

Estudio histopatológico del ganglio centinela en cáncer de mama

Álvaro Lezid Padilla Rodríguez*

RESUMEN

A medida que se han ido difundiendo los métodos de detección oportuna del cáncer de mama, se ha incrementado el hallazgo de carcinomas en etapas tempranas. Esto ha conllevado a modificar también la estrategia terapéutica en las pacientes con el afán de proporcionar tratamientos menos agresivos, pero efectivos al mismo tiempo, mejorando también la supervivencia general de quienes enfrentan esta enfermedad. En este mismo sentido el estudio del ganglio centinela se está convirtiendo en el estándar de oro como parte integral en el manejo del cáncer de mama en pacientes con ganglios clínicamente negativos. La conducta terapéutica reside en el reporte histopatológico final, siendo positivo o negativo para metástasis y, aunque el procedimiento para la detección y obtención del ganglio centinela está bien descrito, los mecanismos para llegar al diagnóstico histopatológico no siempre son bien conocidos, ya que no existe un protocolo universal y es variable en diferentes centros. El propósito de este trabajo es el hacer una revisión de los métodos empleados en el estudio histopatológico del ganglio centinela incluidos análisis macroscópico, estudio transoperatorio, análisis microscópico, así como el empleo de técnicas como inmunohistoquímica y análisis molecular.

Palabras clave: Ganglio centinela, cáncer de mama, metástasis.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, gracias a la amplia difusión de los estudios de mastografía de tamizaje, se está reflejando un importante cambio en la presentación clínica del cáncer de mama, detectando cada vez más tumores de menor tamaño, con menor afección de ganglios linfáticos, lo que correlaciona con mejor supervivencia de las pacientes.¹⁻³

ABSTRACT

As the methods of screening have spread, the finding of cancer in early stages has increased. This has led to modification of the therapeutic strategy of the patients in order to grant less aggressive, but at the same time more effective treatment, consequently making it possible to improve general survival of this disease. In the same setting the study of the sentinel lymph node is becoming the gold standard in comprehensive breast cancer management. The therapeutic approach relies on the final histopathology report, being either positive or negative for metastasis, and even though the procedure for the detection and obtaining of the sentinel lymph node has been well described, the mechanisms by which the histopathological diagnosis is made aren't always well known since there isn't a universal protocol and so may vary depending on the laboratory. The purpose of the present paper is to review the methods employed in the histopathological study of the sentinel lymph node, including the macroscopic, frozen section and microscopic analysis, as well as the use of special techniques such as immunohistochemistry and molecular analysis.

Key words: Sentinel lymph node, breast cancer, metastases.

Así mismo, es bien sabido que, a medida que progresa la evolución natural del cáncer de mama, hay un significativo descenso en los rangos de supervivencia general, que van del 80% en estadios tempranos (I-II), 20-60% en estadio IIb y III, y 5% en estadio IV.⁴ Por ello, es de gran importancia contar con métodos que permitan identificar pacientes en diferentes grupos de riesgo de progresión, ya que la estrategia terapéutica no puede ser la misma tratándose de casos con enfermedad localizada a la glándula mamaria, enfermedad con metástasis regional o enfermedad sistémica.

Se ha demostrado también que en el control adecuado de la enfermedad local, un procedimiento terapéutico muy extenso no es necesario.⁵

* Departamento de Patología Quirúrgica, Centro Médico ABC.

Recibido para publicación: 10/03/08. Aceptado: 24/03/08.

Correspondencia: Dr. Álvaro Padilla Rodríguez
Centro Médico ABC, Departamento de Patología
Sur 136 núm. 116, Col. Las Américas, 01120 México, D.F.
Tel/Fax: 52-30-81-71. E-mail: apadillar@abchospital.com

Sin duda alguna, un indicador pronóstico importante en el cáncer de mama es el estado de los ganglios linfáticos,⁶ de tal forma que el manejo efectivo del tejido axilar es esencial en el tratamiento del cáncer temprano.

El estudio histopatológico de la disección ganglionar axilar como procedimiento quirúrgico frecuente en el manejo del cáncer de mama permite no solamente detectar metástasis ganglionares para la adecuada estadificación, sino también establecer un control local ganglionar adecuado que permite prevenir una probable progresión a enfermedad sistémica. Sin embargo, dada la tendencia a detectar tumores en etapas más tempranas y con menos probabilidad de enfermedad metastásica, el evitar procedimientos quirúrgicos extensos con mayor morbilidad como es la disección axilar (sin que por ello deje de ser un procedimiento eficaz), se está convirtiendo en el manejo ideal del cáncer temprano.

Es así que el estudio del ganglio centinela en glándula mamaria, entendido como el o los primeros sitios de drenaje linfático en la progresión del cáncer, ha tenido en los últimos años un gran impacto y es considerado en algunos lugares como el procedimiento estándar en el manejo integral del cáncer de mama en pacientes con ganglios clínicamente negativos.^{7,8}

El concepto de ganglio centinela fue empleado por primera vez en 1960 en el estudio de la progresión del cáncer de parótida.⁹ Sin embargo, fue hasta inicios de los 90 cuando Morton y colaboradores postularon los mecanismos para que la obtención del ganglio centinela sea práctica.¹⁰ Desde entonces se ha estudiado y aplicado en diferentes formas de tumores malignos sólidos,¹¹ siendo en melanoma y cáncer de mama donde ha tenido quizás el mayor impacto.¹²

Los resultados de estos estudios indican que si el o los ganglios centinelas son negativos durante el estudio histopatológico, el valor predictivo negativo de los restantes ganglios (no centinelas) es mayor al 95%,¹³⁻¹⁶ por lo que se puede evitar la disección ganglionar más extensa; así mismo el hallazgo de metástasis durante el estudio histopatológico en el o los ganglios centinelas correlacionan bien con el estado de afección de los ganglios

restantes no centinelas y al mismo tiempo con el rango de recurrencia de la enfermedad.¹⁷

Los procedimientos técnicos para la identificación y obtención del ganglio centinela están bien descritos, siendo el uso combinado del mapeo del drenaje linfático por linfocentellografía junto con la inyección de colorante azul (isosulfán, azul patente o azul de metileno), más la radiomarcación, el procedimiento más recomendado por incrementar la precisión en la identificación de el o los ganglios centinelas.^{7,8,10,18-23}

Aunque el concepto del ganglio centinela está bien validado, y la toma de decisiones depende estrictamente del resultado final de la evaluación histopatológica del mismo (que tiene solamente dos posibilidades: ganglio centinela positivo o negativo para metástasis), es importante saber que alcanzar este resultado involucra todo un procedimiento de manejo del ganglio centinela obtenido. Y para eso es necesario que todo médico o especialidad involucrada en el manejo del cáncer de mama esté familiarizado con estos conceptos:

- El objetivo del estudio histopatológico del ganglio centinela es el de identificar metástasis, en el entendido de que su hallazgo derivará en la complementación de la disección ganglionar axilar.
- Se entiende por metástasis (o macrometástasis) a todo foco de células neoplásicas mayor a 2 mm. El cual junto con el incremento del tamaño del tumor y la extensión extracapsular son factores predictivos significativos de metástasis en ganglios linfáticos no centinelas²⁴ (*Figura 1*).
- Se define como micrometástasis a todo foco de células neoplásicas cuyo diámetro es mayor de 0.2 mm. y menor a 2 mm (*Figura 2*).
- El significado biológico de las micrometástasis, sin embargo, sigue siendo controversial, ya que hay estudios que indican que su hallazgo no implica mayor riesgo de enfermedad metastásica en ganglios no centinelas, o solamente involucra un riesgo mínimo;²⁴⁻²⁷ sin embargo, la mayoría de otros estudios avalan una significativa correlación con peor pronóstico

en pacientes incluso con mínima afección metastásica en el ganglio centinela.²⁸⁻³¹

- A pesar de esta controversia, la micrometástasis es una forma de metástasis ganglionar catalogada como N1mi según la sexta edición del *Manual de Estadificación de Cáncer* (American Joint Committee on Cancer-2002) y, por lo tanto, siempre debe de ser reportada.³²
- Se define como «células tumorales aisladas» a todo depósito de células neoplásicas de 0.2

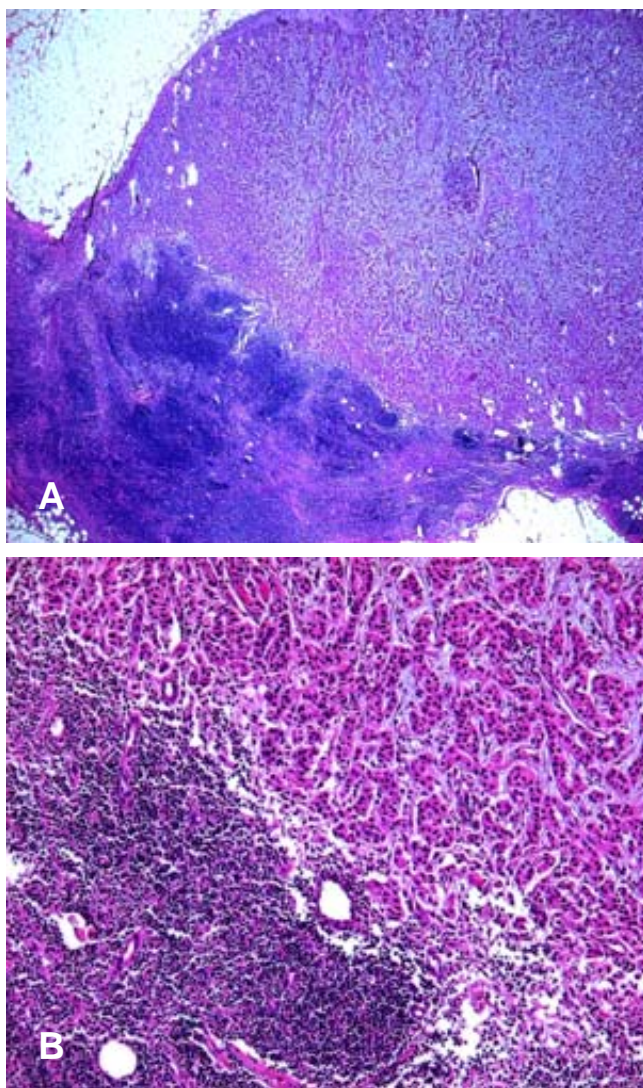


Figura 1. A: Metástasis en ganglio centinela (macrometástasis) en estudio transoperatorio. **B:** Obsérvese las células neoplásicas formando glándulas (derecha) entre el tejido linfóide del ganglio residual (izquierda). Hematoxilina-eosina.

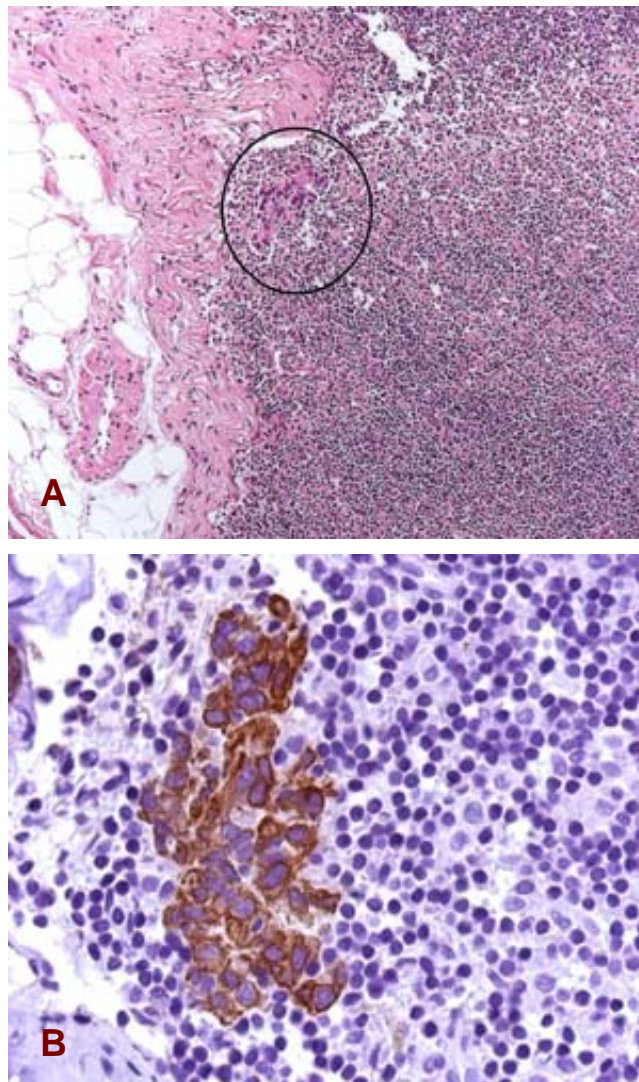


Figura 2. Micrometástasis. A: Grupo de células metastásicas de 0.8 mm (círculo), hematoxilina-eosina. **B:** Inmunohistoquímica para protocolo de ganglio centinela (citoqueratina AE1/3), resalta más evidentemente la micrometástasis que con hematoxilina-eosina pudiera pasar desapercibida.

mm o menor. Su significado hasta la fecha es desconocido; pero para fines de estadificación, su hallazgo debe ser ignorado, por lo que es considerando todavía como N0, aunque su presencia debe de ser reportada con la designación de pN0 (i+)^{33,34} (Figura 3).

- Se define como metástasis ocultas a todo grupo de células metastásicas que no ha sido identificado en el estudio inicial con hema-

toxilina-eosina, pero que es aparente después de realizar cortes profundos del mismo bloque de parafina, o posterior a análisis con inmunohistoquímica, independientemente del tamaño a que se refiera.

Actualmente no existe un protocolo del proceso histopatológico ideal del ganglio centinela que permita identificar el 100% de los ganglios positivos. La gran mayoría de los protocolos son sólo recomendaciones basadas en los resultados obtenidos en diferentes instituciones en donde el estudio del ganglio centinela es rutinario.

El objetivo del presente estudio es el de hacer una revisión y análisis de los diferentes procedimientos histopatológicos en el manejo y diagnóstico del ganglio centinela, los cuales varían desde el uso o no del estudio transoperatorio, la evaluación de sólo un corte con hematoxilina-eosina, el uso de múltiples cortes seriados con hematoxilina-eosina, el empleo de inmunohistoquímica y hasta el uso del análisis molecular.³⁵⁻⁴²

ESTUDIO TRANSOPERATORIO

El empleo del estudio transoperatorio en el ganglio centinela se encuentra ampliamente difundido con

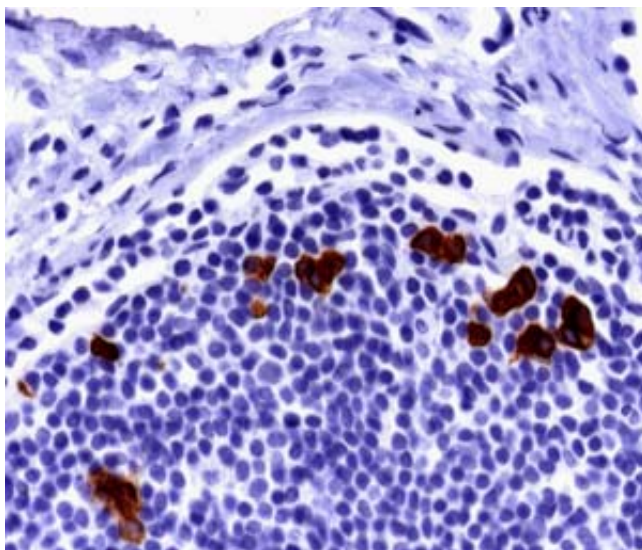


Figura 3. Células tumorales aisladas (menos de 0.2 mm) detectadas solamente por inmunohistoquímica (citoqueratina AE1/3).

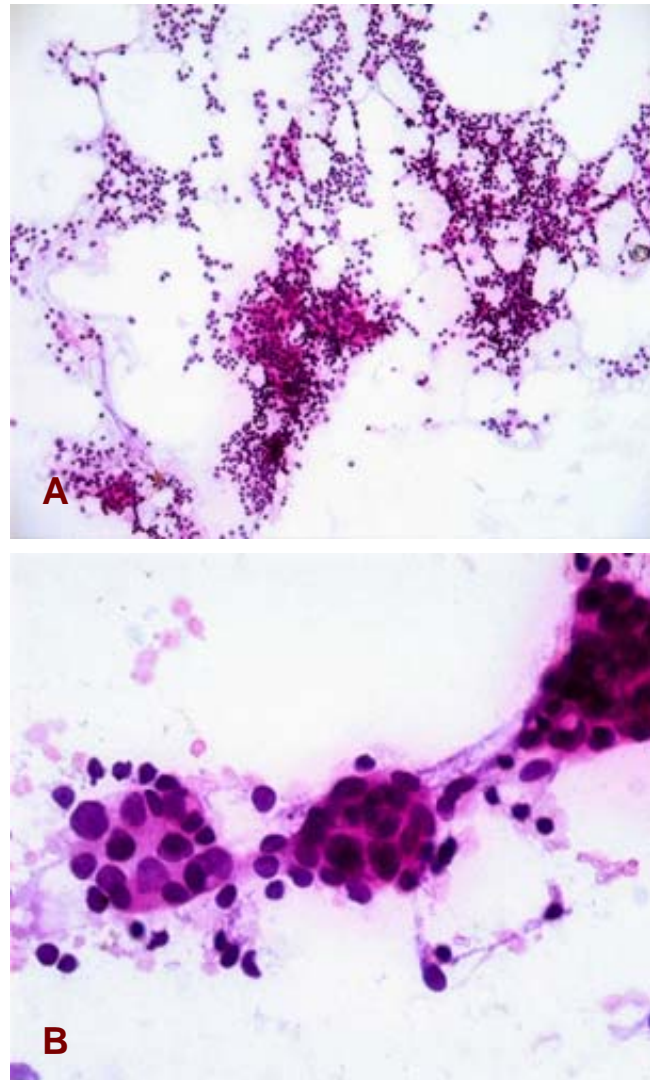


Figura 4. Impronta en transoperatorio de ganglio centinela. **A:** Grupo de células epiteliales (centro) entre linfocitos residuales. **B:** Mayor aumento, células epiteliales metastásicas con tendencia a formar glándulas. Hematoxilina-eosina.

la finalidad de poder detectar metástasis durante la cirugía. Sin embargo, no es una práctica rutinaria en todas las instituciones debido a que tiene tanto ventajas como desventajas.

La valoración transoperatoria del ganglio centinela se hace en un principio con el análisis macroscópico de el o los ganglios seccionados, en donde en casos en los que haya metástasis macroscópicamente evidente pudiera reportarse como positivo, dejando el estudio histológico para procesamiento definitivo.

La valoración histológica puede realizarse de dos formas:

1. *Improntas de las superficies seccionadas de los ganglios centinelas.* Permite valorar mediante citología la presencia de células metastásicas sin necesidad de someter el tejido a congelación, evitando así los riesgos mencionados más adelante. El estudio de improntas tiene un rango de exactitud reportado del 78 al 99%, con una sensibilidad que oscila entre el 46 y 96% y rango de falsos negativos del 5 al 70%. Sin embargo, requiere de un entrenamiento considerable del patólogo para poder identificar dichas células neoplásicas^{35,39,43,44} (Figura 4).
2. *Cortes por congelación.* Permite valorar la arquitectura del ganglio linfático y la presencia de grupos de células metastásicas durante el transoperatorio. Tiene un rango de exactitud del 79 al 98%, con sensibilidad del 55 al 91% y rango de falsos negativos que oscilan del 9 al 45%.^{39,45}

La ventaja más importante del transoperatorio es que permite complementar durante el mismo tiempo quirúrgico el procedimiento de linfadenectomía axilar en todos los casos en los que el resultado transoperatorio del ganglio centinela sea positivo, evitando así una segunda intervención quirúrgica.

Las desventajas más importantes radican en el riesgo de resultados falsos positivos que pueden deberse a artificios celulares inducidos a los efectos de la congelación del tejido; riesgo de resultados falsos negativos, ya sea por una valoración subóptima de la cantidad de tejido obtenido o por focos pequeños de metástasis no aparentes durante el transoperatorio y que se hacen aparentes en el estudio definitivo; o por las características morfológicas propias de las células tumorales, como es el caso del carcinoma lobular en donde el riesgo de falsos negativos se ha reportado hasta en el 30%.^{35,46,47}

EVALUACIÓN DE CORTES CON HEMATOXILINA-EOSINA

Es la evaluación de los cortes de el o los ganglios centinelas con hematoxilina-eosina (HE) la que

permite establecer el diagnóstico definitivo para la toma de decisiones posteriores.

Un análisis minucioso de un solo corte con HE permite detectar la mayoría de los ganglios positivos, tratándose fundamentalmente de macrometástasis (Figura 1). Es, sin embargo, bien sabido que un estudio más completo del ganglio centinela con múltiples cortes con HE incrementa el rango de detección de ganglios positivos tanto de macrometástasis como de micrometástasis. El número de cortes ideal, sin embargo, no está definido y varía ampliamente entre los diferentes protocolos reportados que van desde realizar tres niveles hasta más de 50, incluso en algunos casos todos los necesarios hasta acabar por completo el tejido incluido en parafina.^{35,39,42} De la misma forma, el intervalo entre cada nivel es ampliamente variable, y va desde dos micras hasta 500 micras de distancia entre cada corte.⁴² Por ejemplo, Yared y colaboradores, en un estudio realizado en el MD Anderson, reportan un rango de detección correcta de 89.6% de ganglios centinelas positivos con un solo corte inicial con HE, rango que se incrementa hasta el 99% usando ocho niveles con HE.⁴⁰ De tal forma que es más recomendable el uso de un protocolo con análisis de múltiples niveles; el número más común de cortes usados en diferentes protocolos oscila entre tres a seis, y la distancia más utilizada entre los cortes analizados oscila entre 50 y 200 micras de intervalo.^{41,42}

Independientemente de cuál sea el número de cortes realizados, es importante que se estudie la mayor superficie del ganglio linfático. Esto es en ganglios de más de 5 mm, seccionar el ganglio en dos mitades y analizar ambas en el protocolo (si se trata de ganglios de mayor tamaño, se pueden seccionar en más de dos mitades), ya que es conocido que hasta en 40% de los casos la metástasis puede estar presente sólo en una mitad del ganglio linfático.⁴⁸ Así mismo, se sabe que mientras más ganglios centinelas se obtienen, el rango de detección de ganglios positivos incrementa en forma significativa.⁴⁰

INMUNOHISTOQUÍMICA

La aplicación de la inmunohistoquímica complementaria se está utilizando cada vez más dentro

del protocolo de estudio del ganglio centinela. Mediante esta técnica es posible detectar grupos pequeños de células metastásicas que pueden ser inaparentes al sólo estudio con HE y, por lo tanto, identificar subpoblaciones de pacientes con mayor riesgo de presentar metástasis en ganglios linfáticos no centinelas.

Varios anticuerpos se han utilizado para la detección de las células metastásicas. Los más comúnmente empleados son la citoqueratina de amplio espectro AE1/AE3, Cam 5.2, citoqueratina 7, citoqueratina 8, antígeno epitelial de membrana, entre otros.⁴²

El empleo de inmunohistoquímica permite incrementar el rango de detección, sobre todo de las metástasis ocultas (*Figura 2*). El rango de conversión de ganglios negativos con HE a ganglios positivos con el empleo de inmunohistoquímica se ha reportado desde 7% hasta 47% en diferentes series;^{35,39,43,49-54} la mayoría de las cuales encuentran un pronóstico significativamente peor comparado con el de pacientes con ganglios negativos.

Es importante mencionar que la gran mayoría de estos protocolos utiliza una combinación de múltiples niveles, alternando niveles con HE y niveles con inmunohistoquímica. En donde, si bien las metástasis se resaltan con la inmunohistoquímica, con frecuencia también se identifican en los niveles profundos con HE. Siendo los casos en los que la metástasis es identificada solamente mediante inmunohistoquímica un porcentaje menor, la mayoría de los cuales corresponden a células tumorales aisladas (*Figura 3*). Yared y colaboradores reportan, en el mismo estudio mencionado anteriormente, incremento en la detección correcta de ganglios positivos de 89.6% sólo con un nivel de HE a 97.9% usando dos niveles con HE y uno con inmunohistoquímica, y a 100% usando ocho niveles con HE y dos con inmunohistoquímica.⁴⁰

Pargaonkar y colaboradores, en un estudio de ganglio centinela con protocolo de múltiples niveles incluido el empleo de inmunohistoquímica seguido de la disección axilar, encontraron que hasta en 3.6% de los ganglios centinelas negativos presentaron metástasis en ganglios linfáticos no centinelas en la disección axilar posterior.⁴¹ Por lo que hay que tener en cuenta que pudieran haber casos

negativos al ganglio centinela que, sin embargo, pueden albergar metástasis en otros ganglios. Esto puede deberse a alteraciones en el drenaje linfático regional producto de procedimientos previos en la región axilar o a la localización muy externa del carcinoma primario. Es así que una estrecha correlación con los antecedentes y el diagnóstico previo al estudio del ganglio centinela es requisito para una adecuada valoración del procedimiento.

ESTUDIOS MOLECULARES

Con el afán de encontrar métodos mucho más sensibles en la detección de células metastásicas, se han aplicado técnicas moleculares en el estudio del ganglio centinela como la detección de ARN mensajero de queratina por reacción en cadena de polimerasa con transcriptasa reversa (PCR). Estos métodos prometen una mayor sensibilidad en la detección de células epiteliales en ganglios negativos con HE e inmunohistoquímica.⁵⁵ Sin embargo, su uso es muy limitado, ya que el procedimiento requiere de la digestión del tejido procesado y no hay evidencia de qué tipo de célula es la que contiene queratina, por lo que no es posible hacer una adecuada correlación morfológica debido a que en algunas ocasiones pueden encontrarse células epiteliales aisladas no metastásicas dentro del ganglio linfático producto de biopsias previas o manipulación regional, o puede haber una expresión aberrante de queratinas en células accesorias del ganglio linfático como las células dendríticas foliculares.^{56,57} Además, el significado biológico de estos hallazgos permanece desconocido hasta la fecha, por lo que el uso de técnicas moleculares sólo debe ser tomado en cuenta con fines de investigación y no para determinar una conducta terapéutica.³⁵

En el Departamento de Patología del Centro Médico ABC, la evaluación del ganglio centinela se inicia con el estudio transoperatorio del o los ganglios obtenidos, para lo cual empleamos la combinación tanto de la impronta como de los cortes por congelación, en el entendido de que todo resultado positivo derivará en una disección axilar subsecuente. En todos los casos negativos durante el transoperatorio, se somete el ganglio centinela a

un protocolo en cortes definitivos, con el conocimiento tanto del cirujano como de la paciente de que en este estudio pudiera resultar positivo y requerir de una cirugía complementaria posterior de disección axilar.

El protocolo consiste en un análisis de cinco niveles de cortes empleando HE e inmunohistoquímica. Citoqueratina de amplio espectro AE1/AE3 es el marcador que utilizamos aplicando al primero, tercero y quinto nivel, y HE al segundo y cuarto nivel. Con esto se incrementa la sensibilidad para la detección de ganglios positivos de macrometástasis y, sobre todo, de micrometástasis.

CONCLUSIONES

Siendo el estado de los ganglios linfáticos el factor pronóstico más importante en cáncer de mama, es importante implementar un sistema de estudio que permita segregar las pacientes en grupos de riesgo de enfermedad metastásica para conducir la más adecuada estrategia terapéutica.

El estudio del ganglio centinela se está convirtiendo en el estándar adecuado en el manejo del cáncer de mama en pacientes con ganglios clínicamente negativos, por lo que debe implementarse en todo centro en el que exista un manejo integral de esta entidad.

La decisión del empleo del estudio transoperatorio debe ser tomada en conjunto con el equipo multidisciplinario una vez consideradas todas las salvedades que implica.

El protocolo ideal debe ser aquel que permita identificar todas las macrometástasis ganglionares, pero al mismo tiempo que permita detectar las micrometástasis ya que la mayoría de los reportes avalan un pronóstico menos favorable en pacientes con micrometástasis.

El empleo de un protocolo con múltiples niveles combinando HE con inmunohistoquímica incrementa el rango de detección de micrometástasis, por lo que es altamente recomendado. Al mismo tiempo, permite detectar los casos de células tumorales aisladas y, aunque su significado no ha sido esclarecido, su reporte nos permitirá en un futuro poder determinar su conducta biológica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cady B, Stone MD, Schuler JG, Thakur R, Wanner MA, Lavin PT. The new era in breast cancer. Invasion, size, and nodal involvement dramatically decreasing as a result of mammographic screening. *Arch Surg* 1996; 131: 301-308.
2. Andersen LD, Remington P, Trentham-Dietz A, Reeves M. Assessing a decade of progress in cancer control. *Oncologist* 2002; 7: 200-204.
3. Ibarra JA. The pathologist in breast cancer: Contemporary issues in the interdisciplinary approach. *Sur Oncol Clin N Am* 2000; 9: 295-317.
4. Harris JR, Henderson CI. Natural history and staging of breast cancer. In: Harris JR, Henderson CI, Hellman S, Kinne DW (eds). *Breast Diseases*. Philadelphia: Lipincott, 1897; 233-258.
5. Fisher B, Anderson S, Bryant J, et al. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1233-1241.
6. Nemoto T, Vana J, Bedwani RN, McGregor FN, Murphy GP. Management and survival of female breast cancer: Results of a national survey by the American College of Surgeons. *Cancer* 1980; 45: 2917-2924.
7. Leong SPL, Morita ET, Treseler PA, Wong JH. Multidisciplinary approach to selective sentinel lymph node mapping in breast cancer. *Breast Cancer* 2000; 7: 105-113.
8. Leong SPL. Selective sentinel lymphadenectomy for breast cancer in the United States. *Asian J Surg* 2004; 27: 268-274.
9. Gould EA, Winiship T, Pholbin PH, Hyland Kerr H. Observations on a «sentinel node» in cancer of the parotid. *Cancer* 1960; 13: 77-78.
10. Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127: 392-399.
11. Borgstein P, Meijer S. Historical perspective of lymphatic tumour spread and the emergence of the sentinel node concept. *Eur J Surg Oncol* 1998; 24: 85-89.
12. Leong SPL. Paradigm of metastasis for melanoma and breast cancer based on the sentinel lymph node experience. *Ann Surg Oncol* 2004; 11 (suppl 3): 192s-197s.
13. Reintgen DS, Cruse CW, Wells K, et al. The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg* 1994; 220: 759-767.
14. Albertini JJ, Lyman GH, Cox X, et al. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. *JAMA* 1996; 276: 1818-1822.
15. Cody HS. Sentinel lymph node mapping in breast cancer. *Oncology* 1999; 13: 25-34.
16. Leong SPL. Paradigm shift of staging and treatment for early breast cancer in the sentinel lymph node era. *Breast J* 2006; 12 (Suppl 2): S128-S133.
17. Fan YG, Tan YY, Wu CT, et al. The effect of sentinel node tumor burden on non-sentinel node status and recurrence rates in breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2005; 12: 705-711.
18. Krag DN, Harlow S, Weaver D, Ashikaga T. Radiolabeled sentinel node biopsy: collaborative trial with the National Cancer Institute. *World Surg* 2001; 25: 823-828.
19. Linehan DC, Hill AD, Tran KN, y col. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: unfiltered radioisotope is superior to filtered. *J Am Coll Surg* 1999; 188: 377-381.
20. Simmons R, Thevarajah S, Brennan MB, Christos P, Osborne M. Methylene blue dye as an alternative to isosulfan blue dye for sentinel lymph node localization. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 242-247.

21. Blessing WD, Stoler AJ, Teng SC, et al. A comparison of methylene blue and lymphazurin in breast cancer sentinel node mapping. *Am J Surg* 2002; 184: 341-345.
22. Goyal A, Newcombe RG, Mansel RE, ALMANAC Trialist Group. Role of routine preoperative lymphoscintigraphy in sentinel node biopsy for breast cancer. *Eur J Cancer* 2005; 41: 238-243.
23. Ozmen C, Cabiogly N. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer: current controversies. *Breast J* 2006; 12 (suppl 2): S134-S142.
24. Viale G, Maiorano E, Prurevi G, et al. Predicting the risk for additional axillary metastases in patients with breast carcinoma and positive sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg* 2005; 241: 319-325.
25. Chu KU, Turner RR, Hansen NM, Brennan MB, Giuliano AE. Sentinel node metastasis in patients with breast carcinoma accurately predicts immunohistochemically detectable nonsentinel node metastasis. *Ann Surg Oncol* 1999; 6: 756-761.
26. Reynolds C, Mick R, Donohue JH, et al. Sentinel lymph node biopsy with metastasis; can axillary dissection be avoided in some patients with breast cancer? *J Clin Oncol* 1999; 17: 1720-1726.
27. Nasser IA, Lee AK, Bosari S, Saganich R, Heatley G, Silverman ML. Occult axillary lymph node metastases in «node-negative» breast carcinoma. *Hum Pathol* 1993; 24: 959-957.
28. Colleoni M, Rotmensz N, Peruzzotti G, et al. Size of breast cancer metastases in axillary lymph nodes: clinical relevance of minimal lymph node involvement. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1379-1389.
29. de Mascarel I, Bonichon F, Coindre JM, Trojani M. Prognostic significance of breast cancer axillary lymph node micrometastases assessed by two special techniques: reevaluation with longer follow-up. *Br J Cancer* 1992; 66: 523-527.
30. Hainsworth PJ, Tjandra JJ, Stillwell RG, et al. Detection and significance of occult metastases in node-negative breast cancer. *Br J Surg* 1993; 80: 459-463.
31. McGuckin MA, Cummings MC, Walsh MD, Hohn BG, Bennett IC, Wright RG. Occult axillary node metastases in breast cancer: their detection and prognostic significance. *Br J Cancer* 1996; 73: 88-95.
32. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. *AJCC Cancer Staging Handbook*, 6th ed. New York: Springer-Verlag, 2002.
33. Singletary SE, Greene FL, Sobin LH. Classification of isolated tumor cells: clarification of the 6th edition of the American Joint Committee on Cancer Staging Manual. *Cancer* 2003; 98: 2740-2741.
34. Singletary SE, Allred C, Ashley P, et al. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3628-3636.
35. Treseler P. Pathologic examination of the sentinel lymph node: What is the best method? *Breast J* 2006; 12 (Suppl 2): S143-S151.
36. Kelley SW, Komorowski RA, Dayer AM. Axillary sentinel lymph node examination in breast carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123: 533-535.
37. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 966-978.
38. van Diest PJ, Peterse HL, Borgstein PJ, Hoekstra O, Meijer CJ. Pathological investigation of sentinel lymph nodes. *Eur J Nucl Med* 1999; 26 (Suppl 4): S43-S49.
39. Cserni G. Histopathologic examination of the sentinel lymph nodes. *Breast J* 2006; 12 (suppl 2): S152-S156.
40. Yared MA, Middleton LP, Smith TL, et al. Recommendations for sentinel lymph node processing in breast cancer. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 377-382.
41. Pargaonkar AS, Beissner RS, Snyder S, Speights VO. Evaluation of immunohistochemistry and multiple-level sectioning in sentinel lymph nodes from patients with breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 701-705.
42. Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N, et al. Discrepancies in current practice of pathological evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer. Results of a questionnaire based survey by the European Working Group for Breast Screening Pathology. *J Clin Pathol* 2004; 57: 695-701.
43. Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N, et al. Pathological work-up of sentinel lymph nodes in breast cancer. Review of current data to be considered for the formulation of guidelines. *Eur J Cancer* 2003; 39: 1654-1667.
44. Zgajnar J, Frkovic-Grazio S, Besic N, et al. Low sensitivity of the touch imprint cytology of the sentinel lymph node in breast cancer patients. Results of a large series. *J Surg Oncol* 2004; 85: 82-96.
45. Turner RR, Hansen NM, Stern SL, Giuliano AE. Intraoperative examination of the sentinel lymph node for breast carcinoma staging. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 627-634.
46. van Diest PJ, Torrens H, Borgstein PJ, et al. Reliability of intraoperative frozen section and imprint cytological investigation of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Histopathology* 1999; 35: 14-18.
47. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* 1997; 349: 1864-1867.
48. Smith PA, Harlow SP, Krag DN, Weaver DL. Submission of lymph node tissue for ancillary studies decreases the accuracy of conventional breast cancer axillary node staging. *Mod Pathol* 1999; 12: 781-785.
49. Nasser IA, Lee AK, Bosari S, Saganich R, Heatley G, Silverman ML. Occult axillary lymph node metastases in «node-negative» breast carcinoma. *Hum Pathol* 1993; 24: 950-957.
50. Hainsworth PJ, Tjandra JJ, Stillwell RG. Detection and significance of occult metastases in node-negative breast cancer. *Br J Surg* 1993; 80: 459-463.
51. Sedmak DD, Meineke TA, Knechtges DS, Anderson J. Prognostic significance of cytokeratin-positive breast cancer metastases. *Mod Pathol* 1989; 2: 516-520.
52. Byrne J, Horgan PG, England S, Callaghan J, Given HF. A preliminary report on the usefulness of monoclonal antibodies to VA 15-3 and MCA in the detection of micrometastases in axillary lymph nodes draining primary breast carcinoma. *Eur J Cancer* 1992; 28: 658-660.
53. Cummings MC, Walsh MD, Hohn BG, Bennett IC, Wright RG, McGuckin MA. Occult axillary lymph node metastases in breast cancer do matter: results of 10-year survival analysis. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 1286-1295.
54. Cote RJ, Peterson HF, Chaiwun B, et al. Role of immunohistochemical detection of lymph-node metastases in management of breast cancer. International Breast Cancer Study Group. *Lancet* 1999; 354: 896-900.
55. Schoenfeld AY, Luqmani D, Smith OR, Shousha SS, Sinnett HD, Coombes RC. Detection of breast cancer micrometastases in axillary lymph nodes by using polymerase chain reaction. *Cancer Res* 1994; 54: 2986-2990.
56. Maiorano E, Mazzarol GM, Pruneri G, et al. Ectopic breast tissue as a possible cause of false-positive axillary sentinel lymph node biopsies. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 513-518.
57. Carter BA, Jensen RA, Simpson JF, Page DL. Benign transport of breast epithelium into axillary lymph nodes after biopsy. *Am J Clin Pathol* 2000; 113: 259-265.