



ORIGINAL

Correlación entre la carga tumoral total de los ganglios linfáticos analizada mediante One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) y la decisión de realizar una linfadenectomía axilar en el cáncer de mama temprano

Paula Chamocco Lloro^{a,*}, María Dolores Rodríguez Garnica^a, Beatriz Sánchez Jimenez^a, Sergio Rodriguez Lobalzo^b, Angel Calvo Tudela^c, Alejandro J. Rohde Calleja^a, Francisco Rivas Ruiz^d y José C. Maañón di Leo^a

^a Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario Costa del Sol, Marbella, España

^b Área integrada de Gestión Laboratorio de Análisis Clínicos y Anatomía Patológica, Hospital Universitario Costa del Sol, Marbella, España

^c Servicio de Oncología Radioterápica, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Málaga, España

^d Unidad de Investigación e Innovación, Hospital Universitario Costa del Sol, Marbella, España

Recibido el 30 de septiembre de 2024; aceptado el 8 de enero de 2025

Disponible en Internet el 5 de febrero de 2025

PALABRAS CLAVE

One Step Nucleic Acid Amplification;
Ganglio centinela positivo;
Linfadenectomía axilar

Resumen

Introducción: este estudio pretende determinar la correlación entre la carga tumoral total (TTL) analizada por One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) y los resultados obtenidos en nuestra práctica clínica, y si la TTL es una herramienta útil para la selección de pacientes que deben realizarse una linfadenectomía axilar.

Material y métodos: el estudio tiene un diseño de cohorte retrospectivo, realizado en el Hospital Costa de Sol, sobre 92 pacientes con (GC+) analizados por OSNA, entre 2012 y 2017.

Resultados: el análisis de supervivencia libre de enfermedad se realizó clasificando a los pacientes en micrometastásicos, macrometastásicos con menos de 25.000 copias de ARNm-CK19/ul y macrometastásicos con más 25.000 copias de ARNm-CK19/ul, sin que se encontrara significación estadística entre los grupos (prueba de log-rank 0,266).

Discusión: la recomendación de la linfadenectomía axilar (ALND) en los casos de pacientes que reciben cirugía conservadora y con axilas clínicamente (o radiológicamente) negativas con alta carga tumoral determinada por OSNA no tiene relación con el control local de la enfermedad.

© 2025 Los Autores. Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de SESPM. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: paulachgine@gmail.com (P. Chamocco Lloro).



KEYWORDS

One step nucleic acid amplification;
Sentinel node positive;
Axillary lymphadenectomy

Correlation between total lymph load analyzed by One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) and the decision to perform axillary lymph node dissection in early breast cancer

Abstract

Introduction: The aim of this study was to determine the correlation between total lymph load (TLL) analyzed by one step nucleic acid amplification (OSNA) and the results obtained in our clinical practice, and whether TTL is a useful tool for selecting patients who should undergo axillary lymph node dissection.

Material and methods: The study has a retrospective cohort design, conducted at the Hospital Costa de Sol on 92 patients with (GC+) analyzed by OSNA, between 2012 and 2017.

Results: Disease-free survival was analyzed classifying patients into micro-metastatic, macro-metastatic with less than 25,000 copies of mRNA-CK19/ul, and macro-metastatic with more than 25,000 copies of mRNA-CK19/ul, with no statistical significance found between groups (log-rank test 0.266266).

Discussion: The recommendation of axillary lymph node dissection (ALND) in conservatively operated patients with clinically (or radiologically) negative axilla and high tumor load as determined by OSNA is not related to local disease control.

© 2025 The Authors. Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of SESPM. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El estudio Z0011¹ ha demostrado (con más de 10 años de seguimiento y con aplicación clínica en todo el mundo) que luego de una biopsia de ganglio centinela (BSGC) existe un porcentaje del 27% de ganglios no centinelas metastásicos; sin embargo, el porcentaje de recidivas axilares es similar al de la linfadenectomía.

A pesar de ello, algunas guías clínicas han incluido en sus recomendaciones el uso del método One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) y la carga tumoral total (TTL) para seleccionar pacientes con cáncer de mama precoz e indicar la realización de una linfadenectomía axilar (ALND)² en pacientes que recibieron cirugía conservadora por cáncer de mama. Por lo tanto, consideran la TTL, definida como el número de copias del ARNm CK19/ul, como el criterio decisivo para la indicación de linfadenectomía, independientemente del número de ganglios metastásicos.

Esto significa que en determinadas situaciones el método OSNA y la TTL prevalecen sobre los criterios de desescalada, indicando la realización de una ALND, aun en casos de pacientes que reciben cirugía conservadora y que cumplen criterios Z0011^{1,3,4}.

En la Unidad de Mama del Hospital Universitario Costa de Sol se utiliza el método OSNA para clasificar a las pacientes con biopsia de ganglio centinela SLNB en: ganglios linfáticos con células tumorales aisladas, micrometastásicas y macrometastásicas. Por otro lado, en los pacientes con cirugía conservadora y con ganglios afectos, para decidir la realización de una ALND, se siguieron las guías internacionales y los criterios de inclusión del estudio Z0011 y no la TTL.

Este estudio pretende determinar la correlación entre la TTL y los resultados clínicos obtenidos en nuestra práctica

clínica, y si la TTL es una herramienta útil para la selección de pacientes que deben recibir una linfadenectomía axilar.

Material y métodos

El estudio tiene un diseño de cohorte retrospectivo, realizado en el Hospital Costa de Sol sobre 92 pacientes con ganglio centinela positivo (GC+) analizados por OSNA entre 2012 y 2017, lo que permite un seguimiento prolongado de aquellos que cumplían los criterios ACOSOG Z0011 (usando la clasificación de micro o macrometástasis según las copias de ARNm-CK19/ul) y que no recibieron una ALND independientemente de la TTL.

Los criterios de inclusión (ACOSOG Z0011) fueron: cirugía conservadora, T1-T2 (hasta 5 cm), N0 clínico, no más de 2 ganglios con macrometástasis en el resultado intraoperatorio, paciente que recibirá radioterapia complementaria sobre el volumen mamario, paciente sin linfadenectomía axilar, sin quimioterapia neoadyuvante y estudio intraoperatorio mediante el método OSNA.

Se tomaron los siguientes criterios de exclusión: paciente con linfadenectomía axilar, estudio intraoperatorio con un método distinto al OSNA y TTL inferior a 250 copias (células tumorales aisladas).

El examen intraoperatorio del ganglio centinela se realizó mediante el siguiente procedimiento: el ganglio linfático fue disecado del tejido adiposo y la grasa perinodal, se incluyó en parafina para su estudio histológico diferido. A continuación, se realizó una citología de impronta antes de que el GC fuera homogeneizado para su estudio mediante técnica molecular de análisis de amplificación de ARNm de la citoqueratina 19 (OSNA Sysmex).

El análisis descriptivo se realizó utilizando medidas de tendencia central y dispersión para las variables

cuantitativas, y distribución de frecuencias para las variables cualitativas. Para evaluar las diferencias entre los grupos en cuanto a supervivencia libre de enfermedades (SLE), se dicotomizaron las copias de ARNm con un punto de corte de 25.000 copias de ARNm-CK19/ul. Para las variables cualitativas se utilizó la prueba de chi-cuadrado y para las cuantitativas la prueba t de Student. Los pacientes clasificados por tipo de metástasis y número de copias se evaluaron mediante el método de Kaplan-Meier, tomando como variable de ajuste los pacientes clasificados por tipo de metástasis y número de copias, evaluando las diferencias mediante la prueba log-rank. En los diferentes análisis, el nivel de significación estadística se estableció en $p < 0,05$. Se utilizó el software SPSS v28.

Resultados

La mediana del número de ganglios centinela obtenidos por el procedimiento fue de 2 ganglios, con una mediana de número de ganglios positivos de 1 (límites 1–5) (**tabla 1**). Todos los pacientes cumplieron los criterios del estudio Z0011 (**tabla 1**).

Cincuenta y cinco pacientes fueron clasificados mediante el método OSNA como micrometastásicos, mientras que 37 fueron clasificados como macrometastásicos. Utilizando la carga tumoral total como parámetro, 7 de los pacientes clasificados como macrometastásicos tenían menos de 25.000 copias de ARNm-CK19/ul y 30 de los pacientes presentaban más de 25.000 copias de ARNm-CK19/ul.

En el análisis univariante, tomando como variable de respuesta las copias de OSNA ($<25.000/\geq25.000$), ni la edad ($p = 0,739$), el tamaño patológico del tumor ($p = 0,236$), el estado menopáusico ($p = 0,983$), el grado histológico ($p = 0,933$), Ki67 ($p = 0,917$), los receptores de estrógenos ($p = 0,420$), los receptores de progesterona ($p = 0,314$), el número de ganglios linfáticos afectados ($p = 0,180$) mostraron asociación estadística. Solo la presencia de invasión linfática vascular mostró asociación estadística ($p = 0,05$) con la progresión libre de enfermedad.

Para realizar el análisis de supervivencia libre de enfermedad, y usando siempre el método OSNA, los pacientes se clasificaron en micrometastásicos, macrometastásicos con menos 25.000 copias de ARNm-CK19/ul y macrometastásicos con más 25.000 copias de ARNm-CK19/ul, sin que se encontrara significación estadística en cuanto a SLE entre los grupos (prueba de log-rank 0,266) (**fig. 1**).

Durante el periodo de estudio, 6 pacientes tuvieron una recaída de la enfermedad (**tabla 2**). Solo uno de ellos ha presentado una recidiva axilar asociada a recidiva supraclavicular y laterocervical, pulmonar y mediastínica. Ha habido 2 recaídas sistémicas, una recaída mamaria y 3 recaídas locorregionales con enfermedad sistémica asociada.

Paciente 1: TTL 2.100 de ARNm-CK19/ul. Carcinoma ductal infiltrante (CDI) T 2,4 cm grado histológico (GH) II, presencia de carcinoma ductal *in situ* (CDIS), LVSI+, margen de tumorectomía a 0,3 mm de componente CDIS. RE+ RP negativos HER2 Neu 2 + SISH negativo, Ki67 70%. Quimioterapia (QT) adyuvante con adriamicina ciclofosfamida (AC) + docetaxel + tamoxifeno (TAM). Recaída mamaria, axilar supraclavicular y laterocervical, pulmonar y mediastínica.

Tabla 1 Características epidemiológicas

Características epidemiológicas	n = 92	%
<i>Edad en años (mediana; DS)</i>	55,5	10,6
<i>Menopausia</i>		
Premenopausia	29	31,5
Posmenopausia	63	68,5
<i>Bilateralidad</i>		
Sí	2	2,2
No	90	97,8
<i>Histología</i>		
Ductal	79	85,9
Lobular	2	2,2
Otra	11	12
<i>Tamaño tumoral</i>		
Patológico mm (media; DS)	18,3	7,7
<i>Grado histológico</i>		
Grado I	22	23,9
Grado II	41	44,6
Grado III	29	31,5
<i>Invasión linfo vascular</i>		
No	60	65,2
Sí	2	34,8
<i>Ki67</i>		
$\leq 20\%$	54	61,4
$> 20\%$	34	38,6
<i>Recetores estrogénicos</i>		
Positivo (> 1%)	85	92,4
Negativo	7	7,6
<i>Receptores progesterona</i>		
Positivo (> 1%)	76	72,6
Negativo	16	1,4
<i>HER2 Neu</i>		
Negativo 0	49	53,3
Negativo +1	17	18,5
Positivo +2	18	19,6
Positivo +3	8	8,7
<i>Ganglio centinela</i>		
Mediana (mediana; IQR)	2	1
Número de GC + (mediana; IQR)	1	0
1	42	46,3
2	31	33,7
3	15	15,8
4	3	3,2
5	1	1,1
<i>Tipo de afectación</i>		
Micrometastásis	55	59,8
Macrometastásis	37	40,2
<i>OSNA copias totales (TTL)</i>		
Micrometastásis	55	59,8
Macrometastásis <25 K	7	7,6
Macrometastásis >25 K	30	32,6

OSNA: One Step Nucleic Acid Amplification; TTL: carga tumoral total.

Paciente 2: TTL 1.400.000 de ARNm-CK19/ul. CDI mixto T 1,8 cm, GH I, LVSI+, márgenes de tumorectomía libres, RE+, RP+, HER2 Neu negativo, Ki67 no disponible, Rxponder RS: 15, letrozol, recaída mamaria con letálide, axilar contralateral, pulmonar.

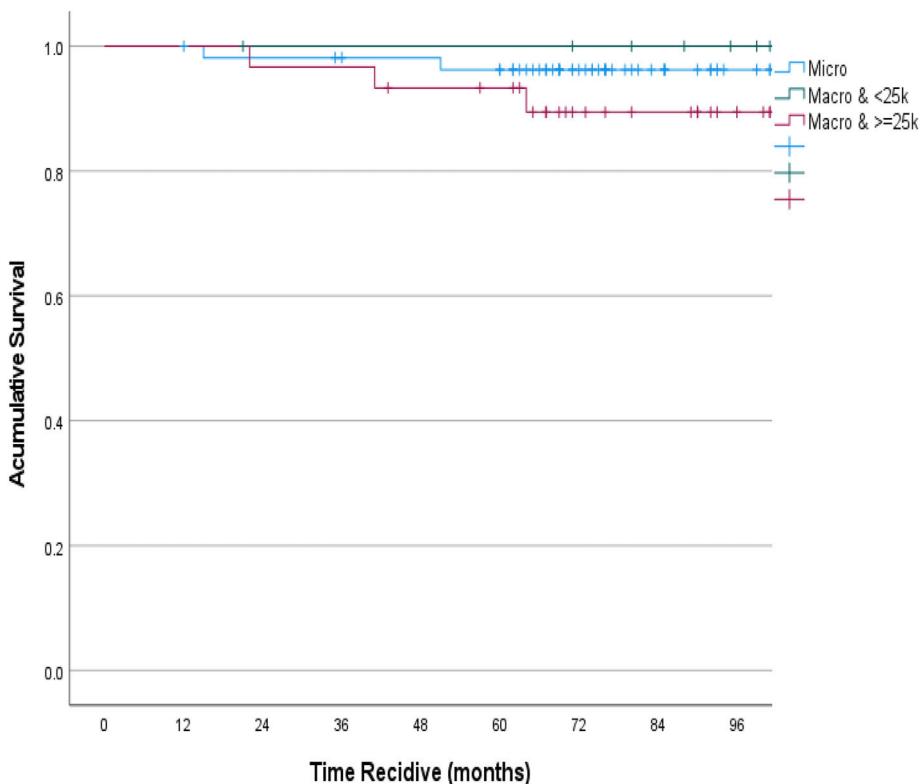


Figura 1 Análisis de supervivencia libre de enfermedad. Creado con SPSS v28. > 25 k: >25.000, <25.K: <25.000.

Paciente 3: TTL 630.000 de ARNm-CK19/ul. CDI, cT2 N1, RE+, RP+, HER2 Neu negativo, Ki67 24%, QT adyuvante con AC/docetaxel + TAM, recaída hepática, cutánea en coraza y pulmonar.

Paciente 4: TTL 15.900.000 de ARNm-CK19/ul. CDI T 2 cm, GH III RE+ RP+, HER2 Neu 3+, CDIS <25%, márgenes tumorales libres, QT adyuvante AC/docetaxel + herceptin, TAM + exemestano, recaída ósea, mediastínica y hepática.

Paciente 5: TTL 1.720.000 de ARNm-CK19/ul. CDI T 4,5 cm, receptores hormonales negativos, GH III, HER2 Neu 3+, LVSI+, QT AC/taxanos + herceptin + petuzumab, recaída sistema nervioso central.

Paciente 6: TTL 1.300 de ARNm-CK19/ul. CDI tubular, T 0,9 cm, RE+, RP+, HER2 Neu negativo, Ki67 6%, márgenes tumorales libres, letrozol, recidiva mamaria CDIS + microinvasión.

Por último, y para conocer el alcance de las posibles sobreindicaciones de un ALND, se calculó el número de pacientes que necesitarían ser tratadas bajo los criterios de

TTL para producir daño, el cual fue de 2,3 (NNH [Hazard Ratio, Cox Regression]).

Discusión

Se debe reevaluar la relevancia clínica que puede tener en la estadificación axilar la utilización de un método como el OSNA. Más aún si el método está destinado a ser utilizado para seleccionar pacientes que son candidatas a la disección axilar en la era pos-Z0011⁵⁻¹⁰.

Peg et al.¹¹ analizaron a 697 pacientes con ALND tras un GC+. A pesar de que el diámetro de los tumores incluidos era T1-T3, encontraron un porcentaje de ganglios no centinelas metastásicos similar al del estudio publicado por Giuliano et al. (29% Peg vs. 27,3% Giuliano)¹². Este estudio se inició antes de la publicación de Z0011, con el objetivo de evitar linfadenectomías, y solo el 2,8% de los pacientes del grupo de alta carga no recibieron disección axilar. Evidentemente,

Tabla 2 Recaídas

Paciente	Tipo de recurrencia	Tiempo hasta la recurrencia (meses)	Descripción ^a	TTL
1	Locorregional y sistémica	14	pT2 pN1 LVSI+, Luminal B	2.100
2	Locorregional y sistémica	111	pT1 pN1 LVSI+ Luminal A	1.400.000
3	Locorregional y sistémica	40	pT2 pN1 Luminal B	630.000
4	Sistémica	63	pT2 pN1 Luminal B HER2+	15.900.000
5	Sistémica	22	pT2 pN1 HER2 enrich LVSI+	1.720.000
6	Mamaria	50	pT1b pN1 Luminal A	1.300

^a LVSI: invasión de espacio linfovascular. TTL: carga tumoral total.

la publicación del estudio Z0011^{1,3} cambió el impacto real que podía tener la TTL. Por otro lado, publicaciones recientes advierten que la TTL medida por el método OSNA¹³ no debe utilizarse fuera de un ensayo clínico.

Ales Martínez et al. analizaron un total de 321 pacientes con BSGC evaluada por OSNA con un seguimiento medio de 56 meses. Setenta y un casos mostraron una TTL superior a 15.000 copias. Utilizando los criterios Z0011, obtuvieron resultados similares a los nuestros con una baja tasa de linfadenectomía axilar. En nuestro caso, solo la presencia de LVSI estuvo relacionada con SLE; si bien este último es un parámetro poco reproducible, debe ser incluido en los informes de anatomía patológica¹⁴.

También concluyen, al igual que nosotros, que si el manejo axilar se hubiera basado en los valores de TTL, habrían multiplicado el número de linfadenectomías axilares por un factor de 3,3 y que no existe relación entre la TTL medida por el método OSNA y los resultados clínicos locales y a distancia¹⁵.

En nuestro estudio, la posibilidad de realizar una linfadenectomía en exceso se calculó como NNH, con un resultado de 2,3.

Diferentes autores han propuesto puntos de corte para las copias de ARNm con el fin de decidir si, en presencia de un GC+, se debe realizar ALND¹⁶. Incluso el punto de corte propuesto ha sido modificado recientemente en los protocolos de algunas sociedades científicas².

Aunque el análisis de TTL por OSNA ha mostrado en un metaanálisis publicado por Tiernan et al.¹³, una sensibilidad global de 0,87 y una especificidad de 0,98 al analizar el compromiso metastásico del GC, dada la baja prevalencia de macrometástasis, estos valores podrían llevar a interpretaciones erróneas. Ciertamente, en el año de publicación de este trabajo y con los puntos de corte propuestos, se obtenían bajos valores predictivos positivos, lo que podía conducir a indicaciones de linfadenectomía en exceso. Aunque la intención del nuestro trabajo no es valorar los actuales puntos de corte utilizados para clasificar las metástasis axilares en células tumorales asiladas, micro o macrometástasis (por otra parte, ampliamente establecidos), sino la utilidad de la TTL para indicar una linfadenectomía en la era pos-Z0011.

Recientemente se han publicado los resultados del estudio SINODAR ONE¹⁷ y SENOMAC¹⁸. SINODAR ONE es un estudio aleatorizado, multicéntrico, prospectivo y de no inferioridad cuyo objetivo es evaluar la utilidad de la disección de ganglios linfáticos axilares en que recibieron cirugía conservadora de mama o mastectomía para el cáncer de mama T1–2 y que presentaban uno o 2 GC con macro metástasis. El examen histopatológico se realizó mediante el método estándar y la técnica OSNA. Usando el método OSNA, los ganglios fueron clasificados en micro o macrometastásicos, pero no se usó un punto de corte en base al número de copias para indicar o no la necesidad de una linfadenectomía. Sus resultados no respaldan el uso de la ALND de rutina en este tipo de pacientes. El estudio SENOMAC es un ensayo de no inferioridad en el que pacientes con ganglios clínicamente negativos con criterios de inclusión más amplios que el estudio Z0011 (T1–3, micrometástasis adicionales, extensión extracapsular), demostró una vez más que la omisión de la disección completa de los ganglios linfáticos axilares no fue inferior a una cirugía más extensa.

La recomendación de ALND en casos de axilas clínicamente (o radiológicamente) negativos con alta carga tumoral determinada por OSNA en pacientes que cumplen criterios Z0011 no se apoya en los datos de grandes estudios aleatorizados en concordancia con los resultados de nuestro estudio, a pesar de ser un diseño de cohorte retrospectivo. En estos estudios^{19–25} y con un seguimiento medio de 8–10 años, la tasa de recurrencia axilar osciló entre el 1,5 y 3,8%, no siendo diferente de la tasa observada con la ALND. Este hecho, así como la igualdad entre la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global, y el hecho de que la decisión de realizar un tratamiento adyuvante sistémico se base en las características biológicas del tumor, hacen que la tendencia actual sea reducir cada vez más la necesidad de la linfadenectomía axilar.

¿Cuáles son las implicaciones de no completar una linfadenectomía en presencia de GC+? No parece que los falsos negativos de la BSGC, ni el posible compromiso residual axilar comprometan el verdadero objetivo final, que es el control local de la enfermedad^{19,26,27}.

Responsabilidades éticas

El estudio cuenta con la aprobación de Comité de Ética de la Investigación del Hospital Universitario Costa del Sol.

Consentimiento informado

Los autores declaran que cuentan con el consentimiento de los pacientes para su publicación.

Financiación

Los autores declaran que no han recibido financiación alguna.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

Bibliografía

- Giuliano AE, Ballman K, McCall L, Beitsch P, Whitworth PW, Blumencranz P, et al. Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: long-term follow-up from the American College of Surgeons Oncology Group (Alliance) ACOSOG Z0011 randomized trial. Ann Surg. 2016;264(3):413–20.
- Bernet L, Piñero A, Martínez M, Vidal Sicart S, Algara M, Palomares E. Consenso de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria (SESPM) sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) y el manejo axilar en el cáncer de mama (2022). Rev senol Patol mamar (Ed impr). 2022;35(4):243–59.
- Giuliano AE, Hunt KK, Ballman KV, Beitsch PD, Whitworth PW, Blumencranz PW, et al. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial. JAMA. 2011;305(6):569–75.
- Giuliano AE, McCall L, Beitsch P, Whitworth PW, Blumencranz P, Leitch AM, et al. Locoregional recurrence after sentinel lymph

- node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: the American college of surgeons oncology group Z0011 randomized trial. *Ann Surg.* 2010;252(3):426–32 discussion 2–3.
5. Chaudhry A, Williams S, Cook J, Jenkins M, Sohail M, Calder C, et al. The real-time intra-operative evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer patients using One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) and implications for clinical decision-making. *Eur J Surg Oncol.* 2014;40(2):150–7.
 6. Banerjee SM, Michalopoulos NV, Williams NR, Davidson T, El Sheikh S, McDermott N, et al. Detailed evaluation of one step nucleic acid (OSNA) molecular assay for intra-operative diagnóstico of sentinel lymph node metastasis and prediction of non-sentinel nodal involvement: experience from a London teaching hospital. *Breast.* 2014;23(4):378–84.
 7. Klingler S, Marchal F, Rauch P, Kenouchi O, Chrétien AS, Genin P, et al. Using one-step nucleic acid amplification (OSNA) for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients avoids second surgery and accelerates initiation of adjuvant therapy. *Ann Oncol.* 2013;24(9):2305–9.
 8. Buglioni S, Di Filippo F, Terrenato I, Casini B, Gallo E, Marandino F, et al. Quantitative molecular analysis of sentinel lymph node may be predictive of axillary node status in breast cancer classified by molecular subtypes. *PLoS One.* 2013;8(3), e58823.
 9. Espinosa-Bravo M, Sansano I, Pérez-Hoyos S, Ramos M, Sancho M, Xercavins J, et al. Prediction of non-sentinel lymph node metastasis in early breast cancer by assessing total tumoral load in the sentinel lymph node by molecular assay. *Eur J Surg Oncol.* 2013;39(7):766–73.
 10. Osako T, Iwase T, Kimura K, Horii R, Akiyama F. Sentinel node tumor burden quantified based on cytokeratin 19 mRNA copy number predicts non-sentinel node metastases in breast cancer: molecular whole-node analysis of all removed nodes. *Eur J Cancer.* 2013;49(6):1187–95.
 11. Peg V, Espinosa-Bravo M, Vieites B, Vilardell F, Antúnez JR, de Salas MS, et al. Intraoperative molecular analysis of total tumor load in sentinel lymph node: a new predictor of axillary status in early breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;139 (1):87–93.
 12. Peg V, Sansano I, Vieites B, Bernet L, Cano R, Córdoba A, et al. Role of total tumor load of sentinel lymph node on survival in early breast cancer patients. *Breast.* 2017;33:8–13.
 13. Tiernan JP, Vergheze ET, Nair A, Pathak S, Kim B, White J, et al. Systematic review and meta-analysis of cytokeratin 19-based one-step nucleic acid amplification versus histopathology for sentinel lymph node assessment in breast cancer. *Br J Surg.* 2014;101(4):298–306.
 14. Kuhn E, Gambini D, Despini L, Asnaghi D, Runza L, Ferrero S. Updates on Lymphovascular Invasion in Breast Cancer. *Biomedicines.* 2023;11(3).
 15. Jose Ales-Martinez RT, Parra Juan, Ceballos Jaime, Filipovich Elena, Segovia Beatriz, Revestido Rafael, et al. No relationship of axillary total tumor load (TTL) by PCR (OSNA) in early breast cancer and local and distant clinical outcomes. *JCO.* 2019;37. https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.564 564–564.
 16. Deambrogio C, Castellano I, Paganotti A, Zorini EO, Corsi F, Busone R, et al. A new clinical cut-off of cytokeratin 19 mRNA copy number in sentinel lymph node better identifies patients eligible for axillary lymph node dissection in breast cancer. *J Clin Pathol.* 2014;67(8):702–6.
 17. Tinterri C, Gentile D, Gatzemeier W, Sagona A, Barbieri E, Testori A, et al. Preservation of axillary lymph nodes compared with complete dissection in T1–2 breast cancer patients presenting one or two metastatic sentinel lymph nodes: the SINODAR-ONE multicenter randomized clinical trial. *Ann Surg Oncol.* 2022;29(9):5732–44.
 18. de Boniface J, Filtenborg Tvedskov T, Rydén L, Szulkin R, Reimer T, Kühn T, et al. Omitting axillary dissection in breast cancer with sentinel-node metastases. *N Engl J Med.* 2024;390 (13):1163–75.
 19. Hersh EH, King TA. De-escalating axillary surgery in early-stage breast cancer. *Breast.* 2022;62(Suppl 1):S43–9.
 20. McShane LM, Hayes DF. Publication of tumor marker research results: the necessity for complete and transparent reporting. *J Clin Oncol.* 2012;30(34):4223–32.
 21. Bossuyt V, Provenzano E, Symmans WF, Boughey JC, Coles C, Curigliano G, et al. Recommendations for standardized pathological characterization of residual disease for neoadjuvant clinical trials of breast cancer by the BIG-NABCG collaboration. *Ann Oncol.* 2015;26(7):1280–91.
 22. Lyman GH, Somerfield MR, Bosserman LD, Perkins CL, Weaver DL, Giuliano AE. Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 2017;35(5):561–4.
 23. Lyman GH, Somerfield MR, Giuliano AE. Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: 2016 American society of clinical oncology clinical practice guideline update summary. *J Oncol Pract.* 2017;13(3):196–8.
 24. Lyman GH, Temin S, Edge SB, Newman LA, Turner RR, Weaver DL, et al. Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 2014;32(13):1365–83.
 25. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, et al. Early breast cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnostico, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2019;30(8):1194–220.
 26. Esserman LJ, Ali H, McKenzie T. When less can be more: how the 10-year updated results from the randomized controlled AMAROS trial should affect axillary management in the setting of a positive node. *J Clin Oncol.* 2023;41(12):2144–50.
 27. Gentilini OD, Botteri E, Sangalli C, Galimberti V, Porpiglia M, Agresti R, et al. Sentinel lymph node biopsy vs. no axillary surgery in patients with small breast cancer and negative results on ultrasonography of axillary lymph nodes: The SOUND randomized clinical trial. *JAMA Oncol.* 2023;9(11):1557–64. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2023.3759>.