

Biopsia del ganglio centinela como alternativa a la disección axilar en el cáncer de mama con axila clínicamente negativa

Dr. Juan Carlos Acevedo Blachet
Centro Integral de la Mama
Clínica Las Condes

Como resultado de los programas de screening, y de la educación a la población enfatizando la importancia del diagnóstico precoz, se ha observado un importante incremento del porcentaje de pacientes con cáncer de mama diagnosticados con tumores pequeños y con axila clínicamente negativa.

El examen clínico para evaluar el estado ganglionar presenta resultados inaceptables entre el 22% al 45% de falsos negativos y entre el 11% al 33% de falsos positivos. Similares resultados se obtienen con el procedimiento llamado samplig axilar, que consiste en el estudio de nódulos linfáticos del nivel I de Berg. Dos estudios prospectivos de samplig seguido de disección axilar demostraron que no se hizo el diagnóstico en el 24% de las pacientes con ganglios positivos(1,2).

Se sabe que el riesgo de tener los nódulos linfáticos histológicamente com-prometidos aumenta a medida que el tumor primario es más grande. En carcinomas infiltrantes de 5 mm tienen al momento del diagnóstico alrededor del 20% de ganglios positivos(3,4).

El compromiso axilar es uno de los factores pronósticos de mayor importancia en cáncer de mama, de aquí que la disección axilar sea parte del tratamiento estándar en el manejo quirúrgico del cáncer de mama. Esta intervención tiene, además, varios objetivos adicionales: control regional de la enfermedad, e indicar y/o seleccionar terapias adyuvantes, locorregionales como la Radioterapia, y sistémicas como son la quimio y hormonoterapia.

El estado de los ganglios axilares como antecedente para la planificación en el tratamiento del cáncer de mama invasor y como factor predictivo de metástasis a distancia no ha podido ser reemplazado por el tamaño del tumor, grado histológico, citometría de flujo, receptores de estrógeno, cerbB2, etc.

Sin embargo, la disección axilar no está exenta de complicaciones o secuelas, se ha comunicado que el 82% de las mujeres sometidas a la disección axilar tradicional presentan al menos un problema en el brazo. Estos incluyen linfedema, disminución de la movilidad, hiperestesia/disestesia permanentes, neuromas y seromas dolorosos.

El linfedema se desarrolla en el 3 al 12% de las pacientes que se le practicaron disección axilar de los niveles I y II de Berg(5). Werner et al, comunican a 5 años un 16% de linfedema en 282 pacientes tratadas en el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center con

tratamiento conservador(6).

Otras complicaciones descritas incluyen dolor persistente en el 22%, restricción de la movilidad del hombro en el 17% de las pacientes y en un 15% revela que las secuelas de la disección axilar más la radioterapia le interfiere en su actividad diaria(7).

Por otra parte, la disección axilar requiere anestesia general, días de hospitalización, horas de pabellón lo que la hace de un alto costo y no beneficia al 70% u 80% de las pacientes portadoras de cánceres pequeños que tienen axila histológicamente negativa y además les agrega una morbilidad innecesaria(1).

Por todo lo anterior, se han investigado alternativas que permitan seleccionar adecuadamente aquellos pacientes que se beneficien de la disección axilar con la menor morbilidad posible. Uno de estos caminos ha sido el desarrollo de una técnica que permita identificar histológicamente las axilas con nódulos linfáticos positivos y negativos en las pacientes en las cuales la palpación axilar es negativa.

El desarrollo de la técnica del mapeo linfático y la extirpación y biopsia del ganglio centinela (GC), técnica que ha sido descrita para pacientes con melanoma⁸ ofrece una racional alternativa a la disección axilar de rutina en el cáncer infiltrante de mama con axila clínicamente negativa.

Mapeo linfático

El mapeo linfático aplicado a la mama se basa en el concepto que finitas regiones del parénquima mamario tienen un específico patrón de drenaje linfático (Figura 1).



Figura 1.
Esquema de mama y drenaje linfático

El GC se define como el primer nódulo linfático que recibe el drenaje del tumor primario y se puede usar para predecir la presencia o ausencia de metástasis en los nódulos linfáticos axilares restantes(8).

En teoría, el mapeo linfático y el estudio histológico minucioso del ganglio centinela ofrecen una alternativa selectiva a la disección axilar, y sólo si el GC es positivo se practican éstas para determinar la presencia o ausencia de nódulos linfáticos metastásicos adicionales al GC, y así planificar la intensidad y duración de las terapias adyuvantes. De esta forma las pacientes con GC negativo no asumirán la morbilidad y costo de una cirugía innecesaria.

El estudio exhaustivo histopatológico del GC permite aumentar el hallazgo de metástasis(9) entre un 7% y 33% mediante cortes seriados y aplicando técnicas de inmunohistoquímica en pacientes con ganglios negativos al estudio rutinario con hematoxilina-eosina (HE). Aún no es clara la implicancia de tener metástasis demostradas sólo por inmunohistoquímica.

El significado pronóstico de las metástasis axilares ha sido un tema controvertido. Un

estudio retrospectivo de 31 series publicadas concluye que las pacientes con micrometástasis tienen una peor sobrevida que las pacientes con ganglios histológicamente negativos(10).

En el estudio del GC es fundamental la precisión tanto en la identificación como en el estudio histológico de éste. Además, requiere de un período de aprendizaje del cirujano en la técnica de ubicación y del patólogo en la interpretación histopatológica del GC.

Resumiendo, la necesidad de un estudio ganglionar selectivo se basa en los siguientes hechos:

La baja incidencia de metástasis axilares en tumores pequeños.
El tratamiento conservador podría hacerse en forma ambulatoria.
La posibilidad de disminuir la posibilidad asociada a la disección axilar.



Figura 2.
Esquema infiltración con isosulfan peritumoral y en azul ganglio centinela.

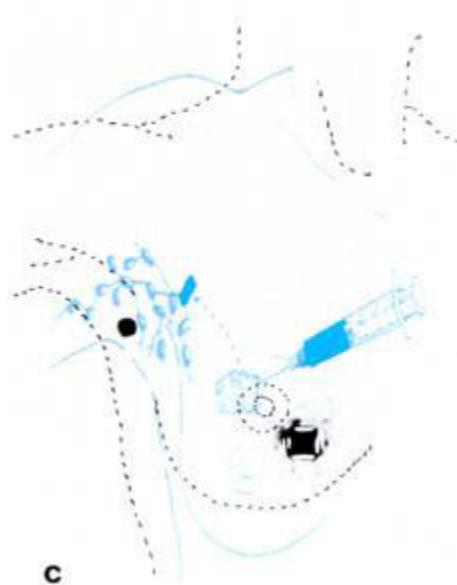


Figura 3.
Linfocintigrafía pre-operatoria. Visualiza y marca en piel el ganglio centinela.

Métodos para identificar el GC

Se han utilizado dos técnicas para localizar el GC que pueden ser aplicadas en forma individual o en conjunto, éstas son: colorante azul (Isosulfan) y la linfocintigrafía con Tc99m.

Método con Isosulfan

El GC puede ser identificado por colorante azul como el Isosulfan al 1% inyectado alrededor del tumor. El isosulfan es captado por los conductos linfáticos aferentes y el primer nódulo linfático que se tiñe de azul es el GC (Figura 2). Esta técnica fue establecida para los melanomas cutáneos, inyectando isosulfan intradérmico alrededor del sitio del melanoma(8). Esta técnica ha demostrado con precisión la presencia o ausencia de enfermedad en los nódulos linfáticos regionales en pacientes con melanoma cutáneo(8,11) siendo actualmente aplicada para pacientes con cáncer de mama. Se ha logrado determinar que con 5 ml de isosulfan al 1% inyectado en el parénquima mamario que rodea al sitio de

la tumorectomía y con un tiempo de espera de 7 a 10 minutos es suficiente para lograr la tinción del GC12.

Esta técnica es fácil de aplicar en pacientes con tumores palpables en quienes el colorante se inyecta en el mismo acto operatorio en que es extirpado el tumor primario.

Cuando se trata de tumores no palpables y que son detectados sólo por la mamografía o ecografía se requiere una integración de radiólogo y cirujano para obtener buenos resultados.

No está indicado el estudio del GC cuando se ha realizado extirpación o biopsia incisional previa dado que con el acto quirúrgico se altera el drenaje linfático y el GC identificado en estas condiciones puede no ser el correcto. Lo mismo sucede cuando el colorante se inyecta en el lecho tumoral, ya que puede existir bloqueo de los conductos linfáticos por la presencia de embolia tumoral y el colorante ser captado por linfáticos que nos llevan a identificar un nódulo linfático que no es el GC.

Linfocintigrafía

La técnica que en Clínica Las Condes hemos adoptado es la descrita por el MD Anderson Cancer Center y consiste en inyectar cuatro horas antes de la cirugía Tc99m Dextran, 150-200 uCi, en un volumen de 0,2 ml en cuatro puntos alrededor del tumor palpable es decir hacia cefálica, caudal, medial y lateral (Figura 3). En el caso de tumores no palpables se utiliza la aguja de localización como guía. La técnica de inyección consiste en el uso de una jeringa de tuberculina con aguja fina 25 G o trocar desechable de 25 G x 3,5 para punción epidural en caso de lesiones profundas. Se elimina el contenido de la jeringa con una burbuja de aire a continuación del radiofármaco. Posterior a la inyección se obtienen imágenes seriadas de 15 seg/imagen en gammacámara de la región mamaria, supraclavicular, esternal y axilar durante 30 minutos con el fin de visualizar flujo por linfáticos y así poder localizar el GC. Si al término de ese período no se demuestra el GC se repetirá otra serie igual.

Una vez definido el o los ganglios centinelas, en caso de vías de drenaje a grupos ganglionares diferentes, se toman imágenes estáticas de 5 minutos cada una en proyección anterior, oblicua y/o laterales para definir la ubicación y profundidad del GC el que se marca en la piel con el paciente en la posición que tendrá en la mesa de operación. Durante la operación el GC se ubica usando un contador de centelleo manual (probe) marcando el “punto caliente” y se procede a extirparlo (Figura 4).



Figura 4.
Contador de centelleo mínimo

El método óptimo reproducible respecto del fármaco usado (preparación de coloide), volumen, actividad de la inyección, tiempo y método de imágenes todavía no ha sido

determinado(13).

La dosis de radiación absorbida por la paciente, el equipo quirúrgico y el anatómico-patólogo es muy baja y está dentro de los límites de dosis recomendados para la población en general de acuerdo a la comisión Internacional de Recomendaciones de Protección Radiológica (ICRP)(14).

La identificación del o los GC se facilita cuando se utiliza además de la linfocintigrafía la inyección de isosulfan. Si bien, el mayor drenaje linfático del parénquima mamario es hacia la axila, también puede ser en menor porcentaje hacia la cadena mamaria interna, supraclavicular o cualquier combinación de éstas. La detección con linfocintigrafía permite ubicar y extirpar el GC mediante incisiones pequeñas en cualquiera ubicación, incluyendo los localizados en la mamaria interna.

En un estudio multicéntrico(15) el 11% de los GC no fueron localizados en el nivel I de la axila y el 3% de todos los nódulos linfáticos positivos fueron localizados exclusivamente fuera de la axila, por lo tanto no fueron diagnosticados en la disección axilar clásica.



Figura 5a.
Inyección Isosulfan peritumoral.

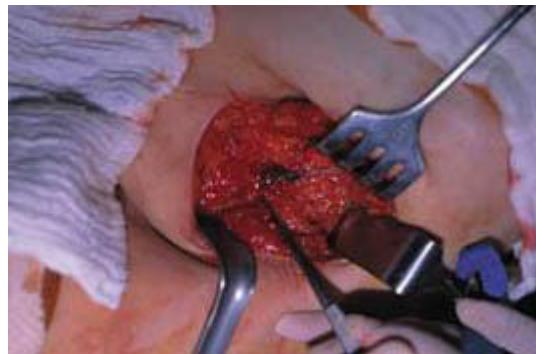


Figura 5a.
Inyección Isosulfan peritumoral.

Técnica quirúrgica

Si se utiliza el método del Isosulfan, una vez extirpado el tumor primario y la biopsia por congelación informa que se trata de un cáncer infiltrante, se inyectan 5 ml de isosulfan al 1% en el tejido glandular vecino a la cavidad de la tumorectomía y se espera de 3 a 10 minutos antes de hacer la incisión en la piel a nivel del límite inferior del vello axilar. Se identifica el conducto linfático teñido y se diseña cuidadosamente siguiéndolo hacia proximal y distal hasta identificar el primer nódulo linfático teñido (Figuras 5a y 5b), el cual se extirpa para estudio histológico por separado del resto de la disección axilar que se debe hacer siempre hasta que el método no esté validado por el equipo quirúrgico. El tratar de identificar el GC directamente sin disecar el conducto linfático es difícil y no se recomienda cuando se usa solo isosulfan(12).

En el caso que se utilice el método con linfocintigrafía es posible ir a buscar el GC directamente con el contador de centelleo manual en la zona de mayor captación (punto caliente). El GC debe tener por lo menos un recuento de 10 veces más que el resto de la axila y una vez extirpado la radiación en el resto de la axila debe ser de menos de 10 cps.

Evaluación patológica

Se debe hacer una biopsia intraoperatoria del GC para comprobar que es efectivamente un nódulo linfático el extirpado y no tejido adiposo teñido (Figura 6). Recientemente, en centros que han validado la técnica de la biopsia por congelación, se ha utilizado para identificar la presencia de metástasis axilar en el GC y en caso de ser confirmada se procede a la disección de los niveles I y II. Si el GC es negativo para metástasis no se realiza la disección axilar.

Los GC negativos al examen por congelación son estudiados con la tinción de H&E, si no se encuentra metástasis se realizan estudios con inmunohistoquímica (citokeratina) (IHC). Se realizan de 6 a 8 cortes por GC para ser estudiados con IHC para detectar metástasis ocultas (micrometástasis). Una porción del GC es también procesado por múltiples marcadores (RT-PCR). Con esta técnica se identifican metástasis ocultas no encontradas a la H&E. Hay en curso estudios prospectivos para evaluar esta técnica y determinar su incidencia y significado pronóstico de las metástasis detectadas con este método.



Figura 6.
Ganglio centinela teñido.

Resultados

Los estudios iniciales se orientaron a determinar la factibilidad para identificar GC y si éste representaba el verdadero estado axilar. El estudio del GC fue realizado en conjunto con la disección axilar de los niveles I y II de Berg para determinar la tasa de los falsos negativos es decir la presencia de metástasis ganglionar cuando el GC identificado fue histológicamente negativo para metástasis. El resultado de algunos de estos estudios se presentan en la

Tabla 1.

Tabla 1

Autor	Pacientes	Localización GC	% de identificación	Falsos (-) %
Krag et al(16)	22	Tc 99	82	0
Giuliano et al(17)	174	Isosulfan	65	5
Albertini(18)	62	Tc 99 + Isosulfan	92	0
Giuliano(24)	107	Isosulfan	93	0
Veronesi(25)	163	Tc 99	98	5

La primera comunicación fue de Krag de la Universidad de Vermont en 1993 que publicó 22 casos de biopsia de GC con disección axilar concomitante(16). El GC fue sucesivamente localizado en 18 de 22 casos con inyección de Tc y usando detector gamma intraoperatorio. Posteriormente Giuliano, del John Wayne Cancer Center(17) (JWCC), usando la tinción de isosulfan en una serie de 174 pacientes, el GC fue localizado en solo 114 (65%) y tuvo dos falsos negativos entre 42 pacientes que tenían ganglios positivos. Este estudio prospectivo que incluyó a toda paciente que fuera potencialmente curable mostró que en el 25% de las pacientes el GC fue localizado en el nivel II.

El estudio de Albertini(18) que incluye 62 pacientes utilizando los dos métodos de identificación, logró localizar el GC en el 92% no comunicando falsos negativos. La incidencia de metástasis fue del 30% y en todos los casos el GC estaba comprometido por tumor. En el 80% el GC fue el único ganglio comprometido.

Giuliano publica en 199719 una serie de 107 pacientes en las cuales se extirpa el GC y en forma concomitante se practica la disección axilar. Usando solo la tinción de isosulfan identifica el GC en 100 pacientes (93,5%). En el 67% de los pacientes con ganglios positivos (28 de 42) el GC fue el único ganglio comprometido por tumor. En todas las pacientes con GC negativo no se encontraron linfonodos positivos en el resto de los ganglios extirpados durante la disección axilar. Esta serie muestra un mayor porcentaje de identificación del GC (93,5%) a diferencia de lo publicado por los mismos autores en 1994, cuya cifra de identificación fue sólo del 65%; esto traduce una estandarización de las pacientes y cuando se utiliza la tinción como método único para localizar el GC se necesita una experiencia del cirujano a lo menos de 20 casos para obtener un 95% de identificación, a diferencia de cuando se usa la linfoescintigrafía y la identificación del GC se realiza en el intraoperatorio mediante un detector gamma manual en que se necesitarían a lo menos cinco casos para adquirir destreza.

Una de las primeras series publicadas utilizando sólo Tc99 por Veronesi(20) reporta que en 163 pacientes inyectó microagregado de albúmina marcada con tecnecio a nivel subdérmico sobre el tumor el día antes de la operación, y mediante linfoescintigrafía se ubicó el GC marcándolo en la piel. Utilizando el detector gamma manual intraoperatorio se identificó el GC en el 98% de los casos y con una correlación del 95% (cuatro falsos negativos de 85 pacientes con linfonodos positivos) respecto a los hallazgos de la disección axilar completa.

Una reciente publicación de Veronesi(21) utilizando sólo Tc99 para localizar el GC muestra que estos resultados han sido optimizados (Tabla 2).

Tabla 2 Concordancia entre el GC y ganglios resto de la axila utilizando la linfoescintigrafía. n = 371		
Ganglio centinela	Ganglios axilares	n pacientes (%)
Positivos	Positivos*	168 (45,3%)
Negativos	Negativo	191 (51,5%)
Negativo	Positivo	12 (3,2%)
Total		371 (100%)

Concordancia 359/371 (96,8%).
* En 70 pacientes el GC fue el único ganglio positivo.

De este último estudio se desprende que el número de ganglios identificados como "centinela" puede ser con alta frecuencia más de uno como se detalla en la Tabla 3.

Tabla 3 n de GC identificados por Tc99 n = 376 pacientes (axila clínicamente negativa)		
Ganglio centinela	n Pacientes	Porcentaje
Uno	249	66,2
Dos	97	25,8
Tres	24	6,4
Cuatro	1	0,3
Ninguno	5	1,0

21. Veronesi U, Paganelli G, Viale G et al. Sentinel Lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series. J Natl Cancer Inst 1999; 91: 368-73.

En estudios publicados por el JWCC(22,27) usando solamente isosulfan como método de localización en 103 pacientes, en que a todas además se les practicó la disección axilar formal, se evalúa el GC con H&E. Si el GC fue histológicamente negativo se estudia con inmunohistoquímica para citokeratina tanto al GC como a los otros ganglios axilares. El 32% de los GC fueron positivos a la H&E y 10 GC adicionales fueron positivos (14%) por inmunohistoquímica. Sólo un ganglio no centinela fue positivo en esta serie el que fue detectado por inmunohistoquímica solamente. Están recientemente en marcha protocolos que estudian el GC y si éste es negativo no realizan la disección axilar. Una vez que estos centros corroboren en grandes cohortes de pacientes lo anteriormente expuesto, la práctica de una linfadenectomía selectiva (GC) podría ser aplicada en forma rutinaria en pacientes con cáncer de mama infiltrante con axila clínicamente negativa. Las series publicadas sugieren que el estudio histológico del GC es un buen método para conocer el estado de la axila en el cáncer de mama. El alto nivel de identificación del GC obtenido por cirujanos de experiencia con los métodos de linfoцитografía y/o isosulfan y alto porcentaje de concordancia entre el GC y el resto de los ganglios de la axila sugieren que la biopsia del GC puede reemplazar a la disección axilar tradicional en el tratamiento quirúrgico del cáncer de mama con axila clínicamente negativa al examen clínico.

Parece obvio el beneficio usando un procedimiento mínimamente invasivo, en que el estudio del o los GC puede ser más minucioso que el análisis de todos los ganglios obtenidos de una linfadenectomía axilar clásica.

En el GC se pueden estudiar de 6 a 8 cortes, inmunohistoquímica, y aplicar técnicas moleculares como PCR (polymerasa chain reaction) para identificar específicamente metástasis de cáncer de mama(23). Este concepto es ilustrado por Giuliano et al(24) que comparó la incidencia de ganglios positivos en dos grupos de pacientes con tumores de similares características. En un grupo se practicó linfadenectomía estándar y examen histológico de rutina a los ganglios extirpados. En el segundo grupo se extirpó el GC y luego se realizó la linfadenectomía. En este último el GC fue analizado en base a un mayor número de cortes y aplicando las técnicas de inmunohistoquímica. De acuerdo a lo que se conoce en base a los factores pronósticos estos dos grupos de pacientes deberían tener similar incidencia de metástasis ocultas en la axila. El resultado reveló que la incidencia de ganglios metastásicos fue un 30% más alto en el grupo en el cual el GC fue minuciosamente estudiado. El mayor incremento en la incidencia de ganglios positivos estuvo dada por metástasis focales de menos de 2 mm de diámetro, enfermedad que fue

diagnosticada mediante cortes seriados o análisis inmunohistoquímico. Sin embargo, este tipo de compromiso metastásico es cuestionable en el sentido si tiene importancia clínica o biológica, pero es incuestionable y parece lógico que una mejor evaluación de los nódulos linfáticos puede sólo realzar su valor pronóstico.

La evidencia publicada sugiere que la inmunohistoquímica agrega información pronóstica útil al identificar pacientes con un mayor riesgo vital Tabla 4.

Tabla 4 Metástasis axilares “ocultas” significancia pronóstica				
Autor	Pacientes	Histología	% met. oculta	Disminución de sobrevida %
Trojani et al(25)	162	IMH	14	22
Sedmak et al(26)	45	IMH	11	11
Ludwing Group(27)	921	IMH	9	16
Chen et al(28)	80	IMH	29	16
De Mascaret et al(30)	218	IMH	23	10
Hainsworth et al(31)	343	IMH	12	15

IMH: inmunohistoquímica.

Previo a que la biopsia del GC llegue a ser una técnica estándar en el tratamiento quirúrgico del cáncer de mama se requiere clarificar varios aspectos como la selección de las pacientes que debe ser estandarizada definiendo el tamaño tumoral así como su ubicación.

Esta técnica no debiera aplicarse en los tumores grandes o multicéntricos, en las pacientes que han tenido biopsia quirúrgica previa debido a que pueden tener distorsión en el drenaje linfático, en pacientes que han recibido quimioterapia pre operatoria, o cuando se extirpa mucho tejido glandular dejando cavidades grandes post tumorectomía especialmente cuando el tumor primario es pequeño.

Aún no está claramente definido el coloide trazador, el tiempo que debe mediar entre la inyección de éste y la cirugía, la dosis y el mejor punto de inyección(29).

En relación a la biopsia intraoperatoria del GC se ha obtenido un alto porcentaje de discordancia con el resultado de la biopsia definitiva, para que con este examen se pueda decidir de hacer o no una disección axilar(21). Por lo que será necesario refinar esta evaluación para evitar un procedimiento anestésico/quirúrgico adicional a aquellas pacientes a las cuales se les encuentre GC positivo. Debemos hacer presente, que a medida que los programas de screening mamario se masifiquen, la frecuencia de compromiso axilar irá en disminución.

Conclusión

El mapeo linfático y la biopsia del GC es una técnica que ha probado su valor en melanoma, y se muestra prometedora en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama. Numerosas publicaciones han demostrado que la identificación del GC es factible y que realmente refleja la presencia o ausencia de metástasis axilares. Una vez que los cirujanos de mama corroboren y validen esta técnica, podrá ser aplicada en forma rutinaria en pacientes con

cáncer de mama. El potencial beneficio sería reducir la morbilidad, mejorar la etapificación, y permitir un uso más racional y selectivo de las terapias sistémicas.

En Chile está en marcha un protocolo prospectivo multicéntrico con los objetivos de medir la tasa de sensibilidad y especificidad de la técnica del GC comparada con la disección axilar completa y comparar la tasa de detección del GC mediante la inyección peritumoral de isosulfan solo o asociado a linfocintigrafía.

Se incluirán en forma prospectiva 150 pacientes (intervalos de confianza 95%-100%) con cáncer de mama operable N0, tratadas en los centros participantes.

Criterios de inclusión: Pacientes con diagnóstico histológico de cáncer de mama invasor, tumor clasificado clínicamente como T1, T2, N0 y T3 N0 susceptible de tratamiento conservador.

Criterios de exclusión: Tumor localmente avanzado, biopsia quirúrgica previa, cirugía axilar previa, tumor multifocal, radioterapia o tratamiento sistémico previo y en pacientes embarazadas o período de lactancia.

Este protocolo cuenta con el patrocinio del GOCCHI (Grupo Oncológico Cooperativo Chileno de Investigación) y está activado a partir de abril del 2000 fecha en que los centros participantes cumplieron con el requisito previo del conocimiento de la técnica impartida por el investigador principal a los coordinadores de cada centro participante.

Bibliografía

1. Kissin MW, Thompson EM, Price AB et al. *The inadequacy of axillary sampling in breast cancer*. Lancet 1982; 2: 1210-12.
2. Davies GC, Millis RR, Hayward JL. *Assessment of axillary lymph node status*. Ann Surg 1980; 192: 148-51.
3. Bedwani R, Vana J, Rosner D et al. *Management and survival of female patients with "minimal" breast cancer: as observed in the long-term and short-term surveys of the American College of Surgeons*. Cancer 1981; 47: 2769-78.
4. White RE, Vezeridis MP, Konstadoulakis M, Cole BF, Wanebo HJ, Bland KI. *Therapeutic options and results for the management of minimally invasive carcinoma of the breast: influence of axillary dissection for treatment of T1a and T1b lesions*. J Amer Col Surg 1996; 183: 575-82.
5. Benson EA, Thorogood J. *The effect of surgical technique on local recurrence rates following mastectomy*. Eur J Surg Oncol 1986; 12: 267-71.
6. Werner R, McCormick B, Petrek J et al. *Arm edema in conservatively managed breast cancer; obesity is a major predictive factor*. Radiology 1991; 180: 177-84.
7. Ivens D, Hoe AL, Podd CR et al. *Assessment of morbidity from complete axillary lymph node dissection*. Br J Cancer 1991; 66: 136-8.
8. Morton DL, Wen D-R, Wong JH et al. *Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma*. Arch Surg 1992, 27: 392-9.
9. Nasser IA, Lee AKC, Basari S et al. *Occult axillary lymphnode metastases in "node*

- negative" breast carcinoma. *Hum Pathol* 1993; 24: 950-7.
10. Dowlatshahi K, Fan M, Snider HC, Habib HA. Lymphnode micrometastases from breast carcinoma. Reviewing the dilemma. *Cancer* 1997; 80: 1188-97.
 11. Reintgen DS, Cruse CW, Berman C et al. An orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg* 1994; 220: 759-67.
 12. Giuliano AE, Jones RC, Brennan M et al. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2345-50.
 13. Alazraki NP, Eshima D, Eshima LA et al. Lymphoscintigraphy, the sentinel node concept, and the intraoperative gamma probe in melanoma, breast cancer, and other potential cancers. *Semin Nucl Med* 1997; 27: 55-67.
 14. Miner TJ, Shriver Cd, Flieck PR et al. Guidelines for the Safe Use of Radioactive Materials During Localization and Resection of the Sentinel Lymphnode. *Ann Surg Oncol* 1999; 6: 75-82.
 15. Krag D, Weaver D, Ashikaga T, Moffat F, Klimberg VS, Shriver C et al. The sentinel node in breast cancer a multicenter validation study. *N Engl J Med* 1998; 339: 941-6.
 16. 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: 335-9.
 17. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994; 3: 391-401.
 18. Albertini JJ, Lyman GH, Cox C et al. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in patient with breast cancer. *JAMA* 1996; 276: 1818-22.
 19. Giuliano AE, Jones RC, Brennan M et al. Sentinel Lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2345-50.
 20. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V et al. Sentinel node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymphnodes. *Lancet* 1997; 349: 1864-7.
 21. Veronesi U, Paganelli G, Viale G et al. Sentinel Lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series. *J Natl Cancer Ins* 1999; 91: 368-73.
 22. Turner RR, Ollila DW, Krasne DL, Giuliano AE. Histopathologic validation of the sentinel lymphnode hypothesis for breast carcinoma. *Ann Surg* 1997; 226: 271-8.
 23. Noguchi S, Aihara T, Nakamori S et al. The detection of breast carcinoma micrometastases in axillary lymphnodes by means of reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Cancer* 1994; 74: 1595-600.
 24. Giuliano AE, Dale PS, Turner RR et al. Improved axillary staging of breast cancer with sentinel lymphadenectomy. *Ann Surg* 1995; 222: 394-401.
 25. Trojani M, De Mascaret I, Bonichon F et al. Micrometastases to axillary lymph nodes from carcinoma of breast: detection by immunohistochemistry and prognosis significance. *Br J Cancer* 1987; 55: 303-6.
 26. Sedmak DD, Meinke TA, Knechtges DS, Anderson J. Prognostic significance of cytokeratin-positive breast cancer metastases. *Mod Pathol* 1989; 2: 516-20.

27. International (Ludwing) Breast Cancer Study Group . Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancer. *Lancet* 1990; 335: 1565-8.
28. Chen ZL, Wen DR, Coulson WF et al. Occult metastases in the axillary lymph nodes of patients with breast cancer node negative by clinical and histologic examination and conventional histology. *Dis Markers* 1991; 9: 239-48.
29. Wilhelm AJ, Mijnhout GS, Franssen EJF. Radiopharmaceuticals in sentinel lymph-node detection. An overview. *Eur J Nucl Med* 1999; 26 (Suppl): S36-S42.
30. De Mascaret I, Bonichon F, Coindre JM, Trojani M. Prognostic significance of breast cancer axillary lymph node micrometastases assessed by two special techniques: reevaluation with larger follow-up. *Br J Cancer* 1992; 66: 523-27.
31. Hainsworth PI, Tjandra JJ, Stillwell RG et al. Detection and significance of occult metastases in node negative breast cancer. *Br J Surg* 1993; 80: 459-63.