfocintilografia mamária de fêmeas da espécie canina. São Paulo, 2005

ANIMAL	NÚMERO DE VASOS LINFÁTICOS		LINFONODOS COM VASO EFERENTE
	AFERENTES	EFERENTES	
1	1	3	Axp, Axa, Es
2	1	3	Axp, Axa, Es
3	1	1	Axp
4	1	1	Axp
5	2	1	Axp
6	1	1	Axp
7	-	1	Axp
8	1	1	Axp
9	2	1	Axa
10	1	-	-
11	1	-	-
12	1	-	-
13	1	-	-
14	4	-	-
15	1	-	-
16	1	1	ls
17	2	1	ls
18	1	2	ls, lp
19	2	2	ls, lp
20	1	-	-
21	-	-	-
22	-	1	lp
23	1	-	-
24	-	-	-
25	-	-	-

4.6.1 Identificação de comunicações e anastomoses linfáticas

A comunicação linfática entre linfonodos foi identificada na imagem linfocintilográfica da glândula mamária de 11 (44 %) animais (Tabela 3).

A técnica linfocintilográfica do presente estudo não nos permitiu identificar comunicações linfáticas entre glândulas mamárias.

Nas linfocintilografias das glândulas mamárias torácicas cranial e caudal e abdominal cranial, as comunicações linfáticas envolveram os linfonodos axilar próprio e acessório. Durante o estudo da glândula mamária torácica cranial de 1 animal, identificamos comunicação linfática entre os linfonodos axilar próprio e cervical superficial.

A comunicação entre os linfonodos inguinal superficial e profundo foi identificada em 4 (80 %) linfocintilografias da glândula mamária abdominal caudal e em uma (20 %) linfocintilografia da glândula mamária inguinal.

Além disso, o vaso eferente do linfonodo inguinal profundo se comunicou com o linfonodo ilíaco medial durante a drenagem de uma (20%) glândula mamária inguinal.

A identificação de comunicações entre linfonodos foi mais freqüente para as glândulas mamárias torácicas craniais (80%).

As glândulas mamárias abdominais craniais foram drenadas apenas pelo linfonodo axilar próprio, portanto, não foram identificadas comunicações linfáticas entre linfonodos para esta glândula mamária.

Neste estudo, não identificamos comunicações linfáticas contralaterais entre linfonodos ou glândulas mamárias.

A identificação de anastomoses entre vasos linfáticos aferentes foi possível na imagem linfocintilográfica de 3 (12 %) animais (Figura 16).

Tabela 3 - Linfonodos que apresentaram comunicação linfática. Identificação realizada durante a linfocintilografia mamária de cadelas. São Paulo, 2005

GLÂNDULA MAMÁRIA	ANIMAL	LINFONODOS
T1	1	Axp e Axa
	2	Axp e Axa
	3	Axp e Cs
	4	Axp e Axa
	5	-
T2	6	-
	7	-
	8	-
	9	Axp e Axa
	10	-
A1	11	-
	12	-
	13	-
	14	-
	15	Axp e Axa
A2	16	Is e Ip
	17	Is e Ip
	18	Is e Ip; Cs ₁ e Cs ₂
	19	Is e Ip; Is e Is
	20	-
I	21	-
	22	Is e Ip; Ip e Im
	23	-
	24	-
	25	-

Figura 16 - Linfocintilografia da glândula mamária abdominal caudal (A2), em projeção ventral. A seta indica anastomoses entre os vasos linfáticos aferentes. Observamos imagem do linfonodo inguinal superficial (Is)

4.7 IDENTIFICAÇÃO DOS LINFONODOS

O imagem cintilográfica do linfonodo esternal foi identificada em 8 animais, entretanto, em 6 (75%) animais, esta imagem foi observada apenas em projeção ventral, pois, em projeção lateral, houve sobreposição de radiação da glândula mamária torácica cranial ou do linfonodo axilar próprio (Figura 17).

A obtenção de imagens em projeções ventral e lateral também foi importante para a identificação do linfonodo inguinal profundo, pois a identificação topológica deste linfonodo não foi possível em projeção ventral (Figura 18).

Devido a localização do linfonodo inguinal superficial justamente dorsal à glândula mamária inguinal, em 2 (40 %) linfocintilografias não foi possível identificá-lo em projeção ventral (Figura 19).

O mapeamento ósseo (Figura 20) foi eficaz para a identificação topológica do linfonodo de todos os animais em que esta técnica foi procedida.

Figura 17 - Linfocintilografias da glândula mamária torácica cranial (T1). Em projeção lateral (A) observamos a sobreposição da radiação do linfonodo axilar próprio (Axp) ao linfonodo esternal cranial (Ecr - delimitado por um círculo). Em projeção ventral (B), a imagem do linfonodo esternal cranial ficou evidente, livre de sobreposições

Figura 18 - Linfocintilografias da glândula mamária abdominal caudal (A2). Em projeção lateral (A) observamos a imagem do linfonodo inguinal profundo (IP). Em projeção ventral (B) foram identificados apenas a glândula abdominal caudal (A2) e o linfocentro inguinal superficial (delimitado pelo quadrado), devido a sobreposição de radiação da glândula mamária A2 ao linfonodo inguinal profundo

Figura 19 - Imagem linfocintilográfica da glândula mamária inguinal (I) em projeção ventral uma hora após a administração do radiofármaco [^{99m}Tc]-dextran-70. A radiação da glândula mamária inguinal (I) sobrepõe-se ao linfonodo inguinal

Figura 20 - Imagem linfocintilográfica da glândula mamária torácica caudal, 2 horas após a administração endovenosa de [^{99m}Tc]-metilenodifosfonado para cintilografia óssea. Identificamos a imagem do linfocentro torácico ventral, representado pelo linfonodo esternal cranial (ECr), devido a sua sintopia com o osso esterno em projeções ventral (à esquerda) e lateral (à direita)

4.7.1 Diferenciação entre artefato de técnica e imagens correspondentes a linfonodos

A não utilização de algodão sobre o local de extravasamento do volume injetado somado à contaminação da luva utilizada para massagem do local de injeção provocou artefatos que poderiam ter sido confundidos com imagens de linfonodos.

A diferenciação entre artefatos e imagem de linfonodos foi possível devido às observações do roteiro de investigação, as quais referiram extravasamento do volume injetado nestes animais.

A diferença encontrada entre a imagem de artefatos deste tipo e imagem de linfonodos também foi possível após o processamento das imagens e contagem da região em diferentes tempos.

O número de contagem no linfonodo é crescente ou decrescente de acordo com o tempo, enquanto que para as imagens conseqüentes da contaminação (artefatos), o número de contagens foi o mesmo nas imagens de 5 minutos ou uma hora após a administração do radiofármaco.

Outro artefato de imagem identificado foi a sobreposição de vasos linfáticos ou dilatação de vasos linfático, que produziram uma imagem semelhante à imagem de um linfonodo.

A diferenciação entre a sobreposição e o linfonodo foi possível comparando-se as imagem linfocintilográficas em projeção lateral e ventral (Figura 21).

Figura 21- Linfocintilografia mamária em projeção lateral (A) e ventral (B). Observamos que a sobreposição de vasos poderia ser confundida com imagem de linfonodo, porém, em projeção ventral (B) esta sobreposição não ocorre e a imagem de apenas um linfonodo é identificada

4.8 PARTICIPAÇÃO DOS LINFOCENTROS E LINFONODOS NA DRENAGEM LINFÁTICA DAS GLÂNDULAS MAMÁRIAS

O número de linfocentros e linfonodos identificados nas imagens linfocintilográficas (Tabela 4 e 5), variou de 1 a 7, sendo 2 o valor mediano do número de linfocentros para as glândulas mamárias torácica caudal, abdominal caudal e inguinal (Tabela 6).

O valor mediano do número de linfonodos foi 3 para a glândula mamária torácica cranial e 1 para as glândulas abdominais craniais.

A participação de linfonodos intra-cavitários (intra-torácicos ou intra-abdominais) foi observada em 17 dos 25 animais estudados (68 %), sendo que em todas as linfocintilografias da glândula mamária torácica cranial a imagem do linfonodo esternal cranial (intra-torácico) foi identificado.

O linfonodo esternal cranial também participou da drenagem de 3 (60 %) glândulas mamárias torácicas caudais e o linfonodo intra-abdominal inguinal profundo participou da drenagem de 3 (60 %) glândulas mamárias inguinais.

Em 4 (80 %) glândulas mamárias abdominais caudais observamos a participação do linfonodo inguinal profundo (intra-abdominal) (Tabela 7).

Durante a linfocintilografia de uma glândula mamária abdominal cranial, identificamos a imagem de um linfonodo intra-abdominal, porém, não foi possível sua identificação topológica, pois esta imagem não foi apareceu novamente nas imagens tardias.

Tabela 4 - Número de linfonodos participantes nos respectivos linfocentros identificados na linfocintilografia das glândulas mamárias de cadelas. São Paulo, 2005

GLÂNDULA MAMÁRIA	ANIMAL	LINFOCENTRO						
		CS	TV	M	Ax	ISa	IP	IS
T1	1	-	1	-	2	-	-	-
	2	-	1	-	2	-	-	-
	3	1	1	-	1	-	-	-
	4	-	3	-	2	-	-	-
	5	1	1	-	1	-	-	-
	6	-	-	-	1	-	-	-
T2	7	-	-	-	1	-	-	-
	8	-	1	-	2	-	-	-
	9	-	1	-	2	-	-	-
	10	-	1	-	1	-	-	-
A1	11	-	-	-	1	-	-	-
	12*	-	-	-	1	-	-	-
	13	-	-	-	1	-	-	-
	14	-	-	-	1	-	-	-
	15	-	-	-	2	-	-	-
	16	-	-	-	-	-	1	1
A2	17	-	-	-	-	-	1	1
	18	3	-	-	-	-	3	1
	19	-	-	1	-	-	1	3
	20	-	-	-	-	-	-	1
I	21	-	-	-	-	-	-	1
	22	-	-	-	-	1	1	1
	23	-	-	-	-	-	1	1
	24	-	-	-	-	-	-	1
	25	-	-	-	-	-	1	1

Nota: (*) observamos imagem linfocintilográfica de linfonodo intra-abdominal, porém não foi possível identificá-lo

Tabela 5 - Linfocentros e linfonodos identificados nas linfocintilografias das glândulas mamárias de cadelas. São Paulo, 2005

GLÂNDULA MAMÁRIA	ANIMAL	LINFOCENTROS	LINFONODOS
T1	1	Ax e TV	Axa. Axp e ECr
	2	Ax e TV	Axa. Axp e ECr
	3	CS, Ax e TV	Cs, Axp e ECr
	4	Ax e TV	Axp, Axa, ECr e 2ECd
	5	CS, Ax e TV	Cs, Axp e ECr
	6	Ax	Axp
T2	7	Ax	Axp
	8	Ax e TV	Axp, Axa e ECr
	9	Ax e TV	Axp, Axa, ECr
	10	Ax e TV	Axp e ECr
A1	11	Ax	Axp
	12*	Ax	Axp
	13	Ax	Axp
	14	Ax	Axp
	15	Ax	Axp e Axa
	16	IS e IP	Is e Ip
A2	17	IS e IP	Is e Ip
	18	CS, IS e IP	3Cs, 1Is e 3Ip
	19	M, IS e IP	Mcr, 3Is e Ip
	20	IS	Is
I	21	IS	Is
	22	IS, IP e ISa	Is, Ip e Im
	23	IS e IP	Is e Ip
	24	IS	Is
	25	IS e IP	Is e Ip

Nota: (*) observamos linfonodo intra-abdominal

Tabela 6 - Valor mediano do número de linfocentros e linfonodos identificados nas linfocintilografias das glândulas mamárias de cadelas. São Paulo, 2005

GLÂNDULA MAMÁRIA	NÚMERO MEDIANO	
	LINFOCENTROS	LINFONODOS
T1	2	3
T2	2	2
A1	1	1
A2	2	2
I	2	2

Tabela 7 - Participação relativa de linfocentros intra-cavitários (intra abdominais ou intra-torácicos) em cada uma das glândulas mamárias estudadas. São Paulo, 2005

GLÂNDULA MAMÁRIA	PARTICIPAÇÃO RELATIVA DE LINFONODO INTRA-CAVITÁRIO
T1	5/5
T2	3/5
A1	1/5
A2	4/5
I	4/5

4.8.1 Glândula Mamária Torácica Cranial

Todas as glândulas mamárias torácicas craniais foram drenadas pelos linfocentros torácico ventral e axilar.

A participação do linfocentro axilar foi representada simultaneamente pelos linfonodos axilares próprio e acessório em 3 (60 %) animais.

Na linfocintilografia de uma (20%) das glândulas torácicas craniais, o linfocentro torácico ventral representado por 3 linfonodos esternais, um cranial e 2 caudais (Figura 22).

O linfonodo cervical superficial foi identificado na linfocintilografia de 2 (40 %) glândulas torácicas craniais (Figura 23).

Figura 22 - Linfocintilografia da glândula mamária torácica cranial (T1), em projeção ventral. Observamos a imagem linfocintilográfica dos linfonodos axilar próprio (Axp), axilar acessório (Axa) e esternais cranial (ECr) e caudal (ECd)

Figura 23 - Cintilografia óssea e linfocintilografia mamária da glândula mamária torácica cranial (T1), em projeção lateral. Cranialmente à articulação escapulo-umeral identificamos o linfonodo cervical superficial (Cs) e caudalmente o linfonodo axilar próprio (Axp)

4.8.2 **Glândula Mamária Torácica Caudal**

As glândulas mamárias torácicas caudais foram drenadas simultaneamente pelos linfocentros axilar e torácico ventral em 3 (60 %) animais, sendo que o linfocentro torácico ventral foi representado por apenas um linfonodo esternal cranial.

Os linfonodos axilares próprio e acessório participaram, simultaneamente, da vascularização linfática da glândula mamária torácica caudal em 2 (40 %) animais.

4.8.3 **Glândula Mamária Abdominal Cranial**

O linfocentro axilar foi identificado na linfocintilografia de todas as glândulas mamárias abdominais craniais estudadas, tendo como único representante o linfonodo axilar próprio em 4 (80 %) dos cinco animais em que esta glândula foi estudada.

O linfonodo axilar acessório participou da vascularização linfática da glândula mamária abdominal cranial em apenas um (20 %) animal (Figura 24).

Em 1 (20 %) do animal, em projeção ventral, observamos a imagem de um linfonodo intra-abdominal localizado caudal e medialmente à glândula mamária abdominal cranial, porém não foi possível identificá-lo, pois nas imagens tardias este não foi observado novamente (Figura 25).

Figura 24 - Linfocintilografia da glândula mamária abdominal cranial (A1) em projeção ventral. Observamos a participação simultânea de 2 linfonodos axilares próprio (Axp) e acessório (Axa)

Figura 25 - Linfocintilografia da glândula mamária abdominal cranial (A1), em projeção ventral. Opção de processamento "Spectrum". Observamos imagem do linfonodo intra-abdominal próximo a A1 (Ia)

4.8.4 **Glândula Mamária Abdominal Caudal**

Os linfocentros inguinais superficial e profundo participaram da drenagem de 4 (80 %) glândulas mamárias abdominais caudais.

A participação exclusiva do linfocentro inguinal superficial foi observada para uma (20 %) das glândulas mamárias abdominais caudais.

Em 3 (60 %) estudos linfocintilográficos da glândula mamária abdominal caudal identificamos apenas um linfonodo inguinal superficial, enquanto que em 2 (40 %) linfocintilografias estes linfonodos foram em número de 2 e 3 (Figura 26).

Quanto ao linfocentro inguinal profundo, em uma (20 %) linfocintilografia da glândula mamária abdominal caudal, este linfocentro foi representado por três linfonodos inguinais profundos (Figura 27).

Em apenas uma (20 %) glândula mamária observamos a participação do linfocentro cervical superficial simultaneamente aos linfocentros inguinais superficial e profundo.

A participação conjunta dos linfocentros mediastínico e inguinais superficial e profundo foi observada em uma (20 %) das glândulas mamárias abdominais caudais.

Figura 26 - Linfocintilografia da glândula mamária abdominal caudal (A2). Observamos 3 linfonodos inguinais superficiais (setas)

Figura 27 - Linfocintilografia da glândula mamária abdominal caudal em projeção lateral. Observamos 3 linfonodos inguinais profundos (Ip) participando da vascularização linfática

4.8.5 Glândula Mamária Inguinal

Em 2 (40%) animais, o linfocentro inguinal superficial não foi identificado em uma das projeções (ventral ou lateral) devido a sobreposição da radiação da glândula mamária inguinal (Figura 28).

O linfocentro inguinal superficial drenou todas as glândulas mamárias inguinais, sendo que em 3 (60 %) destas glândulas houve participação simultânea do linfocentro inguinal profundo.

O linfocentro ílio sacral (linfonodo ilíaco medial) foi identificado na linfocintilografia de uma (20 %) glândula mamária inguinal, simultaneamente aos linfocentros inguinais superficial e profundo.

Em 2 (40%) animais, identificamos a participação exclusiva do linfocentro inguinal superficial.

Figura 28 - Linfocintilografia da glândula mamária inguinal (I) em projeção ventral. Observamos sobreposição da glândula mamária inguinal ao linfocentro inguinal superficial (Is)

4.9 AVALIAÇÃO FUNCIONAL DOS LINFONODOS RESPONSÁVEIS PELA DRENAGEM LINFÁTICA MAMÁRIA

O protocolo linfocintilográfico utilizado neste estudo, associado ao processamento das imagens e aos cálculos percentuais realizados, possibilitou a caracterização funcional dos linfonodos na drenagem das glândulas mamárias.

4.9.1 Grupo piloto

Durante o estudo piloto, observamos que a quantidade de radiofármaco drenado pelo linfonodos manteve-se praticamente inalterada comparando-se imagens captadas uma hora, 2 horas e 3 horas após a administração do radiofármaco, exceto pelo decaimento esperado do radioisótopo.

A escala de coloração “ICE” foi considerada a melhor opção para o processamento das imagens, pois foi mais sensível para a detecção da radiação drenada pelo linfonodo, o que resultou em maior número de contagens durante a delimitação da região de interesse (“ROI”).

4.9.2 Grupos 1 a 5

Após calcularmos o valor percentual da dose de radiofármaco no linfonodo, referente às imagens obtidas 5 minutos e uma hora após administração do ^{99m}Tc -dextran-70, estes valores foram utilizados para a elaboração de uma curva gráfica que expressou a cinética da drenagem de cada linfonodo (Tabela 8).

A curva cinética do linfonodo axilar próprio foi crescente em 10 (66,67 %) animais em que este linfonodo participou da vascularização linfática e para o linfonodo axilar acessório a curva foi crescente em 2 (33,33 %) animais em que participou da drenagem da glândula mamária.

O linfonodo cervical apresentou curva cinética crescente nos 2 animais em que participou da vascularização linfática mamária e o linfonodo esternal cranial apresentou curva crescente em 3 animais (60%).

O linfonodo esternal cranial apresentou curva cinética decrescente para a drenagem de uma (33,33%) glândula mamária torácica caudal.

A curva dos linfonodos mediastínico cranial inguinal superficial foram sempre decrescentes.

Em todas as glândulas mamárias abdominais caudais e inguinais, a curva funcional do linfonodo inguinal superficial foi crescente.

O mesmo ocorreu para o linfonodo inguinal profundo de 6 animais (85,71%) em que este participou da drenagem mamária.

Observamos que taxa percentual máxima de captação dos linfonodos variou entre os animais, porém a maior parte da dose administrada nas glândulas torácicas craniais e caudais e abdominais craniais foi encontrada nos linfonodos axilares e a

maior parte da dose administrada nas glândulas abdominais caudais e inguinais foi encontrada no linfonodo inguinal profundo (Tabela 9).

As curvas cinéticas que representam a chegada do radiofármaco ao linfonodo comportaram-se de forma diferente para cada animal ou glândula mamária (gráficos 1 a 14).

Tabela 8 - Comportamento da cinética funcional dos linfonodos mamários avaliados pelo processamento da imagem linfocintilográficas mamárias de cadelas. São Paulo, 2005

GLÂNDULA MAMÁRIA	ANIMAL	LINFONODO						
		CS	ES	MCR	AXP	AXA	IP	IS
T1	1	-	↑	-	↓	↓	-	-
	2	-	↑	-	↑	↓	-	-
	3	↑	↑	-	↓		-	-
	4	-	↑	-	↑	↑	-	-
	5	↑	↑	-	↑	-	-	-
	6	-	-	-	↑	-	-	-
T2	7	-	-	-	↑	-	-	-
	8	-	↑	-	↓	↓	-	-
	9	-	↓	-	↑	↑	-	-
	10	-	↑	-	↓	-	-	-
A1	11	-	-	-	↑	-	-	-
	12	-	-	-	↑	-	-	-
	13	-	-	-	↑	-	-	-
	14	-	-	-	↓	-	-	-
	15	-	-	-	↑	↑	-	-
	16	-	-	-	-	-	↓	↑
A2	17	-	-	-	-	-	↑	↑
	18	↑	-	-	-	-	↑	↑
	19	-	-	↓	-	-	↑	↑
	20	-	-	-	-	-	-	↑
I	21*	-	-	-	-	-	-	-
	22**	-	-	-	-	-	↑	↑
	23	-	-	-	-	-	↑	↑
	24*	-	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	↑	↑

Nota: (*) A sobreposição da imagem da glândula mamária inguinal ao linfonodo inguinal superficial impediu a análise funcional do linfonodo.
 (**) A imagem do linfonodo ilíaco medial foi identificada em apenas uma imagem, portanto, não foi possível a construção da curva cinética.
 ↑ A quantidade de radiofármaco no linfonodo foi crescente durante o período referente a primeira e última imagens
 ↓ A quantidade de radiofármaco no linfonodo foi decrescente durante o período referente a primeira e última imagens

Tabela 9 - Taxa percentual da máxima captação de radiofármaco pelos linfocentros durante a linfocintilografia das glândulas mamárias em cadelas. São Paulo, 2005

GLÂNDULA MAMÁRIA	ANIMAL	LINFOCENTRO					
		CS	TV	M	Ax	IP	IS
T1	1	-	0,14	-	17,03	-	-
	2	-	2,63	-	7,58	-	-
	3	0,7	0,15	-	0,76	-	-
	4*	-	17,42	-	6,43	-	-
	5	1,58	0,23	-	2,9	-	-
	6	-	-	-	2,66	-	-
T2	7	-	-	-	2,19	-	-
	8	-	0,18	-	19,19	-	-
	9	-	0,01	-	23,57	-	-
	10	-	0,06	-	1,61	-	-
A1	11	-	-	-	1,84	-	-
	12	-	-	-	3,36	-	-
	13	-	-	-	2,8	-	-
	14	-	-	-	14,03	-	-
	15	-	-	-	5,06	-	-
	16	-	-	-	-	1,35	9,71
A2	17	-	-	-	-	1,67	24,06
	18	0,5	-	-	-	1,51	9,52
	19	-	-	-	-	1,66	15,61
	20	-	-	0,61	-	-	0,46
I	21**	-	-	-	-	-	-
	22	-	-	-	-	2,23	5,49
	23	-	-	-	-	0,12	0,46
	24**	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	0,2	2,29

4.9.2.1 Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela drenagem da glândula mamária torácica cranial

Gráfico 1 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar próprio entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária torácica cranial

Gráfico 2 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar acessório entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária torácica cranial

Gráfico 3 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo esternal cranial entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária torácica cranial

Gráfico 4 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo cervical superficial entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária torácica cranial

4.9.2.2 Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela glândula mamária torácica caudal

Gráfico 5 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar próprio entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária torácica caudal

Gráfico 6 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar acessório entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária torácica caudal

Gráfico 7 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo esternal cranial entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária torácica caudal

4.9.2.3 Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela glândula mamária abdominal cranial

Gráfico 8 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar próprio entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária abdominal cranial

Gráfico 9 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo axilar acessório entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária abdominal cranial

4.9.2.4 Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela glândula mamária abdominal caudal

Gráfico 10 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo inguinal superficial entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária abdominal caudal

Gráfico 11 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo inguinal profundo entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária abdominal caudal

Gráfico 12 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo mediastínico cranial entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária abdominal caudal

4.9.2.5 Análise funcional dos linfonodos responsáveis pela glândula mamária inguinal

Gráfico 13 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo inguinal superficial entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária inguinal

Gráfico 14 - Curva cinética da quantidade percentual do radiofármaco no linfonodo inguinal profundo entre a primeira e a última imagem linfocintilográfica da glândula mamária inguinal

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O número mediano de linfonodos variou de 1 a 3 e o número mediano de linfocentros foi 2, exceto para a glândula abdominal cranial, que foi drenada por apenas um linfocentro.

O valor percentual da dose administrada na glândula mamária e que foi drenado pelos linfonodos variou de 0,01 a 23,57.

De acordo com o teste de Wilcoxon, efetuado pelo programa SAS, o principal linfocentro responsável pela drenagem da glândula mamária torácica cranial foi o Axilar, embora a participação do linfocentro Torácico Ventral também tenha sido significativa.

Para as glândulas torácicas caudal e abdominal cranial o principal linfocentro foi o axilar e para as glândulas abdominal caudal e inguinal o principal linfocentro foi o inguinal superficial.

O coeficiente de correlação de Pearson (nível de significância 0,5%), efetuado pelo programa Bioestat 3.0 para correlação dos valores da taxa de drenagem total de cada glândula mamária e da taxa de drenagem de cada linfocentro, variou de -0,4308 a 0,9981.

A correlação entre as taxas de drenagem total da glândula mamária torácica cranial e drenagem de cada linfocentros foi positiva para os linfocentros torácico ventral (0,7483) e axilar (0,64), porém foi negativa para o linfocentro cervical superficial (-0,4308).

Nas linfocintilografia das glândulas mamárias torácicas craniais não foram identificados os linfocentros mediastínico e inguinais superficial e profundo, portanto

não foi encontrada correlação entre a taxa de drenagem total desta glândula e destes linfocentros.

Em 2 animais, o linfocentro torácico ventral não participou da drenagem da glândula mamária torácica caudal, portanto, não foi possível aplicar o teste de correlação para os resultados desta glândula, uma vez que nestes dois animais a taxa de drenagem total da glândula mamária correspondeu exatamente à taxa de drenagem do linfocentro axilar.

No caso da glândula abdominal cranial, toda a dose que foi drenada da glândula mamária foi para o linfocentro axilar.

A correlação entre as taxas de drenagem dos linfocentros inguinais superficial (0,7596;0,9718) e profundo (0,9981;0,9953) também foi positiva para as glândulas abdominal caudal e inguinal.

A taxa de drenagem dos linfocentros cervical superficial, torácico ventral, mediastínico e axilar não se correlacionaram com a taxa de drenagem total das glândulas mamárias abdominais caudais e inguinais.

Discussão

5 DISCUSSÃO

A literatura não indica estudos que assinalem o valor percentual da drenagem realizada por cada linfonodo mamário de cadelas, portanto, os resultados percentuais obtidos no presente estudo poderão servir de base para estudos futuros, como por exemplo, a avaliação quantitativa da ação de fármacos ou afecções sobre o funcionamento linfático mamário ou linfoangiogênese.

Além disso, tais valores foram importantes para a identificação do principal linfonodo responsável pela drenagem de cada glândula mamária, que será o primeiro local de passagem ou fixação de células neoplásicas em animais acometidos por neoplasias mamárias.

Nos estudos *post mortem* não é possível a avaliação funcional, pois perde-se a influência dos fatores fisiológicos, entretanto, conforme foi observado por Baum (1918), a realização de técnica anatômica possibilita a identificação de comunicações linfáticas entre as glândulas mamárias, o que não foi possível nos animais em que realizamos a linfocintilografia.

A participação do linfonodo esternal na drenagem das glândulas abdominais craniais observada por Baum (1918) deve-se, provavelmente, às variações individuais existentes entre os animais. Nos animais estudados por nós, esta glândula foi drenada exclusivamente pelo linfocentro axilar.

Somando-se aos resultados de Baum (1918), a técnica linfocintilográfica utilizada por nós possibilitou a identificação de mais 3 linfonodos intra-cavitários (mediastínico cranial, intra-abdominal e ilíaco medial), além do linfonodo esternal.

Dos 16 (64%) animais em que observamos a participação de mais de um linfonodo na drenagem linfática mamária, em 11 (68,75%) nós observamos comunicações linfáticas entre linfonodos, sendo que em 5 (45,45%) animais estas comunicações envolveram linfonodos superficiais e profundos, informações que devem ser consideradas durante a realização de exames para o estadiamento de pacientes com neoplasia mamária, pois estas comunicações linfáticas poderão representar possíveis vias metástases das neoplasias mamárias para órgãos internos.

Além das comunicações entre os linfonodos, observamos a imagem de vasos linfáticos aferentes durante a linfocintilografia de 20 (80%) animais e de vasos eferentes de 14 (56%) dos animais, o que nos permitiu caracterizar o caminho percorrido pelo radiofármaco após ter sido administrado no tecido mamário, e desta forma compreender como a linfa de uma glândula mamária poderia atingir diferentes linfonodos e a circulação sanguínea (Figura 17).

As técnicas de “utilização da seringa como guia”, administração endovenosa de pertecnetato ou [^{99m}Tc]-MDP foram complementares à linfocintilografia, pois permitiram o estudo topológico e funcional da vascularização e drenagem linfática das glândulas mamárias.

De maneira contrária ao que ocorre em humanos, a drenagem do radiofármaco administrado ao redor da papila mamária teve início imediatamente após a administração intraparenquimatosa do [^{99m}Tc]-dextran-70, em 28 (93,33%) dos animais estudados, o que pode ter sido uma consequência da vasta rede vascular linfática peripapilar, da lesão provocada pela injeção e do aumento da pressão local provocado pela presença do líquido, descritos por Drinker e Field (1933). Porém fica a questão:

Por que o processo de drenagem do mesmo radiofármaco demora pelo menos 30 minutos em mulheres e segundos em cadelas?

Outra questão relativa a esta observação seria se o fato de as mulheres apresentarem glândulas pendulares, e portanto, composta de mais tecido mamário, poderia representar uma barreira a mais para a passagem do radiofármaco, o que aumentaria o tempo de chegada do radiofármaco ao linfonodo.

A rapidez, facilidade e simplicidade de realização da técnica linfocintilográfica, observadas no presente estudo da drenagem linfática mamárias em cadelas, estão de acordo com as observações de Potena, Salvatore e Lorizio (1976), entretanto, discordamos que esta técnica seja eficiente para a obtenção de informações topológicas e anatômicas.

No presente estudo, as informações topológicas somente foram obtidas pela associação da linfocintilografia a outras técnicas. Quanto às informações anatômicas, de acordo com os resultados do presente estudo, a linfocintilografia não fornece detalhes anatômicos dos linfonodos, embora permita localiza-los, identifica-los e quantificar seu funcionamento de drenagem.

A observação de captação hepática do [^{99m}Tc]-dextran-70, observada também por Potena, Salvatore e Lorizio (1976) ao utilizarem radiofármacos diferentes daquele utilizado por nós, acreditamos que isso não represente baixa especificidade do radiofármaco para o estudo da drenagem linfática.

O radiofármaco [^{99m}Tc]-dextran-70 foi captado exclusivamente pelo sistema linfático em 16 (64%) dos animais estudados por nós. Nos demais animais observamos também captação hepática, uma hora após a administração do [^{99m}Tc]-dextran-70.

Esta captação deve-se à chegada do radiofármaco do linfonodo à circulação sanguínea e posteriormente ao fígado, local onde haverá a metabolização do radiofármaco, portanto, a captação hepática não significaria baixa de especificidade do [^{99m}Tc]-dextran-70 para o estudo da drenagem linfática.

A análise funcional da drenagem das glândulas mamárias (gráficos 1 a 14), demonstram que o comportamento funcional do linfonodo é diferente para cada animal, portanto, de acordo a velocidade de drenagem do linfonodo, a chegada do radiofármaco à circulação sanguínea e conseqüentemente ao fígado pode ser observada em alguns animais e em outros não.

Os resultados de drenagem mamária observados por nós são semelhantes àqueles descritos na revisão da literatura realizada por Veaux (1978), entretanto, da mesma forma que Baum (1918), Veaux (1978) citou resultados de estudos *post mortem* que identificaram a participação de linfonodos esternais na drenagem da glândula abdominal cranial e não mencionou a participação de outros linfonodos intra-cavitários.

Da mesma forma que afirmamos em relação a Baum (1918), a participação de linfonodos esternais pode ser resultado das variações individuais esperadas entre os cães, porém, acreditamos que as técnicas dos autores consultados por Veaux (1978) não tenham sido eficazes para a identificação da participação do linfonodo intra-abdominal inguinal profundo, pois a linfocintilografia nos permitiu identificar a participação deste linfonodo na drenagem de 80% (n=4) das glândulas abdominais caudais e 60% (n=3) das inguinais.

Portanto, as variações dos resultados encontrados em diferentes estudos podem ser resultados da técnica empregada, e no caso da linfocintilografia, segundo Strand e

Persson (1979), o estudo pode ser facilitado ou prejudicado de acordo com o radiofármaco utilizado.

Strand e Persson (1979) estudaram a eficácia dos radiofármacos [^{198}Au]-coloidal, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-antiamônio sulfídico, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-tin coloidal, [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-fitato e [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-enxofre coloidal para a marcação de linfonodos de coelhos, após administração subcutânea.

As maiores taxas de captação foram obtidas pela utilização do [^{198}Au]-coloidal e do [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-antiamônio sulfídico, sendo elas respectivamente 8% e 5%. Entretanto, de acordo com os nossos resultados, a taxa máxima de captação do [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-dextran-70 pelos linfonodos axilares ou inguinais foi maior que 8% em 9 animais (36%) e maior que 5% em 12 animais (48%).

Desta forma, nossos resultados demonstraram a eficácia do [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-dextran-70 em cadelas, o que poderia torná-lo o radiofármaco de escolha para estudos clínicos oncológicos e experimentais da drenagem linfática.

Conforme foi observado em 1980, por Wilson e Hayes, em cadelas com neoplasias mamárias, os resultados do presente estudo demonstraram que a drenagem linfática mamária pode apresentar variações topológicas e funcionais entre os animais, independente da presença de neoplasias.

Wilson e Hayes (1980) correlacionaram as metástases mamárias à drenagem linfática para linfonodos cervicais, ilíacos mediais, esternal e poplíteos de cadelas.

Desta forma, considerando que os vasos linfáticos funcionam como vias de metástases, os resultados destes autores estão de acordo com as possíveis vias de drenagem das glândulas mamárias estudadas por nós, pois observamos a imagem

linfocintilográfica do linfonodo cervical no estudo de 2 (40 %) glândulas mamárias torácicas craniais e de uma (20 %) glândula mamária abdominal caudal.

Em todas as linfocintilografias das glândulas torácicas craniais e em 3 (60 %) linfocintilografias das glândulas mamárias torácicas caudais observamos a imagem do linfonodo esternal.

Na linfocintilografia de uma (20%) glândula mamária inguinal observamos o linfonodo ilíaco medial e o linfonodo poplíteo foi o único linfonodo citado por Wilson e Hayes (1980) que não foi identificado no presente estudo linfocintilográfico, portanto, independente da presença de neoplasia, a drenagem linfática mamária pode envolver linfonodos esperados e não esperados.

Esta característica imprevisível da drenagem linfática seriam mais um argumento para a realização de procedimentos com vistas à caracterização individual da drenagem linfática mamária de cada paciente, e a linfocintilografia representaria uma das técnicas não invasivas e fáceis de serem procedidas nos centros veterinários que dispõem das facilidades de medicina nuclear.

Do ponto de vista topológico, segundo Nickel et al. (1981), a drenagem linfática de glândulas mamárias sadias de cadelas envolve apenas a participação dos linfonodos axilares, inguinais superficiais e esternais, portanto, assim como Veaux (1978) e Baum (1918), Nickel et al. (1981) não consideraram a possibilidade de participação dos linfonodos cervicais superficiais, ilíaco mediais e inguinais profundos, linfonodos estes que foram identificados nas linfocintilografias realizadas por nós.

Além disso, Nickel et al. (1981) afirmam que a participação do linfonodo mediastínico na drenagem das glândulas mamárias de cadelas deve-se à passagem da linfa primeiramente pelo linfonodo esternal, porém tal afirmação não se aplica aos

resultados observados por nós, uma vez que na imagem linfocintilográfica em que o linfonodo mediastínico foi identificado, o linfonodo esternal não participou da drenagem da glândula mamária.

Henze et al. (1982) estudaram a especificidade do radiofármaco [^{99m}Tc]-dextran em cães. O radiofármaco foi administrado no espaço interdigital de cães e o sangue destes animais foi coletado imediatamente após a administração do [^{99m}Tc]-dextran. Os autores não observaram evidências da presença do radiofármaco nestas amostras sanguíneas.

Desta forma, os autores concluíram que o [^{99m}Tc]-dextran seria captado apenas pelo sistema linfático. Entretanto, considerando que a coleta sanguínea foi realizada imediatamente após a administração do radiofármaco, a captação hepática observada por nós uma hora após a administração deste radiofármaco deve-se provavelmente à farmacodinâmica do radiofármaco, que após percorrer os vasos linfáticos e atingir a circulação sanguínea deve ser metabolizado no fígado para posterior excreção.

A escolha da via de administração utilizada no presente estudo da drenagem linfática mamária partiu do princípio de que ao administrarmos o radiofármaco no parênquima mamário, identificaríamos os linfocentros responsáveis pela drenagem deste parênquima.

Desta forma, nos contrapomos à utilização da técnica de administração intramuscular (músculo reto do abdome) utilizada por Norris et al. (1982) para o estudo da drenagem linfática de glândulas mamárias neoplásicas e sadias de cadelas.

Acreditamos que a técnica intramuscular demonstraria a drenagem do tecido muscular e não da glândula mamária. Portanto, a identificação de um linfonodo diafragmático em uma das 13 linfocintilografias realizadas por Norris et al. (1982), pode

ter sido resultado da drenagem muscular do radiofármaco, não tendo qualquer relação com a drenagem da glândula mamária.

Ainda em relação ao método de Norris et al. (1982), acreditamos que a técnica de marcação do manúbrio, processo xifóide e sínfise púbica com o ^{57}Co , pode ocultar a participação de linfonodos esternais, por sobreposição da radiação, além de fornecer relações de sintopia menos precisas que aquelas obtidas pela cintilografia óssea ou pela técnica de “utilização da seringa como guia”.

Da mesma forma que nós, Castrunovo et al. (1983) utilizou o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dextran para a linfocintilografia em cães, porém, o objetivo destes autores foi estudar a drenagem linfática arterial e cardíaca de cães.

Após a linfocintilografia, os animais estudados por Castrunovo et al. (1983) foram eutanasiados para realização de estudo anatômico macroscópico, que foi comparado ao resultado linfocintilográfico.

Neste estudo comparativo, o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dextran apresentou 100% de especificidade, ou seja, as imagens linfocintilográficas dos linfonodos corresponderam aos linfonodos observados na avaliação anatômica macroscópica do mesmo animal. Tais resultados também serviram de base para a nossa escolha pelo $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dextran, embora a via de administração e órgãos estudados tenham sido diferentes daqueles escolhidos no presente estudo.

Nossa discussão em relação ao método aplicado por Norris et al. (1982) não se aplica ao estudo de Metcalf et al. (1986), pois estes autores realizaram a via de administração intramuscular com o objetivo de caracterizar a drenagem da parede abdominal dos cães e não apenas das glândulas mamárias.

Metcalf et al. (1986) administraram os radiofármacos [^{99m}Tc]-antiamônio sulfídico e [^{99m}Tc]-dextran diretamente no músculo reto do abdome e no tecido subcutâneo mamário, na dose 0,5 mCi, para comparar a taxa de captação de cada um destes radiofármacos nos linfonodos dos cães.

De acordo com este estudo comparativo, a relação entre a radiação no linfonodo e a radiação de fundo do corpo do animal foi 121,7 para o [^{99m}Tc]-antiamônio sulfídico e 10,54 para o [^{99m}Tc]-dextran, isso significa que quando o [^{99m}Tc]-dextran foi utilizado, a radiação de fundo foi maior, ou seja, a captação nos linfonodos foi menor.

Este resultado explica o grande número de experimentos em que o [^{99m}Tc]-antiamônio sulfídico é utilizado para estudo da drenagem linfática mamária em humanos, porém, a disponibilidade deste radiofármaco no Brasil é baixa, seu custo é alto e, conforme os resultados de Metcalf et al. (1986), a obtenção das imagens linfocintilográficas em cães pode demorar até 2 horas.

Metcalf et al. (1986) afirmou que o [^{99m}Tc]-dextran é ideal para estudos dinâmicos e funcionais da drenagem linfática, devido a sua alta solubilidade e rapidez de drenagem, porém esta característica impossibilitaria a identificação de vasos linfáticos.

Tais afirmações podem justificar o fato de não termos identificado vasos linfáticos comunicantes entre glândulas mamárias, entretanto, a administração do [^{99m}Tc]-dextran possibilitou a identificação dos vasos linfáticos aferentes e eferentes aos linfonodos em 22 (84%) animais estudados por nós.

A drenagem da parede abdominal dos cães estudados por Metcalf et al. (1986) foi variável quanto ao número de linfonodos, o que também observamos para a drenagem linfática mamária de cadelas.

Estas variações da drenagem linfática entre os indivíduos também foram observadas em humanos com neoplasia mamária, por isso a linfocintilografia é cada vez mais indicada pelos médicos oncologistas, principalmente para identificação de linfonodos mamários internos, que serão submetidos posteriormente à biópsia e radioterapia, de acordo com o resultado histopatológico (Hunt et al., 1987).

A linfocintilografia das glândulas mamárias de cadelas possibilitou a identificação *in vivo*, de maneira não invasiva, de linfonodos intra-cavitários (externais cranial e caudal, mediastínicos craniais, ilíacos mediais e inguinais profundos), da mesma forma que o observado por Hunt et al. (1987), em humanos.

A administração peripapilar intraparenquimatosa de nanquim *in vivo* seguida da dissecação das glândulas mamárias após a eutanásia de cadelas, permitiu que Rubert et al. (1990) identificassem o linfonodo intra-cavitário esternal no estudo *post mortem* da topografia dos vasos linfáticos apenas de glândulas mamárias torácicas craniais, entretanto, pela linfocintilografia, observamos a participação deste linfonodo também na drenagem de 3 (60%) das glândulas torácicas caudais.

Além disso, a participação do linfonodo axilar acessório na drenagem das glândulas mamárias não foi observada por Rubert et al. (1990) em nenhuma das 143 cadelas estudadas, embora a técnica de linfocintilografia realizada por nós tenha permitido a identificação deste linfonodo em 40% (n=10) dos animais em que observamos a participação do linfocentro axilar na drenagem da glândula mamária.

Finalmente, das 143 glândulas mamárias em que Rubert et al. (1990) realizaram a técnica de administração do nanquim, a drenagem foi observada em apenas 67 (47 %) glândulas (RUBERT et al., 1990).

Em contrapartida, da mesma forma que Potena Salvatore e Lorizio (1976), no presente estudo, a linfocintilografia possibilitou a caracterização da drenagem linfática de forma fácil e simples em todos os animais, sem a necessidade de eutanásia.

As anastomoses entre os vasos linfáticos e veias mamárias, ou anastomoses linfovenosas, que representam vias para disseminação de células neoplásicas (RUBERT et al., 1991), também poderiam representar vias de disseminação para o radiofármaco, o que explica a chegada deste no fígado, uma hora após a administração peripapilar intraparenquimatosa, observada em 9 (36%) dos animais estudados por nós.

A técnica de Rubert et al. (1990) foi utilizada novamente em 1992, por Sautet et al., com o objetivo de obter informações relevantes para a elaboração de técnicas de tratamento cirúrgico específico para cada uma das glândulas mamárias quando do acometimento por neoplasia.

Sautet et al. (1992) observou que a drenagem das glândulas mamárias pode apresentar variações entre os animais.

Entre as variações de drenagem linfática mamária observadas por Sautet et al. (1992) que diferem daquelas observadas por nós, podemos citar a participação do linfonodo axilar na drenagem de uma glândula abdominal caudal (8,3%) e do linfonodo inguinal superficial na drenagem de uma glândula torácica caudal (9,1%) e de 88 glândulas abdominais craniais (56,9%).

Sautet et al. (1992) observaram drenagem para linfonodos contra-laterais em 3 animais, resultado este que representa uma variação de drenagem importante, porém, que não foi observada nos animais em que realizamos a linfocintilografia.

Segundo estes autores, o estudo esteve restrito a linfonodos superficiais, portanto não se considerou a possibilidade de comunicação entre linfonodo superficiais e profundos, evento este que foi observado em 10 (40%) animais estudados por nós.

Desta forma, tal restrição não nos parece adequada ao objetivo do trabalho destes autores, pois embora nosso estudo não tenha incluído objetivos cirúrgicos, tendo como base a literatura consultada, acreditamos que o tratamento da neoplasia mamária não deva restringir-se ao conhecimento das possibilidades apenas de drenagem para linfonodos superficiais, pois em humanos, tal restrição diminui a precisão prognóstica dada ao paciente implica em recidivas da neoplasia.

Rahal, Hoosne e Teixeira (1995) também estudaram apenas vasos linfáticos e linfonodos superficiais (axilares e inguinais superficiais), porém introduziram uma técnica alternativa, de baixo custo e acessível, para o estudo *in vivo* da drenagem linfática de cada indivíduo, que poderia ser utilizada para identificação de linfonodos sentinelas superficiais.

A técnica de administração peripapilar de fluoresceína 5% seguida de iluminação com “lâmpada de Wood” em sala escura foi eficaz para a identificação de linfonodos superficiais, entretanto, da mesma forma que a linfocintilografia, não permitiu a identificação de comunicações linfáticas entre glândulas mamárias.

Patsikas e Dessiris (1996) realizaram a linfoangiografia radiográfica pela administração peripapilar intraparenquimatosa de lipiodol. As imagens foram obtidas em tempos diferentes, até 48 horas após a administração do contraste radiográfico lipiodol.

A identificação do linfonodo cervical superficial foi possível em imagem obtida 24 horas após a administração do contraste à glândula mamária torácica cranial.

Linfonodos esternais foram identificados durante a linfoangiografia radiográfica 48 horas após a administração do lipiodol. Portanto, embora este exame também forneça informações funcionais de linfonodos mamários superficiais e profundo, os resultados obtidos pela linfocintilografia foram obtidos mais rapidamente

Os resultados encontrados por Patsikas e Dessiris (1996) em cadelas lactentes são semelhantes a aqueles encontrados por em cadelas com glândulas mamárias sadias e não lactentes, exceto pela identificação de um linfonodo brônquico participando da drenagem da glândula mamária torácica caudal em um animal.

Este autores identificaraa a participação do linfonodo ilíaco medial na drenagem de uma glândula mamária abdominal caudal e em 3 inguinais, enquanto que o mesmo linfonodo foi caracterizado por nós em apenas uma glândula inguinal.

Tais achados poderiam ser explicados às variações individuais esperadas entre os animais, devendo-se enfatizar que os animais estudados por Patsikas e Dessiris (1996) estavam em estado fisiológico diferente daquele dos animais estudados por nós.

A técnica linfoangiográfica radiográfica de Patsikas e Dessiris (1996) foi eficaz para a identificação de anastomoses linfáticas entre glândulas mamárias, diferentemente da técnica linfocintilográfica utilizada por nós.

Pereira et al. (2003) utilizaram a técnica de estudo de Rubert et al. (1990) modificada, pois a solução de nanquim foi preparada em álcool e a administração foi realizada em cadáveres, após o aquecimento da glândula mamária com lâmpada de 100 W.

Além disso, Pereira et al. (2003) realizaram estudo comparativo da vascularização linfática de glândulas mamárias sadias e acometidas por neoplasia, em cadelas.

Neste estudo, Pereira et al. (2003) observaram a participação dos linfocentros torácico ventral ou cervical superficial na vascularização da glândula mamária torácica cranial apenas em uma glândula mamária neoplásica, resultado este que se contrapõe aos nossos resultados em que o linfocentros torácico ventral participou da drenagem de todas as glândulas mamárias torácicas craniais estudadas e de 3 (60%) glândulas torácicas caudais, todas estas não acometidas por neoplasia.

A participação do linfocentro inguinofemoral na drenagem de glândulas mamárias torácicas caudais sadias estudadas por Pereira et al. (2003) não estão de acordo com os nossos resultados, em que a glândula mamária torácica caudal apresentou drenagem apenas para linfocentros craniais a ela, sendo estes os linfocentros torácico ventral e axilar.

As glândulas mamárias torácica e abdominal craniais dos animais estudados por Pereira et al. (2003) apresentaram maior variação de drenagem, independentemente da presença de neoplasia mamária, entretanto, em nosso estudo, as glândulas mamárias que apresentaram maior variação de drenagem foram as torácicas e abdominais caudais.

Struikmans e Rijk (1996) administram o radiofármaco no músculo reto do abdome para a identificação dos linfonodos sentinelas mamários de mulheres com neoplasia, da mesma forma que foi feito por Norris et al. (1982), em estudo da drenagem linfática mamária de cadelas.

Segundo estes autores, a técnica de injeção intra-muscular permitiu a identificação de linfonodos internos em 85% dos 124 pacientes, mas o que garante que estes linfonodos internos realmente sejam responsáveis pela drenagem das glândulas mamárias e não pela drenagem muscular?

Em nosso estudo piloto decidimos que o volume de radiofármaco deveria ser reduzido de 8 mL para 4 mL, pois quando administramos 8 mL, observamos que o radiofármaco extravasava e a área de sobreposição da radiação no local foi considerada um risco de sobreposição a possíveis linfonodos que estariam envolvidos na drenagem da glândula mamária investigada.

A diminuição do volume administrado foi adotada por nós considerando-se também a fisiologia linfática, pois segundo DeCicco et al. (1998), volumes grandes podem provocar obstrução e colapso dos vasos linfáticos.

DeCicco et al. (1998) realizaram a linfocintilografia para identificar o linfonodo sentinela em 250 pacientes com neoplasia mamária, comparando a eficácia das técnicas de injeções subdérmica e intraparenquimatosa tumoral dos radiofármacos [^{99m}Tc]-antiamônio enxofre coloidal e [^{99m}Tc]-albumina sérica.

Segundo DeCicco et al. (1998), a administração subdérmica forneceu melhor imagem da rede vascular linfática superficial e profunda, pois a via intraparenquimatosa tumoral retardou a chegada do radiofármaco ao linfonodo e os linfonodos apresentaram baixa taxa de captação de radiofármaco.

Em contrapartida, a via de administração intraparenquimatosa em glândulas mamárias sadias dos animais estudados por nós foi eficaz e rápida para o estudo da drenagem linfática, pois a evolução do radiofármaco foi observada imediatamente após a injeção em 20 (80%) dos animais.

Entretanto, em estudo também comparativo entre as imagens obtidas após a administração intraparenquimatosa tumoral e subdérmica, porém com radiofármaco [^{99m}Tc]-enxofre coloidal, Alazraki, Styblo e Grant (1999) observaram que apenas a administração intraparenquimatosa tumoral é capaz de fornecer imagem dos linfonodos

mamários internos. Postanto, o ideal é associar as administrações subdérmica e intraparenquimatosa.

No estudo realizado por Valdes-Olmos et al. (1999), os pacientes foram divididos em um grupo A, que recebeu o volume de 4mL e um grupo B, que recebeu 2mL.

A caracterização da drenagem linfática e do linfonodo sentinela foi possível em 93% dos pacientes do grupo A e 99% do grupo B.

Em nosso grupo de estudo piloto, a caracterização dos linfonodos também foi prejudicada pelo volume de radiofármaco injetado e de acordo com os resultados obtidos por Valdes-Olmos et al. (1999), a diminuição do volume de injeção realmente é melhor para a identificação dos linfonodos, pois diminui a área de sobreposição da radiação da mama em relação aos linfonodos.

Embora os aspectos técnicos sobre a linfocintilografia tenham sido estudados principalmente em pacientes humanos, algumas considerações foram adotadas e correlacionadas ao presente estudo em fêmeas da espécie canina.

Durante a administração intraparenquimatosa mamária do radiofármaco, a contaminação das mãos com o conteúdo da seringa ou o extravasamento do volume injetado na glândula mamária causou artefatos na imagem que poderiam ser confundidos com linfonodos.

Estes artefatos foram produzidos não apenas pela manipulação dos animais com luva já contaminada pela radiação, mas também pela movimentação do animal entre a primeira e segunda seqüência de imagens, devido a lambedura do próprio animal ou contaminação pelo volume extravazado durante esta movimentação.

A dilatação dos vasos linfáticos causada pelo acúmulo de radiofármaco em determinado momento após sua administração também poderia ter sido confundida

com linfonodos, porém a realização de projeções ventrais e laterais e tardias foram suficientemente esclarecedoras (Figura 20).

No estudo das aplicações da cintilografia na prática clínica veterinária, BALOGH et al. (1999) observaram a eficácia da linfocintilografia como ferramenta para o estudo funcional da vascularização linfática, da mesma forma que observamos no presente estudo.

Os artefatos encontrados no presente experimento estão de acordo com aqueles citados por Krynyckyi et al. (2000), que estudaram linfocintilografias mamárias de mulheres com neoplasia mamária para definir os fatores que prejudicam a identificação do linfonodo sentinela.

Segundo Krynyckyi et al. (2000), a aquisição dinâmica possibilita a diferenciação entre focos de contaminação ou dilatação de vasos linfáticos e linfonodos, pois os linfonodos apresentam quantidade de radiofármaco crescente ou decrescente durante um intervalo de tempo.

A técnica de aquisição dinâmica da imagem não foi adotada neste estudo, pois o experimento foi realizado em cães e caso esta técnica fosse adotada, os animais teriam que ser mantidos em anestesia durante um longo intervalo de tempo.

Desta forma, considerando as particularidades inerentes ao estudo na espécie canina, as seguintes considerações de Krynyckyi et al. (2000) para evitar a contaminação foram adotadas:

- Antes de injetar o radiofármaco verificar se não existe ar na seringa;
- Após cada injeção, limpar o local da injeção com uma gaze para evitar que haja extravasamento do radiofármaco;

- Limpar imediatamente o local onde houve extravasamento do radiofármaco.

As recomendações de manter uma gaze ampla sobre o local de injeção e manter as mãos do paciente fora do local de injeção durante todo o tempo após a injeção não foram adotadas, pois os animais foram mantidos sem contenção química durante o intervalo entre a primeira e a segunda seqüência de imagens.

Além disso, as massagens locais após a injeção do radiofármaco, mesmo quando realizadas com o cuidado de minimizar a pressão sobre o local de injeção, não foram adotadas, pois em estudo piloto constatamos que a velocidade de absorção do radiofármaco em cadelas é rápida e a massagem, além de desnecessária, aumentaria o risco de contaminação radioativa e produção de artefatos.

Krynyckyi et al. (2000) também recomendou o deslocamento da mama para evitar sobreposição da radiação da glândula mamária aos linfonodos, porém, diferentemente das mulheres, os animais estudados não possuem glândulas pendulares, portanto tal manobra não foi necessária e a realização de projeções laterais e ventrais foram adotadas para minimizar o risco de não identificação de linfonodos dorsais às glândulas mamarias.

Segundo Krynyckyi et al. (2000), a melhor técnica para delinear o corpo do paciente é a utilização de uma fonte de Cobalto-57 sob o paciente, entretanto, observamos que a cintilografia óssea ou a técnica de “utilização da seringa como guia” foram eficazes para determinação da sintopia do linfonodo.

De acordo com nossos resultados, a frequência de participação de linfonodos intra-cavitários na drenagem linfática da glândula mamária de cadelas é maior que aquela observada em humanos.

Em estudo da drenagem linfática de glândulas mamárias de mulheres, Haigh et al. (2000), por exemplo, observou que os linfonodos intra-cavitários foram responsáveis pela drenagem linfática das glândulas mamárias de 20% dos pacientes, enquanto que, em nossos resultados, a participação destes linfonodos foi observada em 68% dos animais.

Ainda em relação à participação dos linfonodos intra-cavitários, em 80% dos animais estudados por nós, estes linfonodos estiveram envolvidos na drenagem das glândulas mamárias abdominais caudais devido à comunicação com linfonodos superficiais, o que significa que antes de chegar à circulação sanguínea, a linfa passou por duas “barreiras de defesa”.

O linfonodo esternal participou da drenagem de todas as glândulas mamárias torácicas craniais e de 60% das glândulas mamárias torácicas caudais, porém, a linfa foi drenada diretamente da glândula mamária, ou seja, não observamos comunicação deste linfonodo com outros.

Diante destas informações ficam as questões:

- Quando as glândulas mamárias abdominais caudais de cadelas forem acometidas por neoplasia, o risco de metástases para órgãos intra-abdominais seria menor?

- Quando as glândulas mamárias torácicas forem acometidas por neoplasias, o risco de metástases pulmonares ou para outros órgãos intra-torácicos seria maior?

As respostas para a estas perguntas poderão ser respondidas em estudos posteriores em cadelas acometidos por neoplasias.

Neville et al. (2000) utilizaram a técnica de injeção intratumoral de [^{99m}Tc]-enxofre coloidal uma hora antes da injeção do corante “Lymphanzarium Blue” para a localização

trans-operatória dos linfonodos sentinelas de diferentes tumores malignos em 13 crianças.

Estes autores afirmaram que a linfocintilografia não foi eficaz em pacientes previamente submetidos a procedimentos cirúrgicos na região, a tratamento radioterápico local, ou em pacientes que apresentam invasão tumoral em linfonodos.

Tais considerações não podem ser aplicadas ao presente estudo, uma vez que todos foram submetidos ao exame físico para seleção daqueles que não apresentassem evidências de mastectomia ou qualquer aumento de volume de linfonodo ou tecido mamário. Entretanto, poderão ser considerados em estudos futuros em cadelas com neoplasias mamárias.

A eficácia do mapeamento linfático trans-cirúrgico com corante azul patente e da linfocintilografia com [^{99m}Tc]-dextran para a identificação de linfonodos sentinelas localizados em diferentes bases linfáticas foi avaliada por Oliveira-Filho et al. (2000).

Foram estudadas 70 bases linfáticas, sendo que nas linfocintilografias foram identificadas 68 bases linfáticas (97%), enquanto que o mapeamento linfático trans-cirúrgico o fez em 53 bases (76%).

Este estudo comprovou a eficácia da linfocintilografia com [^{99m}Tc]-dextran para o estudo da drenagem linfática mamária em mulheres e tais resultados embasaram nossa escolha pela utilização do [^{99m}Tc]-dextran no presente estudo.

A realização do mapeamento linfático trans-cirúrgico com corante azul patente permite a identificação apenas de linfonodos superficiais, por isso não foi utilizado no presente estudo.

Os resultados encontrados por Mateos et al. (2001) estão de acordo com as afirmações de Alazraki, Styblo e Grant (1999), pois a administração subdérmica de

[^{99m}Tc] coloidal subestimou a drenagem extra-axilar das glândulas mamárias de mulheres com neoplasia mamária. Desta forma, a administração intra-parenquimatosa, também utilizada no presente estudo, seria mais eficaz para a identificação de linfonodos intra-cavitários.

Segundo Mateos et al. (2001), a linfocintilografia de pacientes com neoplasia mamária deve ser realizada após a administração de radiofármaco pela via subcutânea e intraparenquimatosa mamária, porém, no presente estudo, optamos apenas pela via intraparenquimatosa, pois o objetivo era o estudo da drenagem do parênquima mamário.

Da mesma forma que Krynyckyi et al. (2000), Birdwell et al. (2001) estudaram as variáveis que prejudicam a localização linfocintilográfica de linfonodos sentinela mamários.

A administração intramuscular foi um dos fatores para o insucesso na identificação dos linfonodos sentinela mamários, técnica esta que não foi empregada no presente estudo.

Os fatores que prejudicaram a identificação ou avaliação funcional dos linfonodos mamários nas cadelas estudadas por nós foram a proximidade entre a glândula mamária e o linfonodo, os artefatos e o aparecimento da imagem do linfonodo em apenas uma captação.

No estudo de Birdwell et al. (2001) a drenagem linfática mamária para linfonodos intra-cavitários foi 24%, ou seja, menor que aquela observada por nós em cadelas (68%).

O mapeamento cintilográfico ósseo obtido pela administração endovenosa de [^{99m}Tc]-MDP após a linfocintilografia mamária facilita a identificação topológica dos

linfonodos, sendo mais eficaz que aquela obtida com o contorno corpóreo com ^{57}Co (TATINI; DWORKIN et al., 2001; MARGOLIN et al., 2001).

Desta forma, quando a técnica “de utilização da seringa como guia” não é suficientemente esclarecedora quanto a localização do linfonodo, deve-se realizar a cintilografia óssea após a linfocintilografia, pois esta técnica nos permite definir com precisão a sintopia do linfonodo, o que é necessário para identifica-lo.

O local e profundidade da injeção do radiofármaco também são importantes durante a realização da técnica, devendo-se tomar cuidado para não injetar o radiofármaco no músculo adjacente ao tecido mamário (MARIANI et al., 2001).

A influência da idade do paciente sobre a não caracterização cintilográfica dos linfonodos foi constatada por Krausz et al. (2001) e Mariani et al. (2001), que atribuíram estas limitações ao menor turgor de pele, menor atividade fagocitária e maior concentração de tecido adiposo em pacientes humanos idosos.

Estes autores também afirmaram que a localização do tumor, tipo e estágio tumoral, dificultam a obtenção da imagem linfocintilográfica.

Tais afirmações não podem ser consideradas em nosso estudo, pois os animais estudados eram jovens e as glândulas mamárias sadias.

No estudo da drenagem linfática realizado por Edreira et al. (2001), em mulheres com neoplasia mamária, o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dextran apresentou baixa captação e não houve aumento significativo 100 minutos após a injeção. Entretanto, no presente estudo, a taxa de captação do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dextran de 75% dos linfonodos manteve-se crescente 60 minutos após a administração intraparenquimatosa.

Nós atribuímos a diminuição da taxa de captação em função do tempo às comunicações linfáticas identificadas entre os linfonodos e à saída do radiofármaco dos vasos linfáticos para a circulação sanguínea.

Xavier et al. (2001) observaram que o uso do [^{99m}Tc]-dextran para a identificação de linfonodos sentinelas em mulheres com neoplasia mamária é promissor devido a sua simplicidade para a marcação do composto, fácil acesso ao fármaco e baixo custo, o que o tornaria também ideal para o uso em cadelas.

Embora a linfocintilografia não seja um exame utilizado com frequência nos Hospitais Veterinários, esta técnica é bastante fácil de ser realizada e representa alto potencial para o estudo oncológico (SMITH, 2002).

A variação do padrão de drenagem linfática das glândulas mamárias observada em nosso estudo e em outros estudos é atribuída à ação de fatores embrionários angiogênicos que se tornam fatores linfoangiogênicos na vida pós-natal (SCHOPPMANN; HORVAT; BIRNER, 2002).

Saarnak et al. (2002) utilizaram como referencial anátomo-topológico de linfonodos sentinela que seriam tratados por radioterapia, a técnica de utilização de fontes de Cobalto-57 que foram fixadas no esterno, na cartilagem xifóide e nas costelas de mulheres com neoplasia mamária.

Esta técnica não foi utilizada para a localização de linfonodos no presente estudo, porém a técnica de “utilização da seringa como guia” ou a cintilografia óssea foram eficazes para a identificação de linfonodos, pois forneceram referenciais de sintopia precisos.

Nogushi (2002) e Pelosi et al. (2003) afirmaram que a técnica de injeções subdérmicas periareolares de pequeno volume de radiofármaco aumentam a taxa de

identificação dos “linfonodos sentinelas”, pois a rede vascular linfática desta região é mais vasta, o que também aumenta a velocidade de drenagem do radiofármaco.

Desta forma, tendo como base os resultados encontrados nos estudos destes e de outros autores, optamos por administrar o [^{99m}Tc] dextran ao redor da papila mamárias dos animais, região que corresponderia à região periareolar em humanos.

Pereira et al. (2003) realizaram o primeiro estudo anatômico macroscópico comparativo da drenagem linfática de glândulas mamárias sadias e neoplásicas de cadelas.

A participação do linfocentro cervical foi observada apenas em animais com neoplasia mamária, diferentemente do que encontramos no presente estudo, em que a participação deste linfocentro foi observada na drenagem de uma glândula mamária torácica cranial sadia.

Além disso, no estudo realizado por Pereira et al. (2003), o linfocentro torácico ventral drenou apenas glândulas mamárias torácicas craniais neoplásicas, enquanto que no presente das glândulas mamárias sadias de cadelas, este linfocentro participou da drenagem de todas as glândulas torácicas craniais de 3 (60 %) glândulas torácicas caudais.

Da mesma forma que em outros estudos *post mortem* da vascularização linfática das glândulas mamárias de cadelas, o único linfocentro intra-cavitário que foi identificado por Pereira et al. (2003) como responsável pela drenagem linfática mamária foi o torácico ventral, enquanto que em nosso estudo linfocintilográfico *in vivo*, a participação dos linfocentros mediastínico cranial, íliosacral e inguinal profundo também foi observada.

Em contrapartida, a técnica utilizada por Pereira et al. (2003) possibilitou a identificação do linfocentro poplíteo na drenagem de uma glândula inguinal neoplásica, resultado este não observado por nós em nenhuma das glândulas sadias.

A técnica de estudo *post mortem* utilizada por Pereira et al. (2003), permitiram a identificação de vasos linfáticos comunicando glândulas mamárias ipsi e contra-laterais, porém pela técnica linfocintilográfica não foi possível identificarmos tais comunicações.

Em 2004, o mapeamento linfático cintilográfico mamário foi utilizado por Estourgie et al. para observar a frequência de identificação de linfonodos mamários internos e sua importância clínica no tratamento de neoplasias em pacientes humanos.

O [^{99m}Tc] não coloidal (107,7MBq, 0,2mL) foi administrado no tumor e a linfocintilografia permitiu a identificação de linfonodos mamários internos em 25% dos pacientes, frequência esta ainda inferior àquela observada por nós em cadelas não acometidas por neoplasia mamária (64%).

Uren (2004) estudou o processo fisiológico da captação de radiofármaco pelos linfonodos que participam da vascularização linfática da pele.

Segundo o autor, os radiofármacos são retidos nos linfonodos por um processo fisiológico ativo, fagocitados pelos macrófagos e histiócitos localizados no seio subcapsular do linfonodo. Este processo ocorre até 2 horas após a injeção, portanto as imagens após 2 ou 24 horas não apresentam diferenças que não relativas ao decaimento do radiofármaco.

Em 36% dos animais do presente estudo, observamos que houve captação hepática do radiofármaco e em 56% dos animais foi possível observarmos a saída do radiofármaco por vaso linfático eferente. Portanto, acreditamos que o processo de

fagocitose pelos macrófagos do linfonodo não seja suficiente para reter todo o conteúdo drenado.

Em relação ao processo de fagocitose do radiofármaco citado por Uren (2004), acreditamos que tal afirmação pode explicar o porquê o radiofármaco não marcou vasos linfáticos mamários, porém marcou vasos linfáticos aferentes e aferentes dos linfonodos.

Quando o radiofármaco foi administrado no tecido mamário dos animais estudados por nós, ocorreu a imediata drenagem de parte da dose, porém, quando o volume drenado chegou ao linfonodo, devido ao processo local de fagocitose, houve diminuição da velocidade de saída do mesmo, permitindo a identificação dos vasos próximos ao linfonodo.

De acordo com as afirmações de Stadelmann, Cobbins e Lentsch (2004), no presente estudo, a caracterização da drenagem linfática foi prejudicada pela proximidade entre o local de injeção e o linfonodo.

Este evento foi observado em 2 animais (8%) em que a glândula inguinal foi injetada, pois o linfonodo inguinal superficial, responsável pela drenagem desta glândula, está localizado justamente ventral à glândula mamária inguinal, e portanto fica sobreposto por ela.

Durante a realização do estudo piloto, a diminuição do volume a ser administrado foi adotada como estratégia para minimizar tal sobreposição.

Em decúbito lateral, o linfonodo inguinal superficial fica sobreposto ao membro pélvico, o que provoca atenuação da radiação emitida por este linfonodo. Portanto, a avaliação funcional do linfonodo inguinal superficial deve basear-se nas imagens realizadas em projeção ventral.

Stadelmann, Cobbins e Lentsch (2004) observaram que além da proximidade do local de injeção em relação ao linfonodo, baixas taxas de captação no linfonodo ou falhas técnicas na administração do radiofármaco e no processamento da imagem também podem prejudicar a identificação do linfonodo.

No presente estudo, o programa de computador utilizado para o processamento das imagens (ImageJ®) auxiliou na identificação de linfonodos com baixa taxa de captação e o procedimento de injeção adotado foi realizado de forma a evitar a administração do radiofármaco fora do parênquima mamário ou em vasos sanguíneos.

A administração endovenosa de $[^{99m}\text{Tc}]\text{O}_4^-$ após a linfocintilografia não auxiliou Wilczek et al. (2004) na localização dos linfonodos, ocultando linfonodos que apresentavam baixa captação de radiofármaco.

O mesmo foi observado por nós nos 2 animais do presente estudo em que esta técnica foi utilizada, portanto, acreditamos que a técnica de cintilografia óssea ou a técnica de “utilização da seringa como guia” sejam as técnicas ideais para a identificação dos linfonodos responsáveis pela drenagem linfática mamária.

Embora nenhum dos autores consultados tenha citado a importância do processamento das imagens para identificação dos linfonodos responsáveis pela drenagem linfática mamária, nós observamos que este auxiliou em muito o presente estudo, uma vez que a opção de coloração da imagem foi determinante para a identificação ou não do linfonodo.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

- A avaliação da drenagem linfática mamária de cadelas pode ser realizada de forma simples e rápida utilizando-se a técnica linfocintilográfica estabelecida no presente estudo;
- O [^{99m}Tc]-dextran-70 foi captado especificamente pelos vasos linfáticos e linfonodos nas imagens obtidas até uma hora após a administração intra-parenquimatosa mamária;
- A velocidade de drenagem do [^{99m}Tc]-dextran-70 da glândula mamária de cadelas é alta;
- Em cadelas, a realização de massagem local após a administração do [^{99m}Tc]-dextran-70 é dispensável e aumenta o risco de produção de artefatos;
- O uso do [^{99m}Tc]-dextran-70 não permitiu a identificação de vasos linfáticos entre glândulas mamárias;
- A técnica linfocintilográfica do presente estudo permitiu a identificação de vasos linfáticos aferentes na região próxima à glândula mamárias e eferentes na região próxima aos linfonodos;
- Os linfonodos mamários superficiais e profundos podem apresentar comunicação linfática;
- A linfocintilografia não fornece referenciais anatômicos, devendo ser associada a outras técnicas;
- A identificação topológica do linfonodo foi possível devido a realização de diferentes projeções e ao uso da técnica de “utilização da seringa como guia”;

- Nos casos em que a técnica de “utilização da seringa como guia” não esclarece com precisão a localização do linfonodo, a cintilografia óssea torna-se a técnica de escolha;
- Nos animais em que o linfonodo inguinal superficial está localizado justamente ventral à glândula mamária inguinal, o estudo linfocintilográfico da drenagem desta glândula é prejudicado;
- A avaliação funcional do linfonodo inguinal deve basear-se nas imagens em projeção ventral, pois em projeção lateral este linfonodo fica sobreposto ao membro pélvico;
- A realização de imagens em diferentes projeções e tempos e a utilização do roteiro de investigação foram suficientes para a identificação de artefatos na imagem linfocintilográfica;
- A frequência de participação de linfonodos intra-cavitários na drenagem das glândulas mamárias de cadelas é alta, principalmente para as glândulas mamárias torácicas craniais e caudais e abdominais caudais;
- O número mediano de linfocentros responsáveis pela drenagem das glândulas mamárias sadias de cadelas é 2;
- O número de linfonodos envolvidos na vascularização linfática de uma glândula mamária pode variar de 1 a 7;
- O comportamento funcional de cada linfonodo varia entre os animais;
- O principal linfocentro responsável pela drenagem das glândulas torácicas cranial e caudal e abdominal caudal foi o axilar, enquanto que o linfocentro inguinal superficial foi o principal linfocentro responsável pela drenagem das glândulas abdominal caudal e inguinal.

- A técnica de administração intra-parenquimatosa mamária de [^{99m}Tc]-dextran-70 foi eficaz para o estudo funcional dos linfocentros mamários, exceto para duas glândulas inguinais.

Referências

REFERÊNCIAS

ALAZRAKI, N.; STYBLO, T. ; GRANT, S. Sentinel lymph node lymphoscintigraphy: comparison of subdermal and peritumoral injections. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 352, p. S59. 1999.

ARNESEN, K.; GAMLEN, H.; GLATTER, E.; GRONDALEN, J.; MOE, L.; NORDSTOGA, K. The norwegian canine cancer registry 1990-1998. **Norsk Veterinaertidsskrift**, v. 112, n. 3, p. 137-147. 2000.

BALOGH, L.; ANDOCS, G.; THUROCZY, J.; NEMETH, T.; LANG, J.; BOD, G. R.; JANOKI, G. A. Veterinary nuclear medicine: Scintigraphical examination - A review. **Acta Veterinary BRNO**, v. 68, p. 231-239. 1999.

BARRANGER, E.; MONTRAVERS, F.; KERROU, K.; MARPEAU, O.; RAILEANU, I.; ANTOINE, M.; TALBOT, J. N.; UZAN, S. Contralateral axillary sentinel lymph node drainage in breast cancer: a case report. **Journal of Surgical Oncology**, v. 86, n. 3, p.167-9. 2004.

BAUM, H. Das Lymphgefäß system des Hundes. **Archiv fur wissenschaftliche und praktische Tierheilkunde**, v. 44, p. 521-650. 1918.

BENAMOR, M.; CLAUDE, N.; PAUL FRÉNEAUX, P.; CLOUGH, K. B. Impact of internal mammary sentinel node imaging in breast cancer. **Clinical Nuclear Medicine**, v.28, N. 5, p. 375-378. 2003.

BENDA, R. K.; CENDAN J. C.; COPELAND, E. M.; FEEZOR, R. J.; LIND, D. S.; MORRIS, C. G.; MENDENHALL, N. P. Should decisions on internal mammary lymph node irradiation be based on current lymphoscintigraphy techniques for sentinel lymph node identification? **Cancer**, v. 100, n. 3, p. 518-23. 2004

BIRDWELL, R.L.; SMITH, K. L.; BETTS, B. J.; IKEDA, D. M.; STRASS, H. W.; JEFFREY, S. S. Breast cancer: variables affecting sentinel lymph node visualization al preoperative lymphoscintigraphy. **Radiology**, v. 220, p. 47-53. 2001.

BOURGEOIS, P; FRÜHLING, R. Contralateral internal mammary invasion in breast cancer:: lymphoscintigraphy data. **The Breast**, v. 8, p. 107-109. 1999.

BRAWNER, W. R. e DANIEL, G. B. Nuclear Imaging. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, V. 23, n. 2, p. 379-398. 1993.

CABANAS, R. M. An approach to the treatment of penile carcinoma. **Cancer**, v. 39, p. 456-466. 1977.

CANAVESE, G.; GIPPONI, M.; CATTURICH, A.; SOMMA, C. D.; VECCHIO, C.; ROSATO, F.; PERCIVALE, P.; MORESCO, L.; NICOLO, G.; SPINA, B.; VILLA, G.; BIANCHI, P.; BADELINO, F. Sentinel lymph node mapping in early stage breast cancer. Technical issue and results with vital blue dye mapping and radioguided surgery. **Journal of Surgery and Oncology**, v. 74, p. 61-68. 2000.

CARVALHO, C. F. Ultra-sonografia em pequenos animais. In: **Ultra-sonografia de linfonodos**. São Paulo: Roca, 2004. p. 175-177.

CASTRONUOVO, J. J.; LOPEZ-MAJANO, V.; FLANIGAN, P.; SCHULER, J. J.; JONASSON, O. Cardiovascular lymphoscintigraphy. **Surgery**, v. 94, n. 2, p.351-357. 1983.

CLARKE, E.; NOTGHI, A. L. P.; HARDING, K. Improved body technique for localization of sentinel lymph node in breast surgery. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 9, p. 1181-1183. 2002.

CORDEIRO, A. K.; BARACAT, F. Linfologia. In: **Histórico**. São Paulo: Fundo Editorial BYK-Prociex; 1983. p. 1-5.

COX, C. E.; BASS, S. S.; MCCANN, C. R.; KU, N. N. K.; BERMAN, C.; DURAND, K.; BOLANO, M.; WANG, J.; PELTZ, E.; COX, S.; SALUD, C.; REINTGEN, D. S.; LYMAN, G. H. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in patients with breast cancer. **Annals Reviews in Medicine**, v. 51, p. 525-542. 2000.

DANIELS, C. B.; LEWIS, B. C.; TSOPELAS, C.; MUNNS, S. L.; ORGEIG, S.; BALDWIN, M. E.; STACKER, S. A.; ACHEN, M. G.; CHATTERTON, B. E.; COOTER, R. D. Regenerating lizard tails: a new model for investigating lymphoangiogenesis. **FASEB Journal**, v. 17, n. 3, p. 479-481. 2003.

DECICCO, C.; CREMONESI, M.; LUINI, A.; BARTOLOMEI, M.; GRANA, C.; PRISCO G.; GALIMBERTI, V.; CALZA, P.; VIALE, G.; VERONESI, U.; PAGANELLI, G. Lymphoscintigraphy and radioguided biopsy of sentinel axillary node in breast cancer. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 39, n. 12, p. 2080-2084. 1998.

DE MARTIN, B. W. **Estudo da função tiroidea em eqüinos puro sangue inglês através do ^{131}I – T.B.I.** 1970. 32p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1970.

DONNAY, I.; RAUIS, J.; VERSTEGEN, J. Hormonal history and clinical emergency of mammary tumors in the bitch. An epidemiological study. **Annales de Medecine Veterinaire**, v. 138, n. 2, p. 109-117. 1994.

EDREIRA, M. M.; COLOMBO, L. L.; PEREZ, J. H.; SAJAROFF, E. O.; DE CASTIGLIA, S. G. In vivo evaluation of three different $^{99\text{mTc}}$ -labelled radiopharmaceuticals for sentinel lymph node identification. **Nuclear Medicine Communications**, v. 22, n. 5. p. 499-504. 2001.

ELSE, R. W.; HANNANT, D. Some epidemiological aspects of mammary neoplasia in the bitch. **The Veterinary Record**, v. 104, p. 296-304. 1979.

ESTOURGIE, S. H.; NIEWEG, O. E.; VALDE'S OLMOS, R. A.; RUTGERS, E. J. T.; KROON, B. B. R. Lymphatic drainage patterns from the breast. **Annals of Surgery**, v. 239, n. 2, p.232–237. 2004.

GELBARD, A. S.; CHRISTIE, T. R.; LAUGHLIN, R. Imaging of Spontaneous Canine Tumors with Ammonia and Glutamine labeled with N-13. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 18, p. 718-723. 1977.

GIULIANO, A. E.; DALI, P.S.; TURNER, R. R.; MORTON, D. L.; EVAN, S. W. e KRASNE, D. L. Improved axillary staging of breast cancer with sentinel lymphadectomy, **Annals of Surgery**. v. 222, p. 394-399. 1995.

GOULD, E. A.; WINSHIP, T.; PLILBUR, P. H.; KERR, H. Observations on a “sentinel node” in cancer of the parotid. **Cancer**, v. 13, p. 77-78. 1960.

GRAHAM, J. C.; MYERERS, R. K. The Prognostic Significance of angiogenesis in canine mammary tumors. **Journal of Veterinary internal Medicine**, v. 13, n. 5, p. 416-418. 1999.

HAIGH, P. I.; HANSEN, N. M.; GIULIANO, A. E.; EDWARDS, G. K.; YE, W.; GLASS, E. C. Factors Affecting sentinel node localization during preoperative breast lymphoscintigraphy. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 41, n. 10, p. 1682-1688. 2000.

HALSTED, W. The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at Johns Hopkins Hospital from June 1884 to January 1894. **Johns Hopkins Hospital Bulletin**, v. 4, p. 297-302. 1895.

HENZE, E.; SCHELBERT, H. R.; COLLINS, J. D.; NAJAFI, A.; BARRIO, J. R.; BENNETT, L. R. Lymphoscintigraphy with Tc-99m-labeled dextran. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 23, n. 10, p. 923-929. 1982.

JONES, J. C. **Clinical neurology in small animals: localization, diagnosis and treatment**. 1ed. New York: Braun K. G. 2002. 264p.

KOTZ, D. Scanning the Animal World. **The Journal of Nuclear Medicine**, v. 36, n. 4, p. 16N-18N. 1995.

KRAUSZ, Y.; IKEDA, D. M.; JADVARI, H.; LANGLEBEN, D.; BIRDWELL, R.; STRAUSS, H. W. Non-visualization of SLN in patients with breast cancer. **Nuclear Medicine Communications**, v. 22, p. 25-32. 2001.

KRYNYCKYI, B. R.; MINER, M.; RAGONESE, J. M.; FIRESTONE, M.; KIM, C. K.; MACHAC, J. Technical aspects of performing lymphoscintigraphy optimization of methods used to obtain images. **Clinical Nuclear Medicine**, v. 25, n. 12, p. 978-985. 2000.

MAJNO, G.; JORIS, I. Cells, tissues and disease – principals of general pathology. In: **Tumor as Parasite**. Nova York: Blackwell Science, 1996. p. 787-790.

MARGOLIN, G.; LIND, M. G.; LARSSON, S. A.; JONSSON, C.; JACOBSSON, L. Localization of sentinel nodes in head and neck tumours by combined lymphoscintigraphy and bone scintigraphy. **Nuclear Medicine Communications**, v. 22, p. 1095-1099. 2001.

MARIANI, G.; MORESCO, L.; VIALE, G.; VILLA, G.; BAGNASCO, M.; CANAVESE, G.; BUSCOMBE, J.; STRAUSS, W.; PAGANELLI, G. Radioguided sentinel lymph node biopsy in breast cancer. **The Journal of Nuclear Medicine**, v. 42, n. 8, p. 1198-1215. 2001.

MATEOS, J. J.; VIDAL-SICART, S.; ZANÓN, G.; PAHISA, J.; FUSTER, D.; MARTÍN, F.; ORTEGA, M.; FERNÁNDEZ, P.; PONS, F. Sentinel node biopsy in breast cancer patients: subdermal versus peritumoral radiocolloid injection. **Nuclear Medicine Communications**, v. 22, p. 17-24. 2001.

MAYNARD, C. D. **Clinical Nuclear Medicine**. 1.ed. Philadelphia: Lea & Febider. 1969. 110p.

METCALF, M. R.; ROSENTHAL, C.; SELLET, L. C.; BADERTSCHER, R. R. Canine Ventral wall Lymphoscintigraphy. A comparison of ^{99m}Tc - antiamony Sulfide Colloid and ^{99m}Tc -Dextran as lymphoscintigraphy agents. **Veterinary Radiology**, v. 27, n. 5, p. 155-160. 1986.

NEVILLE, H. L.; ANDRASSY, R. J.; LALLY, K. P.; COPRON, C.; ROSS, M. J. Lymphatic mapping Sentinel node biopsy in pediatric patients. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 35, n. 6, p. 961-964. 2000.

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. **Tha anatomy of Domestic animals**. Berlim: Verlag Paul Parey, 1981. v.3. 630 p.

NIEWEG, O. E.; BARTELINK, H. . Implications of lymphatic mapping for staging and adjuvant treatment of patients with breast cancer. **European Journal of Cancer**, v.40, n. 2, p. 179-181. 2004.

NOGUSHI, M. Internal mammary sentinel biopsy for breast cancer: Is it practicable? (Review) **Oncology Reports**, v. 9, p. 461-468. 2002.

NORRIS, A. N. M.; HARAUZ, G.; EGE, G. N.; BROXUP, B.; VALLI, V. E. O.; LEGER, L. Lymphoscintigraphy in canine mammary neoplasia. **American Journal of Veterinary Research**, v. 42, n. 2, p. 195-199. 1982.

OLIVEIRA-FILHO, R. S.; SANTOS, I. D. A. O.; FERREIRA, L. M.; ALMEIDA, F. A.; ENOKIHARA, M. M. S. S.; BARBIERI, A.; TOVO-FILHO, R. Is intra-operative gamma probe detection really necessary for inguinal sentinel lymph node biopsy? **São Paulo Medical Journal**, v. 118, n. 6, p. 1-9. 2000.

OLOFSSON, B.; JELTSCH, M.; ERIKSSON, U. Current biology of VEGF-B and VEGF-C. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 10, p.523-535. 1999.

PATSISKA, M. N.; DESSIRIS, A. The lymph drainage of the mammary gland in bitch: a lymphographic study. Part II: the 3rd mammary gland. **Anatomy Histology Embriology**, v. 25, n. 2, p. 139-143. 1996.

PELOSI, E.; BAIOTTO, C.; ALA, A.; GAY, E.; BELLO, M.; VARETTO, T.; GIANI, R.; BUSSONE, R.; BISI, G. Lymphatic mapping in early stage breast cancer: comparison between periareolar and subdermal injection. **Nuclear Medicine Communications**, v. 24, p. 519-523. 2003.

PEREIRA, C. T.; RAHAL, S. C.; CARVALHO BALIEIRO, J. C.; RIBEIRO, A. A. C. M. Lymphatic drainage on healthy and neoplastic mammary glands infemale dogs: Can it really be altered?. **Anatomia, Histologia e Embryologia**, v. 32, p. 288-290. 2003.

PIRES, A. A.; TRAVASSOS, F. S.; PIRES, I. Neoplasias em canídeos – um estudo descritivo de 6 anos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 98, n. 547, p. 111/118. 2003.

POTENA, A.; SALVATORE, M.; LORIZIO, R. Adenolinfocintigrafia indiretta nel cane. **Acta Medica Veterinária**. v. 22, p. 183-190. 1976.

QUINN, J. L. **Scintillation scanning in clinical medicine**. 1.ed. Saunders: Philadelphia, 1964. 278 p.

RAHAL, S. C.; HOSSNE, W. S.; TEIXEIRA, E. M. S. Uso da fluoresceína na identificação dos vasos superficiais das glândulas mamárias de cadelas. **Ciência Rural**, v. 25, n. 2, p. 251-254. 1995.

RUBERT, J.; SAUTET, J. Y.; GINE, J. M.; LOPEZ, C.; RODRIGUEZ, A. Tophographie des Collecteurs Lymphatiques Mammaires de la chienne. **Anatomy Histology Embriology**, v. 19, p. 347-358, 1990.

RUBERT, J.; SAUTET, J. Y.; GINE, J. M.; LOPEZ, C.; RODRIGUES, A. Communications lymphatico-veineuses dans la glande mammaire. **Anatomischer Anzeiger**, v.172, p.331-339. 1991.

SAARNAK, A. E.; HURKMANS, C. W.; PIETERS, B. R.; VALDÉS-OLMOS, R. A., KOOL, L. J. S.; HART, A. A. M.; MULLER, S. H. Accuracy of internal mammary lymph node localization using lymphoscintigraphy, sonography and computed tomography. **Radiotherapy an Oncology**, v. 65, n. 2, p. 79-88. 2002.

SAUTET, J. Y.; RUBERT, J.; LOPEZ, C.; GINE, J. M.; ORDOÑEZ, G.; CINGIA, A. lymphatic system of mammary glands in the dog: An approach to the surgical treatment of malignance tumors. **Canine Practice**, v.17, n.2, p.30-33. 1992.

SCHOPPMANN, S. F.; HORVAT, R.; BIRNER, P. Lymphatic vessels and lymphangiogenesis in female cancer: Mechanisms, clinical impact and possible implications for anti-lymphangiogenic therapies. **Oncology Reports**, v. 9, p. 455-460. 2002.

- SKOBE, M.; HAWIGHORST, T.; JACKSON, D. G.; PREVO, R.; JANES, L.; ELASCO, P.; RICCARDI, L.; ALITALO, K.; CLAFFLY, K.; DETMAR, M. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis. **National Medicine**, v. 7, p. 192-198. 2001.
- SMITH, A. N. Lymphoscintigraphy and its Potential Utility in Veterinary Oncology. **Veterinary Cancer Society**, v. 26, n.4, p. 3-4. 2002.
- STADELMANN, W. K.; COBBINS, L.E.; LENTSCH, E. J. Incidence of nonlocalization of sentinel lymph nodes using preoperative lymphoscintigraphy in 74 consecutive head and neck melanoma and merkel cell carcinoma patients. **Annals of Plastic Surgery**, v. 52, n. 6, p. 546-550. 2004.
- STALKER, L. K., M. D.; FELOW, C. F.; SCHLOTTHAUER, C. F. Neoplasm of Mammary Gland in the Dog. **North American Veterinary Practice**, v.17, p.33-43. 1936.
- STRAND, S. E.; PESSON, B. R. Quantitative lymphoscintigraphy I: Basic concepts for optimal uptake of radiocolloids in the parasternal lymph nodes of rabbits. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 20, n. 10, p.1038-1046. 1979.
- STRUIKMANS, H.; RIJK, P. P. Optimizing radiotherapy of the internal mammary chain in breast carcinoma by scintigraphy. **Radiotherapy Oncology**, v. 41, n. 1, p. 15-20. 1996.
- SUGA, K.; OGASAWRA, N.; YUAN, Y.; OKADA, M.; MATSUNAGA, N.; TANGOKU, A. Visualizations of breast lymphatic pathways with an indirect computed tomography lymphography using a nonionic monometric contrast medium iopamidol: Preliminary results. **Investigative Radiology**, v. 38, n. 2, p. 73-84. 2003.
- TATINI, V. R.; DWORKIN, H. Fusion lymphoscintigraphy with a 24-hour Tc-99m MDP bone scan for sentinel lymph node detection and imaging. **Clinical Nuclear Medicine**, v. 26, n. 1, p. 53. 2001.
- TUROGLU, H. T.; JANJAN, N. A.; THORSEN, M. K.; SHAFFER, K. A.; RITCH, P. S.; HANSEN, R. M.; WALKER, A. P.; GAI, M.; COLLIER, B. D. Imaging of regional spread of breast cancer by internal mammary lymphoscintigraphy, CT and MRI. **Clinical Nuclear Medicine**, v. 17, n. 6, p. 482-484. 1992.

UELTSCHI, G. Bone and joint imaging with Tc-99m labelled phosphates as a new aid in veterinary orthopaedics. **Journal of American Veterinary Medical Society**, v. 18, p. 80-84. 1977.

UREN, R. F. Lymphatic Drainage of the Skin. **Annals of Surgical Oncology**, v. 11, n. 3, p. 179S–185S. 2004.

VALDES-OLMOS, R. A.; JANSEN, L.; MULLER, S. H.; HOEFNAGEL, C. A.; NIEWEG, O. Aportacion de la Medicina Nuclear al estudio del drenaje linfatico y la identificacion del ganglio linfatico centinela en oncologia. **Revista Espanhola de Medicina Nuclear**, v. 18, n. 2, p. 111-121. 1999.

VEAUX, M. J. **Contribution à l'estude du traitement des tumeurs mammaires de la chienne et la chatte**. Paris, 1978. 83 p. Tese – Université du Paris.

VEIKKOLA, T.; KARKKAINEN, M.; CLAEISSON-WELSH, L. Regulation of angiogenesis via vascular endotelial growth factor receptors. **Cancer Research**, v.60, p.203-212. 2000.

VOTION, D. M. **Equine Respiratory Diseases: Scintigraphy**. 1.ed. New York: Lekeux. 2001. 562p.

XAVIER, N. L.; AMARAL, B. B.; CERSKI, C. T.; FUCHS, S. C.; SPIRO, B. L.; OLIVEIRA, O. L.; MENKE, C. H.; BIAZUS, J. V.; CAVALHEIRO, J. A. E.; SCHWARTSMANN, G. Sentinel lymph node identification and sampling in women with early breast cancer using 99m Tc labelled dextran 500 and patent blue V dye. **Nuclear Medicine Communications**, v. 22, n. 10, p. 1109-17. 2001.

WEAVER, M. P. Twenty years of equine scintigraphy – a coming of age? **Equine Veterinary Journal**, v. 27, n. 3, p. 163-165. 1995.

WILCZEKA, B.; SANDELINB, K.; ERIKSSONB, S.; LARSSONC, S. A. e JACOBSSOND, H. Sentinel node scintigraphy in breast cancer using a dual tracer technique. **Nuclear Medicine Communications**, v. 25, n. 2, p. 135-138. 2004.

WILSON, G. P.; HAYES, H. M. **Cirurgia de Pequenos animais**. 2.ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1980. 362 p.

Apêndice A

Roteiro de Investigação

Nº Animal

Espécie Animal : canina

Raça : SRD

Origem: Biotério - FMUSP

Peso aproximado: 10 Kg

Técnica

- Radiofármaco ^{99m}Tc - dextran70
- Tempo de contagem: 5 minutos
- Dose e volume: 0.5mCi/0,4mL
- Técnica de injeção: Peripapilar Intraparenquimatosa

Captação	Imagem	Δt após a injeção	IDcomputador
1ª			
2ª			
3ª			
4ª			
5ª			
6ª			
7ª			
8ª			

OBSERVAÇÕES.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Matriz 256x256

	Peso
Seringa vazia	
Seringa Cheia	
Seringa + residual	

Data:

Apêndice B

Cálculo para avaliação funcional da drenagem linfática mamária

Glândula Mamária			
Animal 1			
Seringa	Peso	Peso da dose	Nº de Contagem (Ctg)
Vazia	m1		
Cheia	m2	m2-m3	$(m2-m3) \times CtgVR / (m3-m1) = CT$
com volume residual	m3	m3-m1	Ctg do volume residual (CtgVR)

* Os valores m1, m2 e m3 foram obtidos pela pesagem da seringa.

* O valor de (m2-m3) corresponde ao peso do volume que foi administrado na glândula mamária.

* O valor de (m3-m1) corresponde ao peso do volume residual contido na seringa após a administração do radiofármaco

* A seringa utilizada para administração do radiofármaco foi em seguida posicionada sob a câmara de cintilação. Portanto, o valor CtgVR corresponde ao número de contagens captado pela câmara de cintilação.

* O valor obtido pelo cálculo de $(m2-m3) \times CtgVR / (m3-m1)$ corresponde a 100% do volume que foi administrado na glândula mamária. Este valor foi utilizado para o cálculo percentual da dose retida na glândula mamária e drenada por cada linfonodo.

horário				
Projeção	Nº de Pixels	Ctg	Ctg total	%
glândula mamária	n1	c1	$n1 \times c1 = Ctg1$	$Ctg1 \times 100 / CT$
Linfonodo 1	n2	c2	$n2 \times c2 = Ctg2$	$Ctg1 \times 100 / CT$
Linfonodo 2	n3	c3	$n3 \times c3 = Ctg3$	$Ctg1 \times 100 / CT$

Os mesmos cálculos foram aplicados para todas as imagens seguintes, para cada um dos animais.