

Ganglio centinela en cáncer de mama. Estudio histológico de 67 casos *Sentinel node in breast cancer. Histological study of 67 cases*

A. Córdoba¹, M. Ederra², I. Amat¹, R. Beloqui¹, C. Miranda³, E. Zozaya¹, J. M. Martínez-Peñuela¹

RESUMEN

Fundamento. La extirpación del ganglio centinela es una técnica quirúrgica muy extendida cuyo objetivo es evitar el vaciamiento axilar en pacientes con cáncer de mama en estadios iniciales. La determinación de la infiltración tumoral puede ser evidente en caso de macrometástasis (>2mm), o difícil de detectar en las micrometástasis (<2 mm). Por ello utilizamos en nuestro servicio un protocolo de cortes seriados, para incrementar nuestra capacidad de detección de micrometástasis. La realización de este protocolo resulta muy laborioso y supone un alto costo, por lo que se debe estudiar su efectividad y eficacia.

Material y métodos. Hemos revisado los 67 ganglios centinelas correspondientes a 48 pacientes con cáncer de mama tratadas en nuestro hospital en los últimos 3 años. Todas las muestras recibidas en el Servicio de Anatomía Patológica se incluyen en su totalidad. Sobre cada ganglio se realizan cortes seriados de 3 micras y entre ellos se profundiza 40 micras. Se realizan en total 14 cortes. Se alternan cada 5 cortes con inmunotinción con un cóctel de queratinas (AE1/AE3) con cortes teñidos con hematoxilina-eosina.

Resultados. Se extirparon 67 ganglios centinela de 48 pacientes. Se detectaron 14 positivos (20%). De dichas metástasis, 6 fueron macrometástasis >2mm, 5 fueron micrometástasis <2 mm y 3 grupo celular aislado (entre 0,2 y 2 mm). En 6 casos (43%), las metástasis sólo se hicieron patentes con la tinción de queratina en los cortes seriados. Se realizó resección axilar en 44 casos.

Conclusiones. El estudio histológico del ganglio centinela permite evaluar el estatus de infiltración tumoral de los ganglios axilares y reducir en gran medida las linfadenectomías axilares.

El estudio convencional del ganglio centinela (con un único corte) resulta insuficiente para el diagnóstico de la infiltración tumoral. En nuestra serie el estudio histológico mediante un protocolo de cortes seriados nos ha permitido detectar un 43% de metástasis en ganglio centinela que no eran evidentes en el corte inicial.

Palabras clave. Ganglio centinela. Carcinoma de mama. Queratina.

ABSTRACT

Background. The extirpation of the sentinel node is a widespread surgical technique whose aim is to avoid axillary resection in patients with breast cancer at early stages. Determination of tumoral infiltration can be evident in the case of macrometastasis (>2mm), or difficult to detect in micrometastasis (<2mm). For this reason we use a protocol of serialized sections, to increase our capacity for detecting micrometastasis. Realisation of this protocol is highly laborious and represents a high cost, thus its effectiveness and efficacy must be studied.

Material and methods. We reviewed 67 sentinel nodes corresponding to 48 patients with breast cancer treated at our hospital in the last three years. All the samples received at the Pathology Unit were included. Serialized sections of three microns were made on each node and with a depth of 40 microns between them. A total of fourteen cuts were made. Every five cuts there was an alternation of immunostaining with a cocktail of queratines (AE1/AE3) and with haematoxylin-eosin.

Results. Sixty-seven sentinel nodes were extirpated from 48 patients. Fourteen positive (20%) were detected. Of these metastases, 6 were macrometastases >2mm, 5 were micrometastases <2mm and 3 were isolated cellular groups (between 0.2 and 2mm). In 6 cases (43%), the metastases only became evident with queratine staining in serialized cuts. Axillary resection was carried out in 44 cases.

Conclusions. The histological study of the sentinel nodes makes it possible to evaluate the status of tumoral infiltration of the axillary ganglions and to greatly reduce axillary lymphadenectomies.

The conventional study of the sentinel node (with a single section) is insufficient for the diagnosis of tumoral infiltration. In our series, histological study using a protocol of serialized sections has enabled us to detect some 43% of metastases in the sentinel node that were not evident in the initial section.

Key words. Sentinel node. Breast carcinoma. Queratine.

An. Sist. Sanit. Navar. 2004; 27 (2): 191-200.

1. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital de Navarra.
2. Unidad de Diagnóstico Precoz de Cáncer de Mama. Instituto de Salud Pública de Navarra.
3. Servicio de Cirugía General. Hospital de Navarra.

Aceptado para su publicación el 15 de octubre de 2003.

Correspondencia:

Alicia Córdoba Iturriaga
Plaza Obispo Iruirita, 2-9 Izqda.
31011 Pamplona
Navarra

INTRODUCCIÓN

La técnica de detección del ganglio centinela (GC) fue descrita en 1992 en pacientes con melanoma, y desde entonces se utiliza como método habitual para el estadiaje de estos enfermos¹. Esta técnica se basa en la detección mediante un contraste del primer ganglio de drenaje de una neoplasia. Krag comenzó a aplicar el sistema de detección con Tecneio al carcinoma de mama en 1993². En la actualidad el estudio del ganglio centinela está siendo evaluado en pacientes con axila clínicamente negativa, para determinar el grado de afectación de los ganglios axilares, es decir la presencia o no de metástasis axilares. Con el estudio del GC se intenta reemplazar a la resección axilar y reducir así la alta morbilidad de esta disección axilar.

Como el grado de afectación de los ganglios linfáticos axilares, junto con el tamaño tumoral son los dos principales factores pronósticos para el cáncer de mama^{3,4}, resulta necesario que el ganglio centinela sea un reflejo fidedigno del grado de afectación ganglionar.

Para que el estudio del GC refleje con fiabilidad el estadio de extensión de la enfermedad, éste no puede limitarse a un único corte que no abarca más de 5 micras de tejido que no representen más de 1% de un ganglio de 1cm de diámetro, tal y como precisa Dowlatshahi⁵. Muchos trabajos retrospectivos y prospectivos, han evidenciado que resulta necesario el establecimiento de un protocolo de cortes seriados y inmunotinción con queratinas para la detección de metástasis ocultas^{6,7}.

En el presente trabajo, queremos reflejar nuestra experiencia de dos años de puesta en marcha de un protocolo, y los resultados obtenidos en 67 casos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos seleccionado 48 pacientes que fueron intervenidas en el Hospital de Navarra por carcinoma de mama con axila clínicamente negativa. Por tratarse del periodo de aprendizaje de la técnica se realiza tanto la resección del ganglio centinela como la linfadenectomía axilar en los casos que estaba clínicamente indicado

(44 casos). Por ello, no se utilizó en esta fase una restricción respecto al tamaño tumoral.

El ganglio centinela se secciona transversalmente cada 3 mm, cuando la longitud máxima es mayor de 5 mm (Fig.1). Todas las secciones se colocan en los cassettes de plástico para una inclusión *in toto*. Si se trata de ganglios menores de 5mm se realiza un corte longitudinal y se divide en dos mitades (Fig. 2).

Una vez incluido en parafina, se realiza un primer corte que se tiñe con hematoxilina-eosina para después, profundizando 40 micras entre los cortes, realizan 13 cortes más, de los cuales 10 se tiñen con un cóctel de queratinas (alto y bajo peso molecular) AE1-AE3 en preparado prediluido de Biogenex (Ab.No.071M, Biogenex, San Ramón, CA) que marca el citoplasma de las células epiteliales. Con ello, se trata de facilitar la búsqueda de dichas células en el interior de los ganglios.

En la pieza de linfadenectomía axilar se realiza una disección minuciosa de los ganglios. Los ganglios disecados menores de 5mm se incluyen en su totalidad. De los ganglios mayores de 5 mm y macroscópicamente negativos se cortan secciones transversales y se colocan en una única cápsula. Se debe especificar que corresponden los cortes a un único ganglio para no alterar el recuento final del número de ganglios estudiados. Si los ganglios son grandes y tienen infiltración macroscópica, se incluye la mitad del ganglio. Si el número es inferior a 10 se trata la grasa con un disolvente para realizar una nueva búsqueda de ganglios¹⁰.

RESULTADOS

Las 48 pacientes intervenidas para evaluación de GC, habían sido diagnosticadas de cáncer de mama, que fueron clasificadas según el tipo histológico: 32 casos correspondían a carcinoma ductal infiltrante (66,7%), seguido en frecuencia por el carcinoma lobulillar infiltrante (15%) y el carcinoma intraductal (10%) (Tabla 1). Atendiendo al grado histológico de los tumores el 50% correspondían a grado II, y en un 30% a grado III. Los carcinomas extirpados tenían un diámetro que oscila-

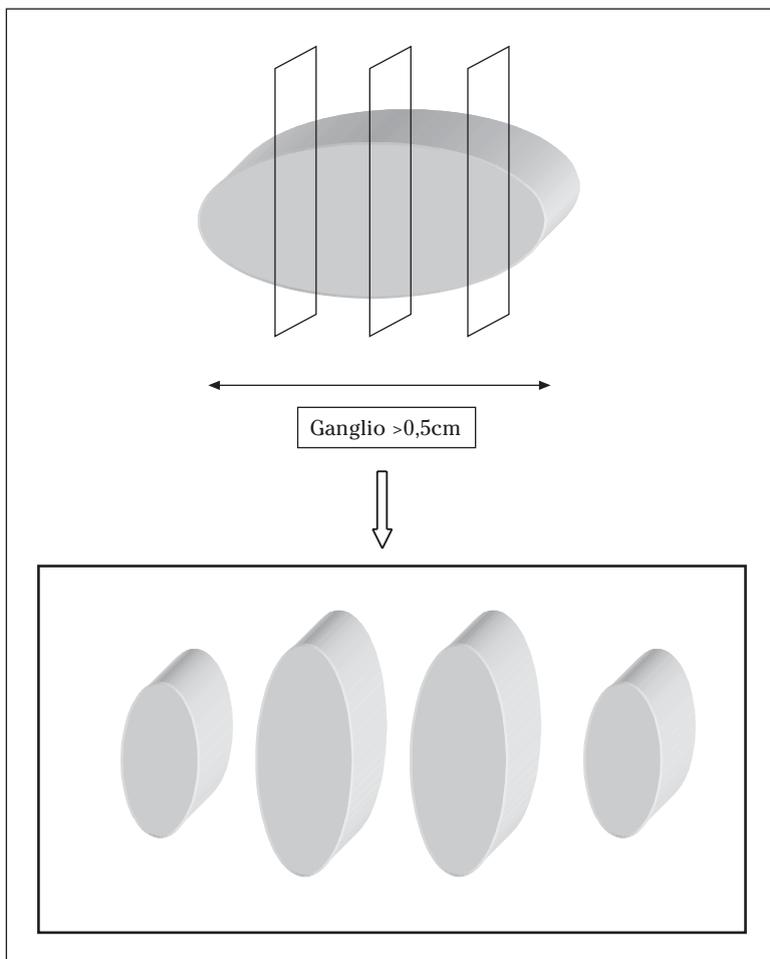


Figura 1. Esquema sobre la forma de seccionar el ganglio linfático mayor de 5 mm de eje máximo.

ba entre 3 y 29 mm. La media era de 13 mm (Tabla 1).

En la mayoría de los casos sólo se detectó un ganglio centinela (71%), pero en un 21% de los casos fueron dos los ganglios que captaron el contraste y fueron extirpados. En un caso se extirparon 4 ganglios centinela (Tabla 2). En total el número de ganglios centinela estudiados fue de 67.

De los 67 ganglios estudiados, en 14 de ellos se encontró infiltración por tumor (20,8%). Los 14 casos positivos correspondían a 14 pacientes. Ocho casos fueron diagnosticados con hematoxilina-eosina

(tinción estándar) en el primer nivel de corte, mientras que en 6 (43%) casos las metástasis solamente fueron evidentes con las queratinas (Tabla 2 y 3).

Clasificando las metástasis atendiendo a su tamaño, el 42% eran macrometástasis (>2 mm) (Fig. 3), en 5 casos se encontraron micrometástasis (<2 mm) (Fig. 4) y en tres ganglios se encontraron grupos celulares aislados (tamaño entre 0,2 mm y 2 mm) (Fig. 5) (Tabla 2).

En 44 de las pacientes se realizó linfadenectomía axilar en el mismo acto quirúrgico. Se comprobó la existencia de metástasis en 5 pacientes (11,3%). En las 39

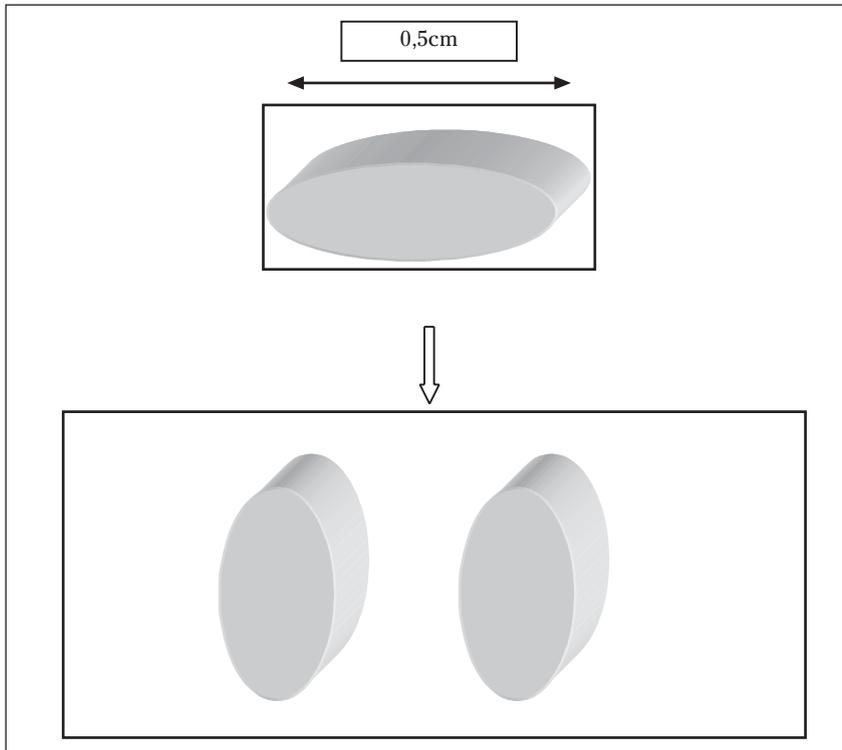


Figura 2. Esquema sobre la forma de seccionar el ganglio linfático menor de 5 mm de eje máximo.

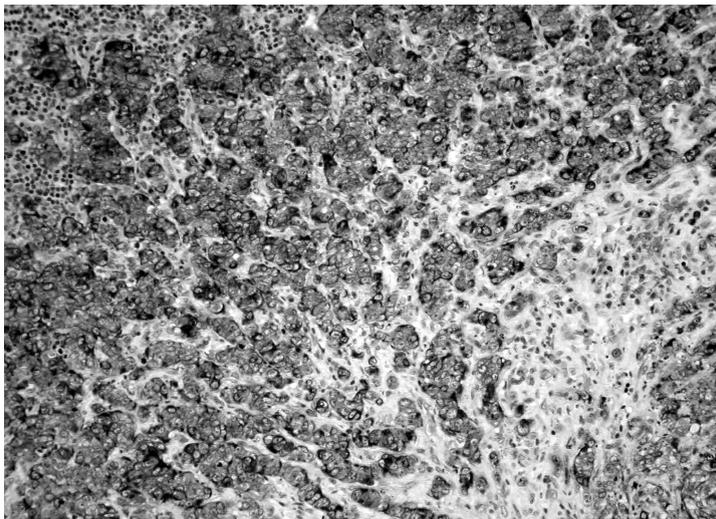


Figura 3. Infiltración masiva de un ganglio centinela por carcinoma ductal infiltrante de mama (X 200, Inmunotinción con queratina AE1-AE).

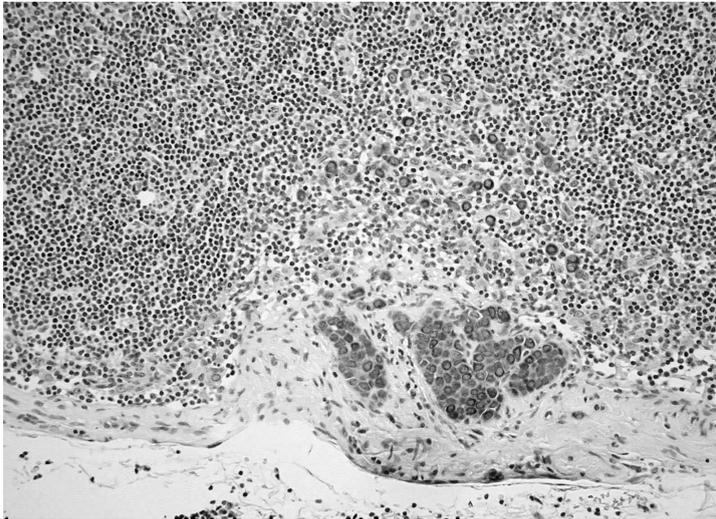


Figura 4. Micrometástasis en una inmunotinción con queratina AE1-AE3 (x 400).

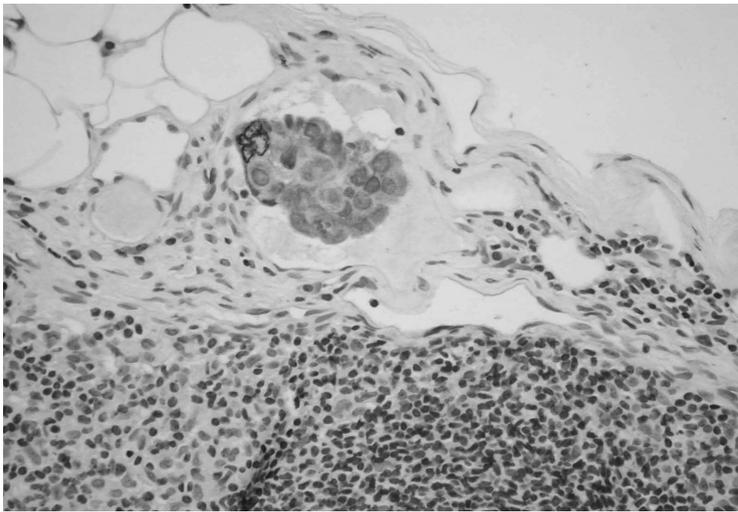


Figura 5. Hallazgo de un grupo celular aislado por carcinoma ductal infiltrante que se hizo patente con queratinas (X 400).

pacientes restantes los ganglios estudiados sobre la linfadenectomía axilar estaban libres de tumor. En la linfadenectomía se aislaron una media de 13,32 ganglios.

De los 14 casos de GC positivo, en el estudio de los ganglios axilares se encontró tumor en 4 casos (35%). En un caso se encontró infiltración en los ganglios axilares y no se evidenció infiltración en el GC.

Es decir que la exactitud de la prueba de extirpación del ganglio centinela es del 96% para determinar el grado de afectación ganglionar de la axila.

No se ha encontrado ninguna correlación entre el tamaño del tumor y la presencia o no de infiltración. Tampoco existe correlación con el grado histológico. Hemos estudiado la correlación según el

Tabla 1. Tabla de frecuencia de los casos estudiados referidos a diferentes características.

TIPO HISTOLÓGICO		
	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Carcinoma Ductal Infiltrante	32	66,7
Carcinoma Intraductal	5	10,4
Carcinoma Lobulillar Infiltrante	7	14,6
CDI con extenso componente intraductal	4	8,3
Total	48	100,0

GRADO HISTOLÓGICO		
	FRECUENCIA	PORCENTAJE
I	7	14,6
II	19	39,6
III	11	22,9

TAMAÑO				
	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Tamaño en mm	3	29	12,86	5,61

tamaño del tumor y el tamaño de las metástasis ganglionares y no hemos encontrado relación significativa en nuestra serie.

DISCUSIÓN

El estudio del GC en cáncer de mama se debe a Krag⁷ y Guiliano⁸ que comenzó esta técnica en 1993-1994, utilizando cortes de congelación. La técnica se basa en la inyección de un contraste radioactivo en la mama, y la determinación posterior del primer ganglio de drenaje en la axila. Teóricamente siguiendo el contraste, realizamos el mismo recorrido que las células tumorales hacia la axila. Es decir es el primer ganglio que será alcanzado por las células del tumor y será allí donde se produzca la primera metástasis ganglionar. Por ello si somos capaces de determinar la ausencia total de infiltración podemos, teóricamente garantizar que el resto de los ganglios axilares no han sido alcanzados por las células del tumor¹¹⁻¹².

Todos los esfuerzos por determinar la situación de infiltración de los ganglios tiene como objetivo último evitar la linfadenectomía axilar. La resección de los ganglios axilares produce gran morbilidad, con pérdida de fuerza en la extremidad, linfedema, pérdida de sensibilidad y problemas de cicatrización entre otros.

Desde la introducción de la técnica del GC han sido varios los métodos de estudio histopatológico empleados¹³. Algunos autores proponen un estudio intraoperatorio con cortes de congelación¹¹. En este tipo de estudio se obtiene una frecuencia de falsos negativos de 9 al 52%¹⁴⁻¹⁶. El estudio intraoperatorio se puede realizar también mediante estudio citológico de improntas del ganglio. La frecuencia de falsos negativos es entonces entre 5 y 70%¹⁶⁻²⁰. Estos dos sistemas de estudio intraoperatorio tienen, como única ventaja, la posibilidad de realización de la linfadenectomía axilar en el mismo acto quirúrgico, en los casos de GC positivo. Pero tiene como inconveniente una baja sensibilidad 40-75%¹²⁻¹⁸. En nuestro centro como recoge este trabajo optamos por un estudio diferido mediante cortes en parafina, porque ofrece la ventaja de una alta sensibilidad (94%) y especificidad (100%).

En la actualidad, en la mayor parte de los centros se utilizan protocolos de cortes seriados sobre bloques de parafina. Esta técnica tiene el inconveniente de derivar la realización de la resección axilar en los casos que resulten positivos, pero se acorta el tiempo de la intervención inicial en todos los casos^{5,21}.

Nuestro estudio, se realizó aprovechando el periodo de aprendizaje y valida-

Tabla 2. Estudio de los ganglios centinela aislados.

Número de ganglios centinela aislados

	Frecuencia	Porcentaje
1	34	70,8
2	10	20,8
3	3	6,3
4	1	2,1
Total	48	100,0

Infiltración de los ganglios centinela aislados

	Frecuencia
Micrometástasis	5
Grupo celular aislado	3
Macrometástasis	6
Total	14

Técnica de diagnóstico de las metástasis de los ganglios centinela

	Frecuencia	Porcentaje
Sin metástasis	34	70,8
Queratinas	6	12,5
Hematoxilina-eosina	8	16,7
Total	48	100,0

Tabla 3. Resultados del estudio de los ganglios.

Caso	Diagnóstico	Tamaño del tumor	Tipo de metástasis	H-E	Nivel de diagnóstico	Ganglios axilares
1	CDI	2,9	macro	+	todos	+ (11/21)
2	CDI	1,3	macro	+	todos	+ (2/11)
3	CDI	2,0	macro	+	todos	-
4	CDI	0,5	macro	+	todos	-
5	CDI	2,0	macro	+	todos	-
6	CDI	1,5	macro	+	todos	+ (1/12)
7	CDI	1,2	micro	-	1ªk—3ªk	-
8	CDI	0,5	micro	+	1ªk—3ªk	-
9	CDI	1,1	micro	6ª +	6ªk—8ªk	-
10	CDI	1,6	micro	-	1ªk—2ªk	-
11	CDI	1,2	micro	-	3ªk	-
12	CDI	2,0	gca	-	1ªk	-
13	CDI	1,4	gca	-	7ªk	+ (2/16)
14	CDI	1,2	gca	-	3ªk—7ªk	-

Gca: grupo celular aislado, K: corte teñido con queratina donde se encuentra tumor.

ción de la técnica. Por ello, disponemos del estudio del ganglio centinela y además de la linfadenectomía axilar posterior preceptiva hasta validar la técnica. Este periodo de validación es la única situación en que se estudian los ganglios axilares en pacientes con GC negativo.

En las 48 pacientes estudiados se extirparon 67 ganglios. En 14 ganglios que correspondían a otras tantas pacientes, pudimos demostrar la presencia de infiltración tumoral. Mediante nuestro sistema de evaluación sobre cortes de parafina en que el diagnóstico se difiere, el 29,2% de

las pacientes deberían someterse a reintervención y linfadenectomía. Este valor puede parecer alto pero no resulta tanto si comparamos con los porcentajes de reintervención cuando se utilizan otras técnicas histológicas para el estudio de ganglio centinela que proporcionan datos inmediatos. En las técnicas de estudio intraoperatorio de resultado inmediato se producen falsos negativos (entre el 8 y 30% de los casos según las series)^{12,20} y estas pacientes precisarán también de linfadenectomía posterior en una segunda intervención quirúrgica. Por esta razón a pesar de que algunas pacientes se deban someter a dos intervenciones quirúrgicas en lugar de una, preferimos ofrecer un diagnóstico diferido obtenido mediante técnica de cortes sobre parafina.

El desarrollo de la técnica del GC ha exigido a los patólogos modificar los sistemas tradicionales del estudio de la afectación ganglionar²¹. En general, ésta se realiza sobre piezas quirúrgicas grandes y el mayor esfuerzo se realiza en el estudio macroscópico para aislar el mayor número de ganglios linfáticos. De cada ganglio aislado sólo se incluye en parafina una parte que suele corresponder al 50% del volumen total. Posteriormente se realiza un único corte teñido con hematoxilina-eosina. De esta manera se estudia aproximadamente un 1% del volumen total de un ganglio linfático. Este sistema es válido en neoplasias avanzadas, que tienen afectación macroscópica de los ganglios^{5,21}.

El estudio del GC es totalmente diferente. En general estudiamos un único ganglio entre 5 y 10 mm de diámetro. Se ha ido observando que a medida que se amplía el número de cortes realizados, aumenta el número de metástasis de pequeño tamaño que se detectan. Con ello se evitan los falsos negativos, y se consigue el objetivo último del estudio del GC de determinar el *estatus* de infiltración de los ganglios axilares^{22,24}.

En los estudios sobre el GC se precisan el porcentaje de casos que son diagnosticados mediante los cortes seriados y las técnicas complementarias (como las tinciones de queratina), y que no eran visibles en el primer corte teñido con hemato-

xilina-eosina, que es la técnica más tradicional del estudio de ganglios. Los porcentajes de sobre-diagnóstico oscilan entre un 10 y un 47%^{12,22-24}. En nuestra serie, un 43% (6 casos) fueron diagnosticados gracias al protocolo de cortes seriados.

Otra controversia suscitada por el estudio del ganglio centinela es el significado clínico y pronóstico de la metástasis detectadas, cada vez más pequeña. Algunos autores han observado que la presencia de micrometástasis e incluso de grupos celulares aislados se asocia con una reducción del intervalo libre de enfermedad, de la supervivencia y aumento de recurrencia^{25,26}.

El sistema de estadiaje TNM, en lo referente al estadiaje de la afectación de ganglios en la mama, ha debido ser revisado en Enero de 2003²⁷. Se han incorporado nuevos epígrafes especiales que hacen referencia a las metástasis de pequeño calibre. Se ha incluido un grupo No de no afectación ganglionar (con una reseña especial a los casos de grupos celulares detectados con técnicas complementarias como inmunohistoquímica o biología molecular) cuando las células tumorales muestran un diámetro entre 0,2 mm y 2 mm. Parece que estos grupos celulares no son proliferativos y se duda de su viabilidad.^{26,28,29} En este momento los trabajos se centran en evaluar si existen diferencias pronósticas en el grupo de pacientes con metástasis del tipo micrometástasis y grupos celulares aislados en GC^{5,25,30,31}.

En nuestra serie no hemos encontrado relación entre el tamaño del tumor primario y la incidencia o no de metástasis. Tampoco hemos encontrado relación con el tipo histológico y con el grado histológico²⁴.

Debemos reflexionar sobre un problema de difícil solución. En casi todas las revisiones, se reconoce la detección de algún caso de afectación de ganglios axilares cuando el GC ha sido negativo. El porcentaje oscila entre un 1%^{12,20,26,32,33} y hasta un 16%²⁶. Esta circunstancia no puede considerarse un falso negativo del ganglio centinela, sino una limitación irresoluble de la técnica del estudio del ganglio centinela, porque este ganglio es realmente negativo.

Esto debe considerarse como grado de exactitud del ganglio centinela para reflejar la afectación tumoral de los ganglios axilares. Por lo tanto hay que saber que en un pequeño grupo de pacientes, a pesar de que su GC sea estudiado por completo y sea realmente negativo, tendrán infiltración tumoral de otro ganglio axilar.

Se han planteado varias explicaciones a esta circunstancia. Algunos consideran que se produce un bloqueo del drenaje tumoral por un proceso inflamatorio en el ganglio, o que pueden existir variaciones anatómicas y varias vías de drenaje simultáneas. En otras ocasiones se debe pensar que realmente el ganglio mostraba infiltración tumoral pero la falta de cortes seriados que permiten el muestreo de prácticamente toda la superficie del ganglio puede ser la causa de la falta de detección del tumor¹¹.

En conclusión, consideramos que el estudio del GC permite evaluar el *estatus* de infiltración tumoral de los ganglios axilares (en el 96% de los casos) y reducir en gran medida la necesidad de realizar la linfadenectomía axilar.

En nuestra serie, los 67 GC que se estudiaron correspondientes a 48 pacientes, resultaron positivos en 14 de ellas (29,2%). Con lo cual, en un 70% de los casos se hubiera podido evitar la resección axilar, con la extirpación únicamente del ganglio centinela.

Proponemos un protocolo de cortes seriados con queratinas, por la alta sensibilidad (94%) y especificidad (100%) de la técnica, que permitió además aumentar en un 43% la detección de metástasis.

No hemos encontrado relación entre el tamaño del tumor, grado histológico y tipo de tumor con el porcentaje de afectación de GC, ni con el tamaño de las metástasis. Debemos profundizar en el estudio del significado predictivo y pronóstico de las micrometástasis (<2mm) y de la presencia de grupos celulares aislados (entre 2 y 0,2 mm).

BIBLIOGRAFÍA

1. MORTON DL, WEN DR, WONG JH, ECONOMOU JS, CAGLE LA, STORM FK et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early

- stage melanoma. Arch Surg 1992; 127: 392-399.
2. KRAG DN, WEAVER DL, ALEX JC, FAIRBANK JT. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. Surg oncol 1993; 2: 335-359.
3. MARTIN C, CUTULI B, VELTEN M. Predictive model of axillary lymph node involvement in women with small invasive breast carcinoma. Axillary metastases in breast carcinoma. Cancer 2002; 94: 314-322.
4. CHUA B, UNG O, TAYLOR R, BILOUS M, SALISBRY E, BOYAGES J. Treatment implications of a positive sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast carcinoma. Cancer 2001; 92: 1769-1774.
5. DOWLATSHAHI K, FAN M, ANDERSON JM, BLOOM KJ. Occult metastases in sentinel nodes of 200 patients with operable breast cancer. An Surg Oncol 2001; 8: 675-682.
6. COTE RJ, PETERSON HF, CHAIWUN B. Role of immunohistochemical detection of lymph-node metastases in management of breast cancer. Lancet 1999; 354: 896-900.
7. SCHREIBER RH, PENDAS S, KU NN. Microstaging of breast cancer patients using cytokeratin staining of the sentinel lymph node. Ann Surg Oncol 1999; 6: 95-101.
8. WEAVER DL, KRAG DN, ASHIKAGA T. Pathologic analysis of sentinel and non-sentinel nodes in breast carcinoma: a multicenter study. Cancer 2000; 88: 1099-1107.
9. GUILLIANO AE, JONES RC, BRENNAN M. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. J Clin Oncol 1997; 15: 2345-2350.
10. ALLISON RT. The effects of various fixatives on subsequent lectin binding to tissue sections. Histochem J 1987; 19: 65-74.
11. BERNET L, CANO R, BUSTAMANTE M, CORDERO JM. Evaluación intraoperatoria del ganglio centinela en carcinoma infiltrante de mama. Rev Esp Patol 2002; 35: 325-330.
12. CSERNI G, AMENDEIRA I, APOSTOLIKAS N, BELLOCCO JP, BIANCHI S, BUSSOLATI G 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.
13. MAYZLER O, GOLDSTEIN J, KORETZ M. Is frozen section examination of the sentinel lymph node a reliable predictor of histologic status? Eur J Nucl Med 1999; 26: S56.
14. SCHNEEBaum S, STADLER J, COHEN M, YANIV D, BARON J, SKORNICK Y. Gamma probe-guide sen-

- tinell node biopsy-optimal timing for injection. *Eur J Surg Oncol* 1998; 24: 515-519.
15. NOGUCHI M, BANDO E, TSUGAWA K. Staging efficacy of breast cancer with sentinel lymphadenectomy. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 7: 221-229.
 16. TURNER RR, GUILIANO AE. Intraoperative pathologic examination of the sentinel lymph node. *Ann Surg Oncol* 1998; 5: 670-672.
 17. RATANAWICHITRASIN A, BISCOTTI CV, LEVY L, CROWE JP. Touch imprint cytological analysis of sentinel lymph nodes for detecting axillary metastases in patients with breast cancer. *Br J Surg* 1999; 86: 1346-1349.
 18. CSERNI G. The potential value of the intraoperative imprint cytology of the axillary sentinel lymph nodes in breast cancer patients. *Am Surg* 2001; 67: 86-91.
 19. LEE A, KRISHNAMURTHY S, SABIN A, SYMMANS WF, HUNT K, SNEIGE N. Intraoperative touch imprint of sentinel lymph nodes in breast carcinoma patients. *Cancer Cytopathol* 2002; 96: 225-231.
 20. KU NNK. Pathologic examination of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Surg Oncol Clinics North Am* 1999; 8: 469-479.
 21. LAWRENCE WD. ADASP recommendations for processing and reporting of lymph node specimens submitted for evaluation of metastatic disease. *Virchows Arch* 2001; 439: 601-603.
 22. YARED MA, MIDDLETON LP, SMITH TL. Recommendations for the sentinel lymph node processing in breast cancer. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 377-382.
 23. FRENAUX P, NOS C, VINCENT-SALOMON A. Histological detection of minimal metastatic involvement in axillary nodes: a rational basis for a sensitive methodology usable in daily practice. *Mod Pathol* 2002; 15: 641-646.
 24. CSERNI G. Complete serial sectioning of axillary sentinel lymph nodes in patients with breast. Analysis of two different step sectioning and immunohistochemistry protocols in 246 patients. *J Clin Pathol* 2002; 55: 926-931.
 25. WEAVER DL. Sentinel lymph nodes and breast carcinoma. Which micrometastases are clinically significant? *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 842-845.
 26. COHEN C, ALAZRAKI N, STYBLO T, WALDROP SM, GRANT SF, LARSEN T. Immunohistochemical evaluation of sentinel lymph nodes in breast carcinoma patients. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2002; 10: 296-303.
 27. GREENE FL, PAGE DL, FLEMING ID. *AJCC Cancer staging manual*, 6th ed. New York: Springer, 2002.
 28. ALLRED DC, ELLEDGE RM. Caution concerning micrometastasis breast carcinoma in sentinel lymph nodes. *Cancer* 1999; 86: 905-907.
 29. PANTEL K, SCHLIMOK G, BRAUN S. Differential expression of proliferation-associated molecules in individual micrometastatic carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1419-1424.
 30. WEAVER DL. Micrometastasis in sentinel lymph nodes. Pathologic aspects. *Pathol Case Rev* 2003; 8: 220-226.
 31. WARR D, MILLER N. Micrometastasis in sentinel lymph node biopsies: the medical oncologists perspective: to treat or not to treat? *Pathol Case Rev* 2003; 8: 227-232.
 32. CZERNIEKI BJ, SCHEFFAM, CALLANS LS. Immunohistochemistry with pancytokeratins improve the sensitivity of sentinel lymph node biopsy in patients with breast carcinoma. *Cancer* 1999; 85: 1098-1103.
 33. TURNER RR, OLLILA DW, KRASNE DL. Histopathologic validation of the sentinel lymph node hypothesis for breast carcinoma. *Ann Surg* 1997; 226: 271-278.