

Heloísa Maria De Luca Vespoli

Estudo anátomo-clínico do linfonodo sentinela no câncer de mama

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, Área de Concentração em Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. José Ricardo P. Rodrigues

Botucatu – SP

2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Vespoli, Heloisa Maria De Luca.

Estudo anátomo-clínico do linfonodo sentinela no câncer de mama /
Heloísa Maria De Luca Vespoli. – 2006.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina
de Botucatu, 2006

Orientador: José Ricardo P. Rodrigues

Assunto CAPES: 40101150

1. Mamas - Câncer

CDD 616.99449

Palavras-chave: Câncer de mama; Linfadenectomia axilar; Linfonodo
sentinela; Micrometástases

*Aos meus pais Laurival e Maria Cecília,
mais uma vez me apoiaram e deram
forças para seguir em frente.*

*Ao meu amor Marcos Luis,
juntos e com muita luta estamos
construindo nossas vidas.
Obrigada pela paciência!*

*A minha querida Maria Julia,
filha abençoada que inunda nossa vida
de alegria.*

Aos meus irmãos e irmã, cunhadas e cunhados.

*A todos os demais membros da minha família e
aos meus sogros.*

Ao *Prof. José Ricardo P. Rodrigues*, pela orientação e continuidade do CAM.

Ao *Dr. Gilberto Uemura*, que me apoiou nas horas difíceis.

Ao *Dr. Rogério Dias*, coordenador do curso de Pós-Graduação, que viabilizou o nosso estudo imunohistoquímico.

Ao *Dr. Paulo Traiman* pela transmissão dos seus conhecimentos.

Aos *Dr. Jorge e Dra Eliana Nahás*, pelo apoio e coleguismo.

Ao *Dr. Eduardo e Dra Carla*, que sempre se prontificaram a me ajudar nas horas necessárias.

Aos *Membros do CAM* – Centro de Avaliação em Mastologia “Prof. Laurival Antonio De Luca”.

Aos *Docentes e Médicos* do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, pelos ensinamentos.

À *Dra. Mariângela Alencar Marques*, fundamental para minhas revisões histopatológicas e que me deu grande força durante a realização deste trabalho.

Ao *Marquinho*, da Patologia sempre pronto a responder minhas dúvidas.

Ao *Dr. Armando Delmanto*, pela ajuda constante.

À *Dra Lídia Raquel*, pela contribuição estatística.

À *Regina Spadim e Cristiane Abe*, pelas “dicas”.

Ao *Natanael*, pela atenção dispensada.

À *Luciana Ribeiro Nodoy*, pela ajuda constante.

À *Cida e Ana*, pelo respeito que me é dedicado e dos funcionários da Pós- Graduação.

Ao *Renato Antunes Ribeiro* pela ajuda na formatação deste trabalho.

À *Cintia Regina Forti*, que também muito colaborou.

Lista de Abreviaturas

- CAM – Centro de Avaliação em Mastologia “Prof. Laurival Antonio De Luca”
- L.A. – Linfadenectomia Axilar
- L.S. – Linfonodo Sentinela
- L.N.S. – Linfonodo não Sentinela
- B.L.S. – Biópsia do Linfonodo Sentinela
- Q.S.E. – Quadrante Superior Externo
- Q.S.I. – Quadrante Superior Interno
- Q.I.E. – Quadrante Inferior Externo
- Q.I.I. – Quadrante Inferior Interno
- H.E. – Hematoxilina-Eosina

Resumo

Duas grandes evoluções ocorreram no tratamento cirúrgico do câncer de mama, a cirurgia conservadora e a B.L.S. como opção para o esvaziamento dos gânglios axilares nos tumores iniciais da mama. O objetivo da B.L.S. é evitar a morbidade decorrente da linfadenectomia axilar, principalmente o linfedema, parestesia e limitação da mobilidade do membro superior.

Linfonodo Sentinela é definido como o primeiro linfonodo à receber a drenagem linfática do tumor primário, sendo capaz de predizer o estado dos demais gânglios axilares em mais de 90% dos casos. Krag e Giuliano introduziram a B.L.S. no câncer de mama e este procedimento tem sido adotado em muitas instituições.

Analizamos retrospectivamente 111 pacientes do Centro de Avaliação em Mastologia submetidas à B.L.S. entre fim de 1999 e dezembro de 2004. Dividimos o estudo em duas fases: na primeira (fase de aprendizado) o objetivo foi adquirir experiência com a B.L.S. e, na segunda, esta biopsia foi feita de rotina em nosso serviço. A técnica utilizada para a identificação do L.S. foi a combinada (azul-patente mais radio-farmaco), o sítio de injeção foi peritumoral na primeira fase e subareolar ou peritumoral na segunda fase. O estudo imunohistoquímico foi feito nas pacientes com L.S. negativos da segunda fase através da técnica da avidina-biotina-peroxidase com anticorpo monoclonal A E₁ /A E₃ (DAKO, na diluição 1:250). Para este estudo recuperamos as lâminas arquivadas no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Na primeira fase, a linfadenectomia axilar foi feita de rotina e o L.S. era enviado identificado como tal junto com os demais gânglios axilares para estudo histológico. Na segunda fase, a linfadenectomia axilar só foi realizada quando o L.S. estava comprometido ou não identificado. O exame intra-operatório foi pelos cortes de congelação.

Na segunda fase 64 pacientes foram avaliadas. O L.S. foi identificado em 81,2% das vezes, no intra-operatório o L.S. foi

negativo em 84% das vezes, positivo em 14% e indeterminado em 2%. A linfadenectomia axilar foi realizada em 31,2% das pacientes. A concordância entre congelação e parafina foi de 98%, portanto, tivemos 2% de falso-negativos. Dos casos não identificados, predominaram idade acima de 50 anos e a injeção peritumoral. Não encontramos micrometástases no estudo imunohistoquímico, porém, em 2 casos identificamos células tumorais isoladas. Nossa recorrência axilar foi de 1,92%.

Aspectos sobre o L.S. ainda são bastante duvidosas, principalmente o significado clínico das micrometástases e a conduta frente a esta situação. Porém, a segurança e eficácia em prever o estado da cadeia axilar, as baixas taxas de falso-negativos e de recorrência axilar nos faz acreditar que a B.L.S. deve ser adotada por todos os especialistas envolvidos com o câncer de mama. É extremamente importante para o serviço e/ou especialista que se propõe à abandonar a linfadenectomia axilar pela B.L.S. ter perfeita integração entre as várias especialidades: cirurgiões, patologistas, médicos nucleares, oncologistas e radioterapeutas visando sempre o benefício da paciente, apesar do câncer de mama.

Abstract

Two evolutions occurred in the surgical treatment of breast cancer, the preserve surgery and the sentinel lymph node biopsy (SLNB) in early stage breast cancer. The purpose of the SLNB in early stage breast cancer. The purpose of the SLNB was to avoid the morbidity passing of the completion axillary dissection (ALND)

Sentinel lymph node (SLN) is defined how the first lymph node to accept the lymphatic draning of primary tumor, to be able to predict the condition of the others axillarys lym phonodals in more of the 90% in the cases. Krag and Giuliano introduced the SLNB in breast cancer and this is the procedure was being use in many institutions.

We was to analyse 111 patients of the CAM submitted at SLNB between 1999 and 2004. There were two phase in the study, the learning phase (47 patients) and the application phase (64 patients). Our the thecnic was patent blue with 99m tecnesio, we have used peritumoral injection in the learning phase and peritumoral or subareolar in the application phase. The immunohistochemistry was done in the patients with negative SLN using cytokeratin antibody AE1/ AE3 and streptavidin biotin peroxidase method, the slides was recover by Department of Pathology of the Botucatu Medicine School.

In the learning phase the ALND was done and the SLN identifiable how that with other axillary lymphonodals was sending for the histopathologic study. The application phase the ALND only occurred if the SLN was not free of the metastasis. The intraoperative examination was to frozen section, the SLN was identification in 81,2% in the cases, in the intraoperative examination the SLN was negative in 84,6%, positive in 14% and indeterminate in 2%. The ALND was done an 31,2% of the patients. The concordance between frozen section and parafin was the 98%, 2% of the false-negatives. We doesn't meet micrometastasis in the immunohistochemistry, only tumor isolated cells in two cases. The axillary recurrence was to 1,92%. Its very important for the institution

or the expert that will do disregard the ALND for the SLNB to have perfect integration between the experts for the benefit of the patient, despit of the breast cancer.

Índice

Introdução.....	01
Objetivo.....	10
Pacientes e Métodos	11
Resultados.....	19
Discussão	34
Conclusões	47
Referências Bibliográficas	48

Introdução

O tratamento cirúrgico do câncer de mama evolui desde as mastectomias radicais com extensa ressecção dos linfonodos axilares postuladas por Halsted e W. Meyer através das quais as pacientes eram submetidas a extensas disseções destes linfonodos em complemento à retirada da mama e de ambos os músculos peitorais.⁽⁴²⁾

Consolidou-se a intervenção conservadora que permite a mesma duração da sobrevida do que os procedimentos radicais sem as desnecessárias mutilações.^(29,30,114) Mais recentemente surgiu a possibilidade de evitar-se a abordagem da axila com o advento da biópsia do linfonodo sentinela.^(37,38,55,115) Se a mesma comprovar a ausência de células neoplásicas não é necessária a linfadenectomia, reduzindo a morbidez pós-operatória.

A existência de metástases em linfonodos axilares, até hoje é considerada o principal fator de prognóstico, mas em 60% dos casos a linfadenectomia axilar responde pelos linfedemas, parestesia e limitação dos movimentos do membro superior.^(7,28,43,111)

O linfedema é complicação mais ou menos grave apresentando-se como intercorrência em 25% das pacientes operadas.⁽⁹⁾ Sua influência negativa sobre a qualidade de vida é bem conhecida.

A meta do procedimento conhecido como Biópsia do Linfonodo Sentinela (B.L.S.) é justamente subtrair a linfadenectomia e reduzir a sua morbidez.^(95,97) Portanto, se a abordagem axilar for descartada em portadoras de neoplasias malignas nos estados iniciais, quando espera-se que a maioria dos linfonodos estejam livres da doença, prevê-se a evolução da paciente com melhor qualidade de vida.

No estado inicial, 75% a 90% dos linfonodos axilares não revelam metástases:⁽¹⁾ segundo a literatura, tumores com até 0,5cm no maior diâmetro causam metástases em 3,0% a 10%, entre 0,5 e 1cm entre 4,0% a 17% e entre 1 e 2cm entre 23% a 40% dos casos.⁽⁸³⁾

Linfonodo Sentinela é definido como o primeiro linfonodo a receber as células metastáticas previamente do tumor primário, a partir do qual atingem os demais linfonodos.⁽¹⁰⁵⁾

O uso do L.S. começou a ser implantado pelo cirurgião paraguaio Ramon Cabanas em tumores de pênis.⁽⁶⁾ Anos depois, Morton utilizou-se do método em estágios iniciais de melanoma.⁽⁷⁴⁾

Em câncer de mama, o estudo sistemático do L.S. começou com Krag (1993)⁽⁵⁵⁾ e Giuliano (1994).⁽³⁸⁾

A capacidade do L.S. em prever a presença ou ausência de metástases axilares é maior que 90%, observação documentada em vários trabalhos.^(13,15,37,48,56,72,113,115) A linfadenectomia axilar foi abandonada em muitos centros, reservando-se o procedimento para os quais o L.S. contiver metástases.^(14,39)

Algumas contra-indicações consideradas absolutas de início para a B.L.S. foram relatadas: tumores maiores que 3cm, quimioterapia neoadjuvante, cirurgia prévia da mama, cirurgia axilar prévia e tumores multicêntricos. Entretanto, a medida que nossa experiência aumenta elas podem ser questionáveis.

A identificação do Linfonodo Sentinela

As técnicas utilizadas para identificação do L.S. valem-se de corantes, de radiofármacos ou a utilização de ambos

simultaneamente. Nos E.U.A. o corante de escolha é o Isossulfan, na Europa e América Latina o azul patente. Os resultados finais não diferem entre os dois corantes. O azul de metileno, não tem sido utilizado.

Lingham et al, utilizava o azul patente em melanomas, observando boa perfusão nos canalículos linfáticos, mínima difusão entre os tecidos e fácil detecção visual do L.S.⁽⁶³⁾ Este corante é o mais utilizado em câncer de mama. É injetado na dose de 2 a 4ml antes do início da cirurgia em região subdérmica, subareolar ou peritumoral. Urticárias, edema angioneurótico, laringoespasmo e colapso vaso-motor são raramente observados como reação ao corante. O azul patente determina coloração azulada na pele, tingimento de urina e pode alterar transitoriamente a oximetria.^(54,63) No procedimento técnico radioguiado emprega-se substância radioativa e seu carreador, injetados habitualmente no dia anterior à cirurgia. O L.S. é visualizado através da linfocintilogia e será localizado durante a cirurgia pelo gamma probe.^(72,13)

O radiocolóide ideal deve ter elevada capacidade de difusão através dos canalículos linfáticos, ser absorvido pelos linfonodos, se depositar em seu interior, ter meia-vida curta, ser simples de manuseio e não contaminar o meio ambiente.⁽¹⁾ O ^{99m}Tecnício em meio coloidal que obedece esses critérios. Ele é

rapidamente transportado para os linfonodos regionais após sua injeção intersticial. A dose do radiofármaco varia de 0,5 a 2mCi diluídos em 4ml injetados na região peritumoral, subareolar ou subdérmica.⁽⁸⁴⁾ Os fármacos carreadores da substância radioativa são albumina humana, albumina coloidal e fitato coloidal. O tamanho das partículas carreadoras é o principal fator que determina a entrada no sistema linfático, a velocidade do transito e o grau de retenção no linfonodo. Partículas de pequeno tamanho podem ultrapassar o L.S., depositando-se em outros linfonodos adjacentes, o que resulta na possibilidade de haver um ou mais L.S.⁽⁷¹⁾ Reações alérgicas ao radioisótopo ocorrem entre um e seis por cem mil casos caracterizando-se por sintomas e sinais menos importantes até bradicardia e apnéia.

A injeção do corante e do radiofármaco em função da drenagem linfática.

A injeção peritumoral é baseada no conceito segundo o qual os linfonodos peritumorais são canais de acesso ao sistema linfático e subsequente depósito nos linfonodos. Outro sítio utilizado é a região subdérmica localizada sobre o tumor, seguindo os linfáticos da derme até a axila. A injeção subareolar tem sido bem aceita tendo como base a drenagem linfática pelo plexo subareolar

ou de Sappey.⁽⁴¹⁾ Este plexo é formado por linfáticos profundos e superficiais centrípetos que seguem o sistema ductal, drenando em sentido único para os linfonodos axilares, independente da localização do tumor⁽⁴¹⁾ (Figura 1 e 2). Só 3% da linfa contida nos linfáticos do tumor drenam para a mama interna e nódulos paraesternais; uma porção ainda menor drena para os linfonodos intercostais posteriores.⁽¹¹⁰⁾

Figura 1 – Linfáticos da Mama.

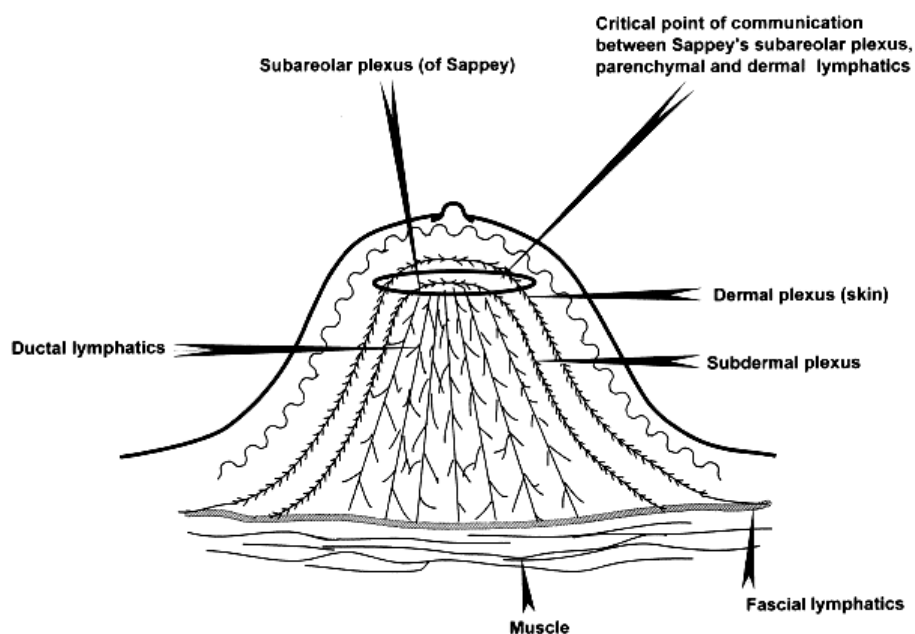
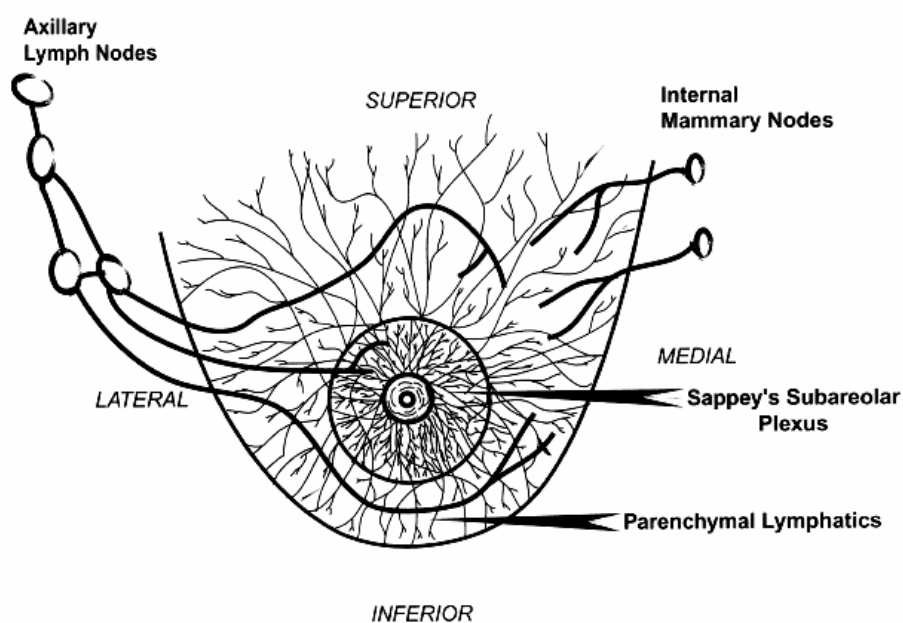


Figura 2 – Drenagem linfática da mama.



Estudo anátomo-patológico do L.S.

A biópsia intraoperatória norteia para a necessidade ou não da abordagem axilar.

Duas técnicas de diagnóstico rápido são utilizadas, o exame de cortes de congelação e o imprinte citológico.⁽⁸⁰⁾ Na maioria dos trabalhos os intervalos entre os cortes não são maiores do que 2mm.^(44,61,64,75,81)

Soares TC,⁽¹⁰³⁾ preconiza o procesamento do L.S. cortando-o em fatias transversais de 2mm de espessura. Os esfregaços (imprinte citológico) são obtidos pela impressão da superfície de corte, dispondo o material sobre lâmina seca. O esfregaço é realizado por fricção, deslizando uma lâmina seca sobre o material, à seguir o esfregaço é fixado em álcool hidrolizado 75%, por 30 segundos e coloração pela hematoxilina-eosina (H.E.). Um corte de congelação de um só nível é obtido de cada fatia e corado pela H.E. Os cortes congelados e os esfregaços são examinados ao microscópio óptico.

As micrometástases, são definidas como agrupamento de células tumorais com dimensão variável entre 0,2mm a 2,0mm.⁽¹⁰¹⁾ Se as células não ultrapassam 0,2mm são definidas como células tumorais isoladas.⁽⁴⁷⁾ A presença destas células é confirmada em cortes seriados corados pela H.E. e

imunohistoquímica.⁽¹⁰³⁾ Uma nova técnica, valendo-se da biologia molecular, reação em cadeia transcriptase-polimerase reversa(RT-PCR), tem sido utilizada com o objetivo de diagnosticar doença restante no L.S. não detectada pelos demais métodos.^(78,91)

Objetivo

Realizar o estudo anátomo-clínico do linfonodo sentinela resultante da experiência de um serviço especializado (CAM).

Pacientes e Métodos

O estudo foi retrospectivo e as informações foram obtidas através dos prontuários das pacientes cadastradas no Centro de Avaliação em Mastologia e das lâminas arquivadas no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

Dividimos o tempo de estudo em duas fases. Entre outubro de 1999 e setembro de 2001 e a segunda, entre outubro de 2001 e dezembro de 2004.

A primeira fase foi considerada de aprendizado, realizando-se o procedimento em 47 pacientes. Nesta fase, foi priorizado o estudo da técnica para identificação do L.S. Todas as pacientes foram submetidas à linfadenectomia axilar. O L.S., quando encontrado, era submetido à biópsia junto com os demais

linfonodos. As pacientes incluídas não tinham linfonodos axilares palpáveis e não haviam sido submetidas à cirurgia, à quimioterapia ou à radioterapia prévias.

A técnica para identificação do L.S. foi a combinada, empregando-se azul-patente e radiofarmaco. Era injetado 1ml em cada pólo do tumor em total de 4ml de azul-patente, seguida de suave massagem local por volta de 10 minutos e pequena incisão na base da axila, no limite dos folículos pilosos, para o encontro do L.S. O radiofarmaco utilizado foi o fitato com tecnésio^[99mTc], numa dose total de 1,2mCi, injetados na periferia do tumor em quatro pontos (300μCi por ponto). O volume foi de 0,4ml (0,1 por ponto) seguido de massagem por 10 minutos. A pele foi marcada nas projeções vistas pela linfocintilografia. A aquisição das imagens foi obtida por gama câmera Orbiter Siemens, colimador LEHR, matrix 128 X 128. As projeções marcadas foram a anterior e a lateral correspondentes ao lado do tumor. As aquisições das imagens começaram aproximadamente 10 minutos após a injeção. A cirurgia foi realizada cerca de 24 horas após a linfocintilografia. Durante o ato cirúrgico foi utilizado o gama-probe para a captação de radioatividade do radiofarmaco depositado no L.S.(figuras 3, 4, 5, 6, 7, 8)

Na segunda fase (64 pacientes), consolidado o aprendizado, deixamos de realizar a linfadenectomia axilar se não houvesse comprometimento do L.S. pelas células neoplásicas.

A técnica para identificação do L.S. foi a combinada na maioria das vezes, porém, a quantidade de azul-patente variou de 2 a 4ml e o seu sítio de injeção foi peritumoral ou subareolar. Só em dois casos foi empregado o radiofarmaco isolado, em identificações realizadas mediante cirurgia ambulatorial com anestesia local.

Nenhuma das pacientes apresentava tumores maiores que 3cm, o exame clínico da axila não revelou linfonodos palpáveis, nem havia alteração pela cintilografia da mama. Nenhuma delas havia sido submetida à cirurgia, quimioterapia ou radioterapia prévias.

Estudo Anátomo-patológico

O L.S. era recebido a fresco e seccionado transversalmente uma ou mais vezes dependendo do seu tamanho, obtendo-se fragmentos com cerca de 2mm de espessura. O fragmento representativo da porção central era rapidamente congelado em nitrogênio líquido. Cortes de 5 a 6 μ m foram adquiridos, dispostos em lâminas histológicas e coradas pela H.E.

Estas lâminas foram, então, examinadas para o diagnóstico intra-operatório.

A seguir, o restante do material congelado e os demais fragmentos eram fixados em formalina tamponada à 10% e, posteriormente, embebidos em parafina; cortes histológicos de 4µm foram feitos e corados pela H.E.

O estudo imunohistoquímico foi realizado em todo os L.S. negativos para células neoplásicas estudadas na segunda fase. As lâminas foram recuperadas dos arquivos do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP. Seções histológicas de 4µm foram desparafinizadas em xylol e graus descendentes de etanol. A seguir, uma lâmina foi corada pela H-E e outra submetida à imunohistoquímica pela técnica da avidina-biotina-peroxidase com anticorpo monoclonal anti AE1/AE3 (DAKO, na diluição 1:250). Os controles negativos foram obtidos omitindo-se o anticorpo primário na reação.

Foram avaliadas as características clínicas e anátomo-patológicas do tumor primário e L.S. Avaliamos também as características técnicas e anátomo-patológicas onde não houve identificação do L.S. A localização do tumor foi dividida em quadrante central, quadrante medial (QSI e QII) e quadrante lateral (QSE e IIE).

A metodologia estatística para comparação das proporções e estudo da associação das variáveis foi o teste do qui-quadrado, sendo o nível de significância adotado de 5%.

Figura 3

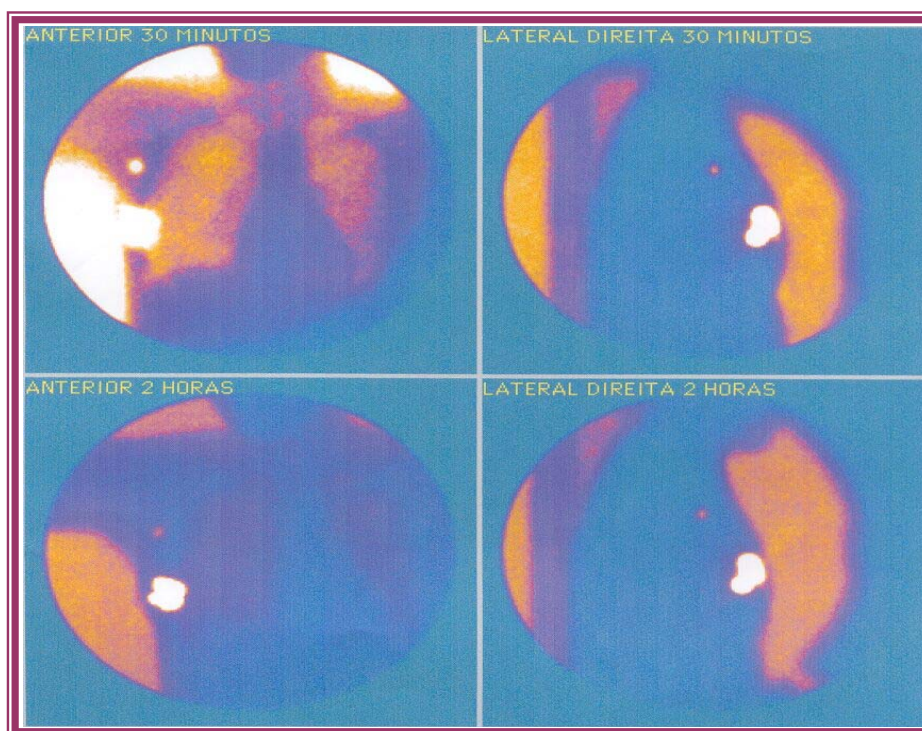
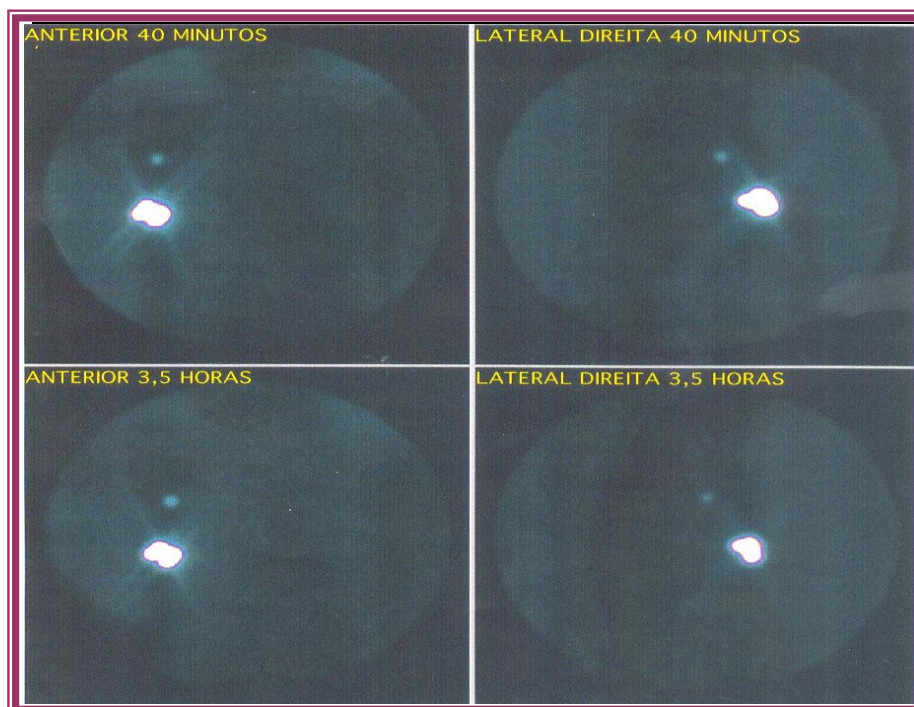


Figura 4



Visualização do Linfonodo Sentinela pela Linfocintilografia

Figura 5

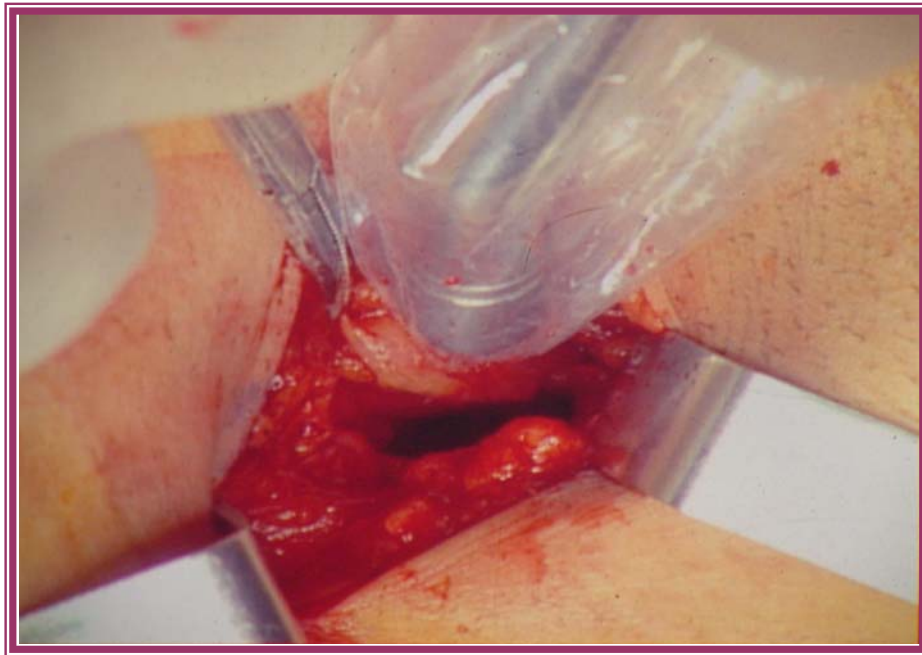


Figura 6



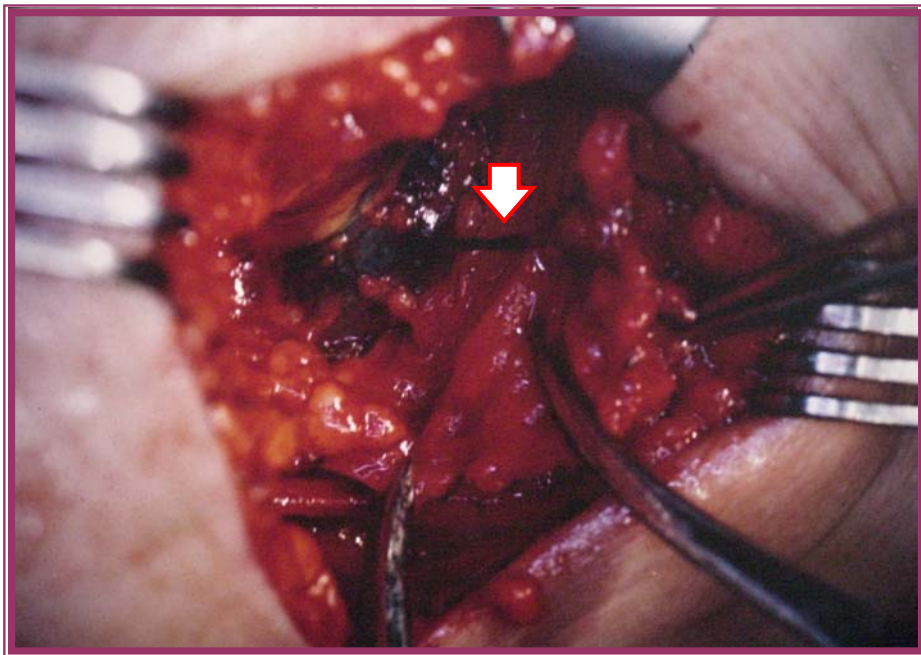
Gamma Probe – Captação da radioatividade

Figura 7



Linfonodo Sentinela corado com Azul-Patente

Figura 8



Linfonodo Sentinela com o respectivo ducto linfático

Resultados

No total, 111 casos foram incluídos na primeira e segunda fases.

Primeira fase:

O aprendizado foi feito com 47 pacientes. Destas, o L.S. foi identificado 34 vezes (72,3%) e não identificado em 13 vezes (27,7%) [Tabela 01]. Houve concordância entre L.S. com os outros gânglios axilares em 32 casos (94,1%), em duas situações o L.S. foi negativo, porém, a axila encontrava-se comprometida (5,9% de discordância) [Tabela 02]. Foram considerados falso negativos em duas pacientes:

1º) 64 anos: carcinoma ductal de 2,5cm de diâmetro, grau II de BR, L.S. sem infiltração neoplásica e metástase em 1 gânglio de nível I.

2º) 60 anos: carcinoma ductal com 1,5cm diâmetro, grau II BR, invasão angiolinfática, L.S. negativo e metástase em 2 gânglios de nível I.

Tabela 01: Identificação do Linfonodo Sentinela.

Nº Casos	Sim	Não
47	34	13
(100,0%)	(72,3%)	(27,7%)

Tabela 02: Correspondência Linfonodo Sentinela x Restante Axila.

Nº Casos	L.S x Axila	
	Sim	não
34	32	*2
	94,1%	5,9%

L.S. (-), porém, axila (+)

Características dos treze casos sem identificação do

L.S.:

Nove pacientes (69,2%) tinham 50 anos ou mais e quatro menos de cinquenta (30,8%), porém, não houve diferença estatisticamente significativa (tabela 03). A localização do tumor encontra-se descrita na tabela 4. O tamanho do tumor variou de 1 a 5 cm, 38,5% tinham 1 e 2cm, 23% entre 2 e 3cm e 38,5% de 3 a 5cm (tabela 5). Quanto ao estado da axila: em 8 pacientes (61,5%) a axila foi negativa e em 5 (38,5%) foi positiva, destas; 2 casos tinham apenas 1 gânglio comprometido, 2 tinham 2 a 5 gânglios comprometidos e um caso tinham mais de 5 gânglios comprometidos.

Destes 13 casos, em dois observamos migração para a cadeia mamária interna na visualização da linfocintilografia.

Tabela 3 – Distribuição de freqüências das 13 pacientes nas quais não foram identificados os linfonodos sentinela segundo faixa etária.

Faixa etária	
<50	>=50
4	9
30,8%	69,2%
p>0,05	

Tabela 4 – Distribuição de freqüências das 13 pacientes nas quais não foram identificados os linfonodos sentinela segundo localização do tumor e mama.

Mama Direita		
Q Lateral	Q Medial	Q Central
3	4	1
Mama Esquerda		
Q Lateral	Q Medial	Q Central
2	2	1

Tabela 5 – Distribuição de freqüências das 13 pacientes nas quais não foram identificados os linfonodos sentinela segundo tamanho do tumor.

Tamanho		
1-2cm	2-3cm	3-5cm
5	3	5
38,5%	23,0%	38,5%

Segunda fase:

Nesta fase, 64 pacientes foram estudadas, e as idades variaram de 30 a 80 anos, com predomínio acima dos 60 anos ($p=0,001$), [tabela 6]. Predominaram as cirurgias conservadoras em 75% contra 25% de mastectomias ($p=0,001$). O L.S. foi identificado em 52 pacientes (81,2%) e não identificado em 12 (18,8%) [Tabela 07].

Tabela 6 – Distribuição de freqüências das 64 pacientes segundo faixa etária.

Faixa etária			
30-40	40-50	50-60	60-80
5	17	14	28
7,8%	26,6%	21,9%	43,7%

$P=0,001$

Houve predominância das pacientes acima de 60 anos.

A idade média e desvio-padrão foi de $55,2 \pm 10,2$ anos

Tabela 07 – Identificação do L.S.

Nº Casos	Sim	Não
64	52	12
100%	81,2%	18,8%

Avaliação dos casos nos quais o L.S. foi identificado:

O subtipo histológico do tumor foi carcinoma ductal em 47 (90,38%), dos cinco restantes, um foi lesão proliferativa intraductal (“carcinoma” in situ), um carcinoma lobular, um carcinoma mucinoso, um carcinoma medular e um carcinoma tubular. (microfotografias 1, 2, 3).

Na congelação, 42 L.S. foram negativos (84%), incluindo os cinco sub-tipos histológicos especiais, sete (14%) positivos e um (2%) indeterminado (tabela 8). A linfadenectomia axilar foi realizada em 31,2% das pacientes (12 não identificados, 7 positivos na congelação e um indeterminado).

Tabela 8 - Distribuição de freqüências das 50 pacientes segundo resultado da congelação.

Nº Casos	Resultado		
	L. S. (-)	L.S (+)	L.S. (?)
*50	42	7**	1**
100%	84%	14%	2%

*2 casos = parafina (cirurgia ambulatorial)

** Linfadenectomia

A concordância entre resultado da congelação com a parafina foi de 98% (49 casos) e em 2% (um caso) não houve concordância. Esta paciente foi submetida à linfadenectomia axilar um mês depois da primeira cirurgia e havia mais um gânglio comprometido em 19 retirados.

O tamanho do tumor primário variou de um à três centímetros, 48,1% tinham entre um e dois centímetros, sem diferença estatisticamente significativa (Tabela 9).

Dos 42 L.S. negativos, em 22 o tamanho do tumor tinha entre um e dois centímetros (50%), em 12 o tumor tinha menos que um centímetro e em 8 o tumor tinha entre dois e três centímetros, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$)[Tabela 10].

Tabela 9 - Distribuição de freqüências das 52 pacientes segundo tamanho do tumor.

Nº Casos	Tamanho		
	Até 1cm	1-2 cm	2-3 cm
52	12	25	15
100%	23,1%	48,1	28,8%
P=0,07			

Tabela 10 - Distribuição de freqüências das 52 pacientes segundo condição L.S. e tamanho do tumor.

	Tamanho		
	Até 1cm	1-2cm	2-3cm
L. S. (?)		1 100%	
L. S. (+)		4 57,1%	3 42,9%
L. S. (-)	13 30,9%	21 50,0%	8 19,0%

P<0,05

Para as que tiveram LS (-) 50% tiveram tamanho do tumor entre 1 e 2 cm.

Dos sete casos de L.S. positivo, em quatro o restante da axila estava livre, em dois havia um gânglio comprometido e no caso restante mais de 5 gânglios comprometidos. Ainda em relação aos L.S. positivos: o tumor primário foi maior que 2cm em 6 casos, o grau nuclear foi II em 6 casos e houve invasão angiolinfática em 6 casos.

Para o estudo imunohistoquímico conseguimos recuperar 38 dos 42 casos de L.S. negativos. Não encontramos micrometástases em nenhum deles, em 2 casos (5,2%) foram encontradas células tumorais isoladas, vistas à imunohistoquímica

em um deles e também pela H.E. no outro caso. Um destes casos foi o da lesão proliferativa intraductal. (microfotografias 4 e 5).

Características dos 12 casos sem identificação do L.S.:

Destas pacientes, 9 tinham mais de 50 anos (75%) e 3 (25%) menos de 50, porém, não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) [Tabela 11]. A localização do tumor encontra-se descrita na tabela 12, a injeção foi peritumoral em 8 (66,7%) e subareolar em 4 (33,3%). A axila foi negativa nos 12 casos (100%).

Durante o período de estudo houve apenas um caso (1,92%) de recidiva tumoral e axilar concomitantes aproximadamente dois anos após o diagnóstico inicial.

Tabela 11-Distribuição de freqüências das 12 pacientes com L.S. sem sucesso segundo faixa etária.

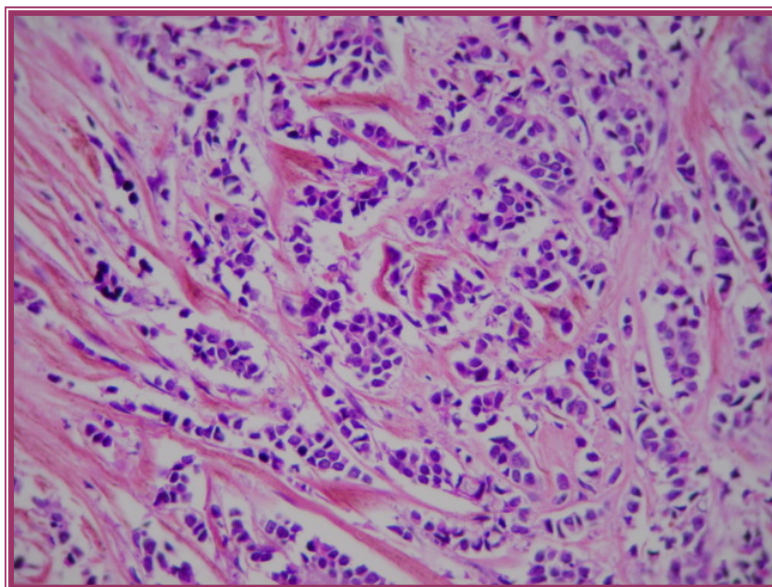
Faixa Etária	
<50	≥ 50
3	9
$p > 0,05$	

Tabela 12 – Distribuição de freqüências das 12 pacientes nas quais não foram identificados os linfonodos sentinela segundo localização do tumor e mama.

Mama Direita		
Q Lateral	Q Medial	Q Central
5	1	
Mama Esquerda		
Q Lateral	Q Medial	Q Central
4	2	

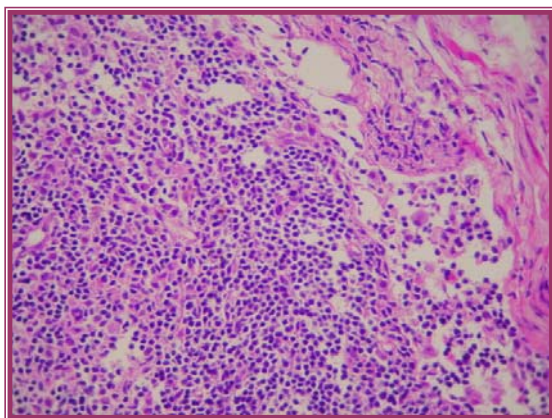
Carcinoma Lobular - Microfotografia 1

Microfoto 1.1



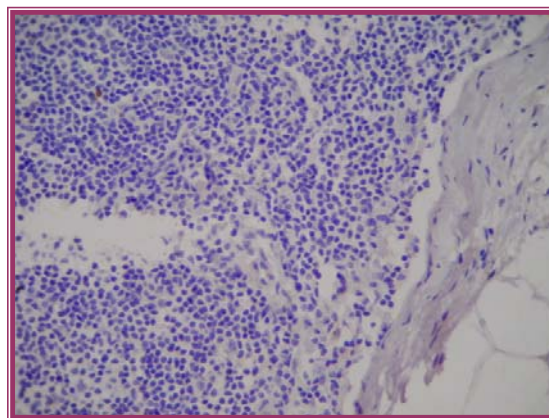
Tumor Primário (HE) 200x

Microfoto 1.2



Linfonodo Sentinela (HE) 200x

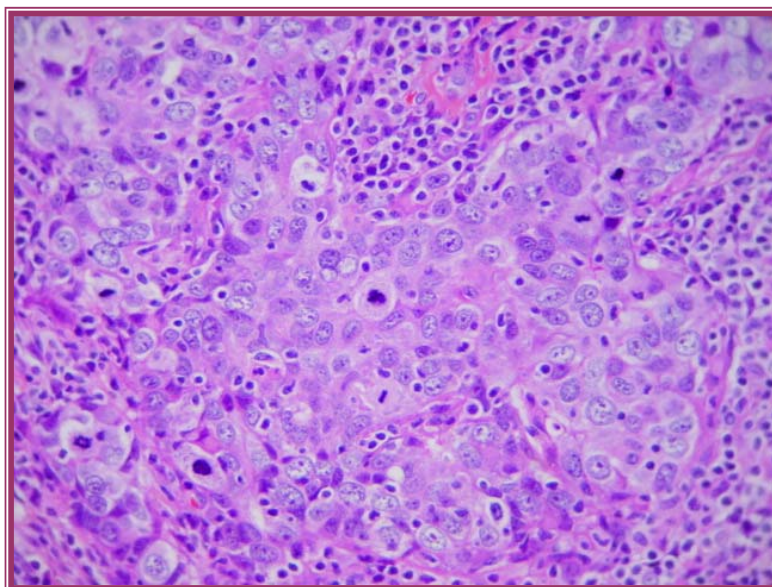
Microfoto 1.3



Linfonodo Sentinela (ABC-AE1/AE3) 200x

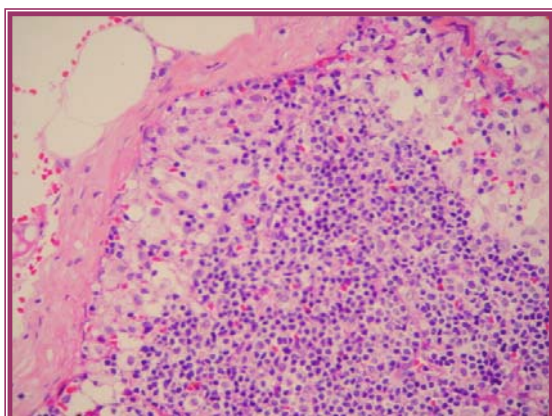
Carcinoma Medular - Microfoto 2

Microfoto 2.1



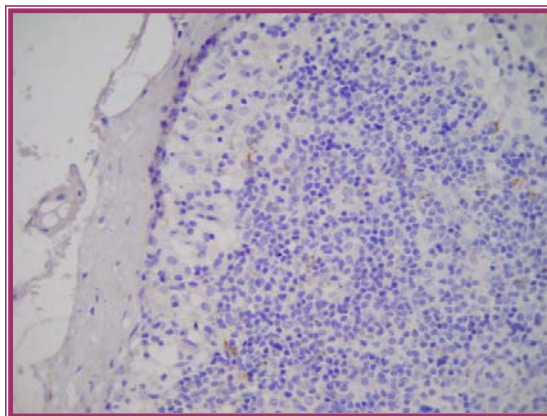
Tumor Primário (HE) 400x

Microfoto 2.2



Linfonodo Sentinela (HE) 200x

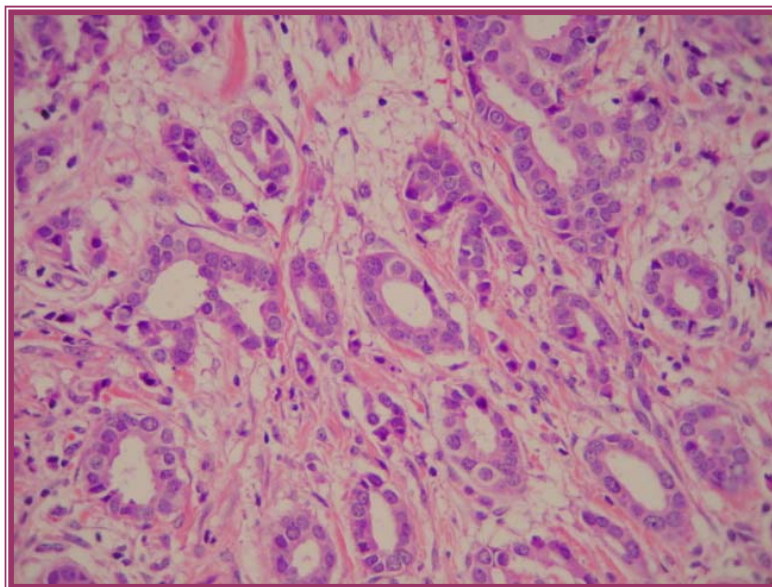
Microfoto 2.3



Linfonodo Sentinela (ABC-AE1/AE3) 200x

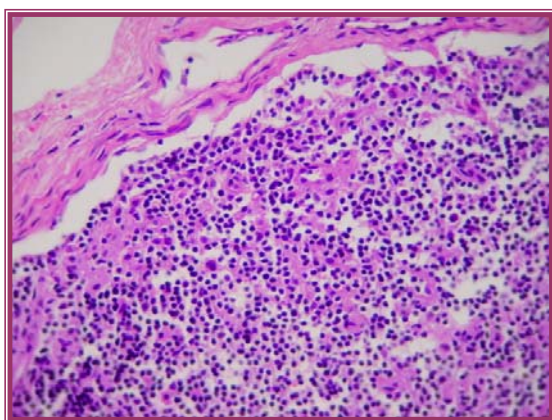
Carcinoma Tubular - Microfoto 3

Microfoto 3.1



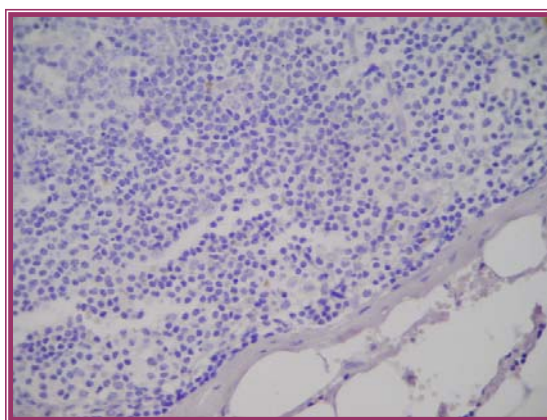
Tumor Primário (HE)400x

Microfoto 3.2



Linfonodo Sentinela (HE)200x

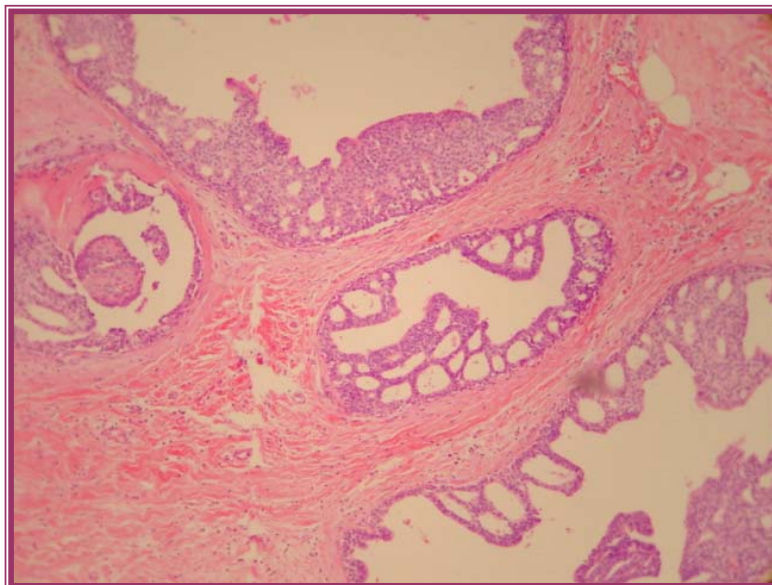
Microfoto 3.3



Linfonodo Sentinela (ABC-AE1/AE3)200x

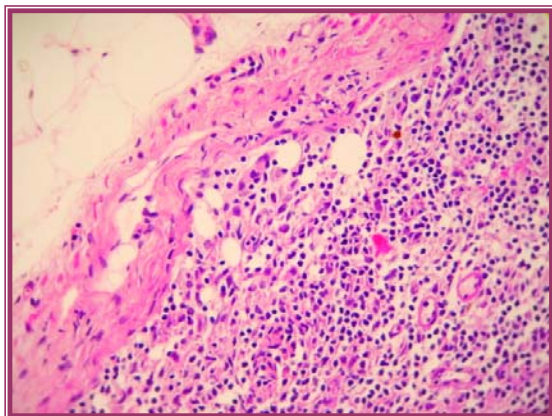
LEPIS – Microfoto 4

Microfoto 4.1



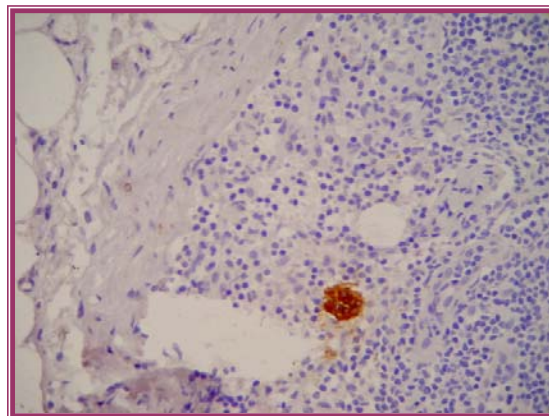
Tumor Primário (HE) 200x

Microfoto 4.2



Linfonodo Sentinela (HE)200x

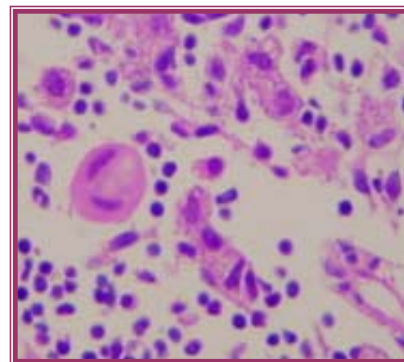
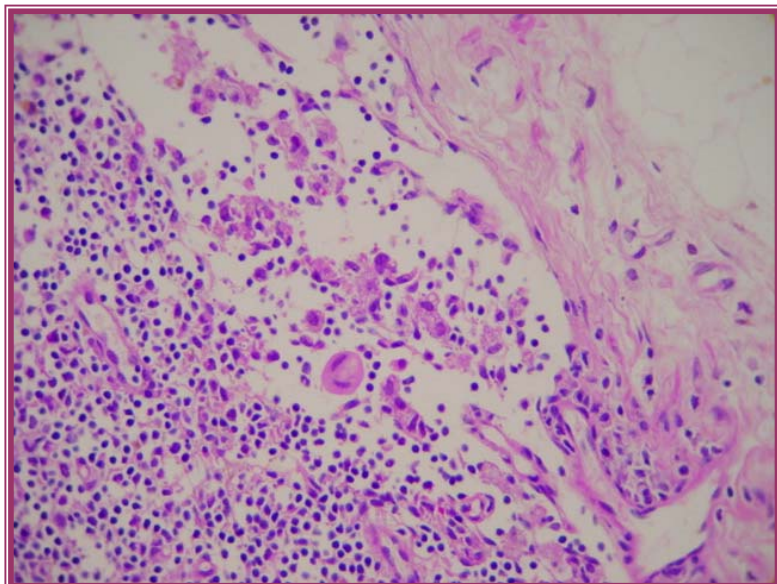
Microfoto 4.3



Linfonodo Sentinela (ABC-AE1/AE3) 200x

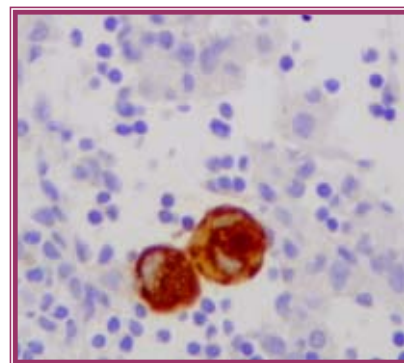
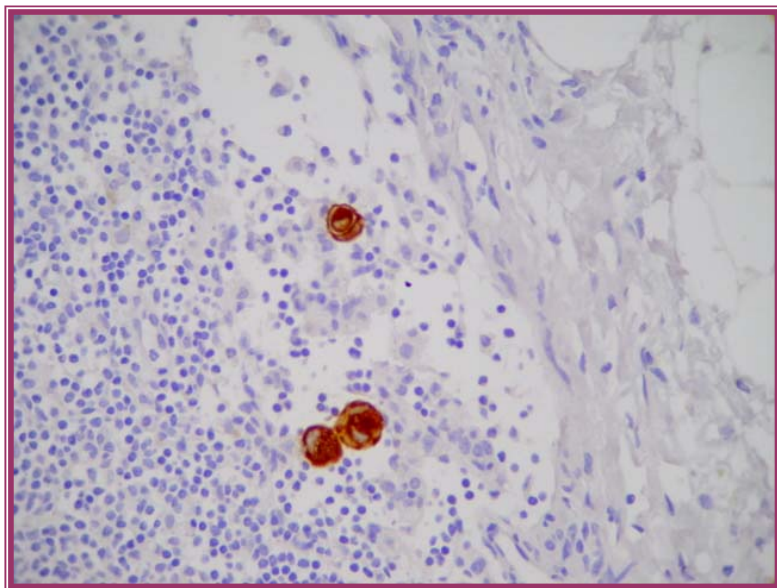
Carcinoma Ductal - Microfoto 5

Microfoto 5.1



Linfonodo Sentinela (HE)400x

Microfoto 5.2



Linfonodo Sentinela (ABC – AE1/AE3) 400x

Discussão

A biopsia do linfonodo sentinela (B.L.S.) foi grande inovação no tratamento cirúrgico do Câncer de Mama, ombreando-se em importância com o advento da cirurgia conservadora. Os últimos estudos clínicos randomizados comparando a linfadenectomia axilar (L.A.) convencional com a B.L.S., indicam tratar-se de procedimento seguro e eficaz para reduzir o índice de L.A. desnecessárias.^(45,116)

Vários aspectos concernentes aos procedimentos que envolvem o L.S. foram esclarecidos, outros ainda estão em estudo. Acreditamos que a L.A. não se justifica na abordagem cirúrgica do câncer de mama quando o L.S. revela-se livre de comprometimento metastático.

No entanto, é fundamental período de treinamento no manejo do L.S. (execução da curva de aprendizado). Giuliano⁽³⁷⁾, um dos pioneiros destes estudos, recomenda no mínimo a realização de 30 casos para justificar a subtração da linfadenectomia, em função da negatividade do L.S. A Sociedade Americana de Cirurgiões de Mama⁽¹⁰⁹⁾ aconselha a execução de 20 casos.

Estudo realizado nos Estados Unidos envolvendo mil cirurgiões, mostra que 38% deles abandonaram a L.A. após o aprendizado com 10 casos⁽⁶⁵⁾. Nosso período de aprendizado ficou acima do recomendado pela literatura, abrangendo 47 casos. Concordamos com Giuliano, que pelo menos 30 tentativas de identificação são necessárias para adoção da B.L.S. como rotina.

Dois parâmetros precisam ser levados em conta na adequada avaliação da B.L.S.: A taxa de identificações e a de falsos-negativos.

A taxa de identificação é definida como a proporção de pacientes nas quais o L.S. foi localizado, identificado e removido⁽⁵⁰⁾. Variável entre 41% e 98%, em várias publicações,^(17,19,33,34,38,53,89,96,115) depende da técnica empregada: (azul patente, radiofármaco ou associação de ambos). Nossa taxa foi de 72.3% na primeira e de 81.2% na segunda. Giuliano e

colaboradores tiveram taxa de identificação igual a 65.5% na primeira⁽³⁸⁾ e de 93.4% na segunda publicação⁽³⁷⁾. Portanto, a incidência de identificação aumenta em consonância com a experiência do cirurgião.

Fatores que podem ter influência na taxa de identificação do L.S.:

Idade e massa corpórea. A idade interfere devido à alteração na drenagem linfática de pacientes idosas, causando atrofia, diminuindo o turgor tecidual e liposubstituição dos linfonodos^(4,11,106). Por esta mesma razão, a obesidade prejudicaria a identificação.^(16,25,49)

Sítio de injeção do corante e do radiofármaco. A injeção subdérmica, e subareolar de azul patente ou do radiofármaco aumenta o índice de identificação.^(3,5,10,25,52,84,127) Esta constatação se explica pela drenagem linfática através do plexo de Sappey, onde o fluxo linfático apresenta sentido único independente da localização do tumor.⁽³⁾ A injeção subareolar, pela mesma razão, é a mais indicada para tumores não palpáveis, multicêntricos e quando foram previamente extirpados.⁽⁷⁰⁾ Esta via apresenta menor taxa de identificação do linfonodo da mamária interna em relação à injeção peri-tumoral.^(5,127)

Quando o tumor se localiza muito próximo à axila, os dois métodos podem ser prejudicados. Ao se usar o corante este pode manchar o campo cirúrgico e dificultar o encontro do linfático.

Ao se usar material radioativo, a proximidade do tumor com o L.S. também dificulta seu encontro tanto com o probe como pela infocintilografia. Esta poderia ter sido a causa de não encontrarmos os L.S. em 14 casos, cinco na primeira e nove na segunda fase.

Embora reconheçamos que esta casuística é pequena, a idade superior a 50 anos, nas duas fases, e a injeção peritumoral, na segunda fase, podem ter sido os fatores que mais prejudicaram a identificação do L.S., embora, não tenhamos encontrado significado estatístico. Em nossa opinião, o ponto da injeção e a experiência do cirurgião são os principais fatores de influência na taxa de identificação do L.S.

Consideração importante a ser feita, em relação a este estudo, é que em 100% dos casos nos quais não conseguimos identificar o L.S. na segunda fase, a axila não estava comprometida por células neoplásicas, levando-nos a conjecturar que não sendo possível identificar o L.S., ou se o cirurgião não tiver acesso às técnicas para sua biopsia, poderia ser realizada amostragem da

axila, com a retirada de cinco ou seis nódulos no nível I, sem danos para a paciente.

Quando o L.S. é negativo mas existem um ou mais linfonodos comprometidos na axila - o que aconteceu em dois de nossos casos na primeira fase - poderia haver seu maciço comprometimento, bloqueando a passagem das substâncias identificadoras, e desviando-as para outro linfonodo que seria um falso linfonodo sentinela.^(69,70,77)

Possível ocorrer, também, falha de identificação da metástase no exame intra-operatório.⁽⁸⁰⁾ A taxa aceitável de falsos-negativos varia entre 2% e 5% segundo a literatura^(13,15,36,48,72,115) e nossas próprias observações (2% de falsos-negativos na segunda fase). Na prática, esta segunda situação parece mais importante. O resultado falso-negativo exige na maioria das vezes, segunda intervenção cirúrgica, causa de aborrecimento para a paciente e para o cirurgião. Por tal razão, é fundamental esclarecer a paciente sobre as limitações da BLS, sempre que este procedimento for escolhido.

Exame intra-operatório - O exame intra-operatório do L.S. é indispensável. Conforme referência anterior, falsos-negativos, decorrentes deste exame ocasiona desconforto emocional do

segundo procedimento cirúrgico. Os métodos de diagnóstico, congelação ou imprinte citológico, são usados conforme a orientação de diversas instituições.

O exame dos cortes congelados foi o que mais utilizamos. Esta técnica apresenta algumas desvantagens em relação ao imprinte: é mais caro, demorado e pode haver prejuízo na qualidade do material. O imprinte é mais barato, rápido e a chance de se perder material é menor. Tem a desvantagem de oferecer menor quantidade de material para exame e maior risco de resultados indeterminados.⁽⁸⁰⁾

- Há dificuldade para os métodos intra-operatórios em detectar micrometástases.⁽⁷³⁾ Só 11% a 25% são detectados pelo imprinte^(22,61,64) enquanto, entre 23% a 82% são detectados pelos cortes congelados (77,86). Ambos os métodos apresentam vantagens e desvantagens. Dependendo da experiência do patologista, a sensibilidade e especificidade são praticamente as mesmas.⁽²¹⁾ Concordamos com Cserni⁽²¹⁾ que a escolha do exame intra-operatório deve contar com recursos e preferências de cada instituição, isto é, o melhor método é aquele com o qual o patologista está habituado e tem maior experiência.

No Brasil, uma das razões pelas quais a B.L.S. não é muito realizada é a dificuldade de realização do exame intra-

operatório.⁽¹¹¹⁾ Uma alternativa de solução é a realização da B.L.S. com anestesia local, permitindo que o linfonodo seja examinado minuciosamente em cortes parafinados. Luini e colaboradores,⁽⁶⁷⁾ realizaram este procedimento em 243 pacientes, concluindo que houve impacto positivo sobre a qualidade de vida em 81% das pacientes. Há possibilidade, inclusive, de planejar o tratamento adjuvante pelo conhecimento prévio da condição dos linfonodos axilares antes da cirurgia. Nossa experiência, recém-iniciada com dois casos de BLS com anestesia local mostraram linfonodos negativos em cortes parafinados e na avaliação histoquímica. Achamos que esta metodologia merece divulgação e incentivo.

Imunohistoquímica, micrometástases e células isoladas do tumor no linfonodo sentinela - Trata-se de tópico de difícil abordagem porque as opiniões são divergentes e os resultados do diagnóstico e do tratamento, incertos.

A metodologia imunohistoquímica não é recomendada de rotina.^(32,68) Porém, é utilizada em vários serviços e foi incluída na sexta edição da classificação TNM,⁽¹⁰⁰⁾ na qual as micrometástases são categorizadas como pN1mi e as células isoladas do tumor como N0(i+).

A busca de metástases pela imunohistoquímica aumenta o índice de diagnóstico entre 9% e 14%, aumento que ocorre, também, seccionando maior número de blocos corados pela H.E.^(103,118) Recomenda-se esta técnica em portadoras de carcinoma lobular, nos quais se encontra maior taxa de falsos-negativos. A aparência citológica das células lobulares e sua semelhança com linfócitos e macrófagos diminuem a chance de detecção de células metastáticas pelos demais processos.^(18,20,123) O L.S. encontrado no único caso de carcinoma lobular foi submetido ao estudo imunohistoquímico que não detectou qualquer comprometimento neoplásico.

A questão vai além do melhor meio para detecção de micrometástases, havendo controvérsias em relação ao seu significado clínico e sobre a conduta correta nesta situação.

Enquanto alguns estudos não comprovaram menor sobrevida de pacientes portadoras de micrometástases,^(2,31,51) outras séries têm mostrado diferenças significativas no intervalo livre de doença e sobrevida geral, em comparação com pacientes nas quais o L.S. estava livre de comprometimento metastático.^(87,88)

Segundo Liang, o encontro de micrometástases em um único local no L.S. não é certeza de comprometimento e não indica linfadenectomia axilar.⁽⁶²⁾ Viale por sua vez, recomenda a L.A. não

só quando há micrometástases, mas também quando só existem células isoladas do tumor, pois, em tais casos, encontrou 15% de metástases em linfonodos não-sentinelas.^(119,120)

Algumas características do tumor primário são fatores importantes na previsão de metástases em linfonodos não-sentinelas. Entre elas destacam-se o volume superior a 2cm, grau nuclear 2 e 3 e invasão angiolinfática.^(24,40,82,119)

Nesta investigação estes fatores estavam presentes quando o LS era positivo. Em nossa opinião, a linfadenectomia é indicada quando o tumor apresentar as características citadas. O exame imunohistoquímico nada acrescentou ao exame com H.E., mas é aconselhável nos carcinomas lobulares.

Recidivas axilares - Veronesi e colaboradores⁽¹¹⁶⁾ e Zavagno⁽¹²⁵⁾ não encontraram recidivas axilares em seguimento de 46 e 35.8 meses, respectivamente. A incidência relatada por Sanjuan⁽⁹²⁾ foi de 0.4% em intervalo de 21.2 meses, e a de Snog⁽¹⁰²⁾ foi de 2% em 32 meses, e de Langer⁽⁶⁰⁾ de 0.7% quando o LS foi negativo e de 0.0% quando havia micrometástases, em seguimento de 42 meses, motivo pelo qual são contrários ao esvaziamento axilar nesta última situação. Kanter e colaboradores⁽²³⁾ observaram recidivas axilares em 2.7% em seguimento de 60 meses.

Nossa incidência de recidivas locais, em seguimento de 38 meses, foi de 1.92%, dentro da média da literatura nos respectivos intervalos de observação pós-operatória.

A baixa taxa de recidivas loco-regionais é importante indicador de segurança da B.L.S., devendo ser procedimento rotineiro e de fácil acesso para todos que cuidam de câncer de mama.

Outras Considerações Sobre A B.L.S.:

Cirurgia prévia - Costuma ser contra-indicada devido à possível alteração anatômica dos linfáticos da mama. O fluxo da linfa em sentido único no plexo sub-areolar tem favorecido a injeção intradérmica nesta região.⁽⁷⁰⁾ Outra opção é a injeção sub-dérmica em torno da cicatriz cirúrgica do tumor antes retirado. Luini e colaboradores, em série de 543 pacientes conseguiram 99.0% de identificações do L.S. através desta última técnica. Acreditam que a paciente poderá, assim, ser poupada de esvaziamento axilar desnecessário.⁽⁶⁶⁾ Concordamos com estes autores e estamos começando a realizar B.L.S. com injeção sub-areolar e casos previamente operados.

Tumores multicêntricos e multifocais - Nestas condições a B.L.S. é contra-indicada porque pode existir mais de

um trajeto linfático drenando do tumor para os linfonodos axilares. Surgiriam vários linfonodos sentinelas, enquanto outros não seriam mapeados.⁽¹⁰⁸⁾ Talvez a injeção sub-dérmica, sub-areolar, tornem possível a identificação do L.S. nestes tumores.

Estudos não randomizados indicam resultados semelhantes com a utilização desta técnica, quando comparados com mulheres que apresentam tumor único.^(58,98,108) Aguardemos outros estudos com casuísticas maiores para justificar a B.L.S. nestas circunstâncias.

Quimioterapia neo-adjuvante - A B.L.S. depois da quimioterapia neo-adjuvante não é indicada. Todos os autores recomendam a L.A. em suas cirurgias, pois as taxas de identificação e de falsos-negativos são menores do que o esperado.^(76,85,99,104) Entretanto, a B.L.S. antes da quimioterapia neo-adjuvante coincide com 100% de identificação e falsos-negativos em 0%.^(90,93,112) Nestes casos, as pacientes poderiam ser poupadas do esvaziamento quando o exame clínico não revela linfonodos palpáveis na axila.

Lesões proliferativas intraductais - O estadiamento da axila é dispensável em pacientes com lesões proliferativas intraductais (LEPIS). Alguns estudos têm demonstrado metástases no L.S. quando há invasão mínima ou em lesões de alto grau

histológico, a passo que este risco é nulo nas LEPIs “verdadeiras”.⁽⁸⁰⁾ O minucioso exame histopatológico é mandatório para excluir micro-invasão.⁽⁵⁹⁾ Quando necessária a mastectomia, ou em LEPIs extensas de alto grau, pode realizar-se a B.L.S., admitindo-se invasão não detectada na biopsia prévia.^(68,126)

Encontramos células isoladas do tumor no único caso de LEPI no qual fizemos a B.L.S. A paciente, operada há quatro anos apresenta-se livre de doença. Possivelmente, as células neoplásicas depositaram-se no L.S. devido à invasão mínima não detectada, que deveria existir no tumor primário.

Há indícios da presença de células epiteliais isoladas devido ao “transporte mecânico benigno”. Neste processo as células são deslocadas pela biopsia do tumor primário ou pela massagem realizada após a injeção do corante ou do radioisótopo.^(26,27)

Poucos estudos sobre o câncer de mama têm sido publicados quanto ao que se referem à B.L.S. As publicações são tão numerosas que dificultam a compilação de dados e a organização de idéias sobre as questões mais pertinentes. Estamos certos, acompanhando a literatura, que a B.L.S. é procedimento seguro, devendo ser adotado na rotina cirúrgica.

É preciso aperfeiçoar para atingir 100% de identificações do L.S. Cabe aos patologistas vencer o desafio do exame detalhado do linfonodo sentinela que deverá substituir a biopsia de todos os linfonodos axilares extirpados.

As instituições e especialistas inclinados a abandonar a linfadenectomia axilar, adotando a B.L.S. como rotina precisam manter estreito entrosamento multidisciplinar, envolvendo patologistas, médicos especializados em medicina nuclear, oncologistas clínicos, radiologistas e radioterapeutas.

A meta comum a ser atingida é diminuir a incidência de morbidez e de mortalidade, assegurando ao mesmo tempo, adequada qualidade de vida às portadoras de câncer de mama.

Conclusões

A identificação do L.S. se associa à maior experiência dos investigadores.

O estudo imunohistoquímico não acrescentou maior taxa de identificação das micrometástases comparada ao uso de H.E.

O alto índice de concordância do L.S. com os demais linfonodos indica sua capacidade em prever a presença ou ausência de metástases axilares.

A taxa de recidivas axilares coincidiram com os relatos da literatura e os resultados obtidos sugerem que a B.L.S. é método defensável para evitar a linfadenectomia axilar desnecessária.

Referências Bibliográficas

1. Araújo HR, Bregieiro JO, Costa F, Ferreira HL, et al. Linfonodo sentinela: novos rumos no tratamento do câncer de mama. RBM. 2004; 14 (2): 61-6.
2. Atliyeh FF, Jensen M, Huvos AG, et al. Axillary micrometastases and macrometastases in carcinoma of the breast. Surg. Gynecol. Obstet. 1977; 144: 839-42.

3. Beitsch DP, Clifford E, Whitworth P, Alberto A. Improved lymphatic mapping technique for breast cancer. *The Breast Journal*. 2001; 7(4): 219-23.
4. Birdwell RL, Smith KL, Betts BJ, Ikeda DM, Strauss HW, Jeffrey SS. Breast cancer: variables affecting sentinel lymph node visualization at preoperative lymphoscintigraphy. *Radiology*. 2001; 220: 45-53.
5. Borgstein PJ, Maijer S, Pijpers RJ, Van Diest PJ. Functional lymphatic anatomy for sentinel node biopsy in breast cancer: echoes from the past and the periareolar blue method. *Ann. Surg.* 2000; 232: 81-9.
6. Cabanas RM. An Approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer*. 1977; 39:456-66.
7. Canavese G, Cattririch A, Vecchio C, et al. Prognostic role of lymph node level involvement in patients undergoing axillary dissection for breast cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.* 1998; 24: 104-9.

8. Canavese G, Gipponi M, Catturich A, Di Somma C, Vecchio C, Rosato F, et al. Sentinel lymph node mapping opens a new perspective in the surgical management of early-stage breast cancer: a combined approach with vital blue lymphatic mapping and radioguided surgery. *Semin. Surg. Oncol.* 1998; 15: 272-7.
9. Casley SJ, Boris M, Weindorf S, et al. Treatment for lymphedema of the arm. The Casley Smith method. *Cancer.* 1998; 12: 2843-60.
10. Chagpar BA, Martin CR, Scoggins RC, Carlson JD, Laidley AL, El-Eid ES, et al. Factors predicting failure to identify a sentinel lymph node in breast cancer. *Surgery.* 2005; 138(1): 56-63.
11. Chakera AH, Früs E, Al-Suliman N, Zerahn B, Hesse B. Factors of importance for scintigraphic non-visualization of sentinel nodes in breast cancer. *Euro. Journal of Med. Mol. Imaging.* 2005; 32(3): 286-93.
12. Chao C, Wong SL, Ackerman D, Simpson D, Carter MB, Brown CM, et al. Utility of intraoperative frozen section analysis of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Am. J. surg.* 2001; 182: 609-15.

13. Cody HS, Fey J, Akqurst T, Fazzari M, Mazumdar M, Yeung H, et al. Complementary of blue dye and isotope in sentinel node localization for breast cancer: univariate and multivariate analysis of 966 procedures. *Ann. Surg. Oncol.* 2001; 8: 13-19.
14. Cody HS, Hill AD, Tran KN, Brennan MF, Borgen PJ. Credentialing for breast lymphatic mapping: How many cases are ha isotope in sentinel node localization for breast cancer: univariate and hough? *Ann. Surg.* 1999; 229: 723-8.
15. Cox CE, Boss SS, Mc Cann CR, Ku NN, Berman C, Durant K, et al. Lymphatic mapping and sentinel biopsy in patients with breast. *Annu. Rev. Med.* 2000; 51: 525-42.
16. Cox CE, Dupont E, Whitehead TF, Ebert MD, Nguyen K, Peltz ES. Age and body mass index may increase the chance of failure in sentinel lymph node biopsy for women with breast cancer. *Breast Journal.* 2002; 8: 88-91.
17. Cox CE, Pendas S, Cox JM, Joseph E, Shons AR, Yeatman T, et al. Guidelines for sentinel node biopsy and lymphatic mapping of patients with breast cancer. *Ann. Surg.* 1998; 226: 645.

18. Creager JA, Geisinger RK, Perrier DN, Shen P, Shaw AJ, Young RP. Intraoperative imprint cytologic evaluation of sentinel lymph nodes for lobular carcinoma of the breast. *Annals of Surgery*. 2004; 239(1): 61-6.
19. Crossin JA, Johnson AC, Stewart PB, Turner WW. Gamma – probe – guided resection of the sentinel lymph node in breast cancer. *Am. Surg*. 1998; 64: 666.
20. Cserni G, Bianchi S, Vezzoni V, Peterse H, Sapino A, Arisio R, et al. The value of cytokeratin immunohistochemistry in the evaluation of axillary sentinel nodes in patients with lobular breast carcinoma. *J. Clin. Pathol*. 2006.
21. Cserni T. Evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Histopathology*. 2005; 46: 697-706.
22. Cserni T. The potential value of intraoperative imprint cytology of axillary sentinel lymph nodes in breast cancer patients. *Ann. Surg*. 2001; 67: 86-91.
23. de Kanter YA, Pluymers MM, Wouters MYWM, Burgmans I. 5-year follow-up of sentinel node negative breast cancer patients. *EJSO*. 2006; XX: 1-5.

24. Degnim CA, Griffith AK, Sabel SM, Hayes FD, Cimmino MV, Diehl MK. Clinicopathologic features of metastasis in nonsentinel lymph nodes of breast carcinoma patients. *Cancer*. 2003; 98(11): 2307-15.
25. Derossis AM, Fey JV, Cody HS, Borgen PI. Obesity influences outcome of sentinel lymph node biopsy in early – stage breast cancer. *J. Am. Coll. Surg*. 2003; 197: 896-901.
26. Diaz MN, Cox ET, Erbert M, Elark DJ, Urcel V, Stowell N, et al. Benign mechanical transport of breast epithelial cells to sentinel lymph nodes. *Am. J. Surg. Pathol*. 2004; 28(12).
27. Diaz MN, Urcel V, Centeno AB, Muro-Caho C. Modes of benign mechanical transport of breast epithelial cell to axillary lymph nodes. *Adv. Anat. Pathol*. 2005; 12(1).
28. Erikson VS, et al. Arm edema in breast cancer patients. *J. Natl. Cancer Inst*. 2001; 93: 96-111.
29. Fisher B, Bauer M, Margolese R, et al. Five-year results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and segmental mastectomy with or without radiation in the treatment of breast cancer. *N. Engl. J. Med*. 1985; 312: 665-73.

30. Fisher B, Montague E, Redmond C, et al. Findings from NSABP protocol n°B-04. Comparison of radical mastectomy with alternative treatments for primary breast cancer. *Cancer*. 1980; 46: 1-13.
31. Fisher ER, Palekar A, Rockette H, et al. Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast and bowel project (protocol I 4). V. significance of axillary node micro and macrometastases. *Cancer*. 1978; 42: 2032-8.
32. Fitz Gibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic factors in breast cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med*. 2000; 124(7): 966-78.
33. Flett MM, Going JJ, Stanton PD, Cooke TG. Sentinel node localization in patients with breast cancer. *Br. J. Surg*. 1998; 85: 991.
34. Fölscher DJ, Langman G, Panieri E, Theunissen D, Dent DM. Sentinel axillary lymph node: helpful in axillary management in patients with breast cancer. *Br. J. Surg*. 1997; 84: 1506.
35. Gipponi M, Bassetti C, Canavese G, Catturich A, Di Somma C, et al. Sentinel Lymph node as a new marker for therapeutic planning in breast cancer patients. *Journal of Surgical Oncology*. 2004; 85: 102-11.

36. Giuliano AE, Haigh PI, Brennan MB, et al. Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further axillary dissection in patients with sentinel node-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 2553-9.
37. Giuliano AE, Jones RC, Brennan MB, et al. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 1997; 15: 2345-2350.
38. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann. Surg.* 1994, 220: 391-401.
39. Giuliano AE. Mapping a pathway for axillary staging. A personal perspective on the current status of sentinel lymph node dissection for breast cancer. *Arch. Surg.* 1999; 134: 195-9.
40. Goyal A, Douglas-Lons A, Newcambe GR, Mansel ER. Predictors of non-sentinel lymph node metastasis in breast cancer patients. *Euro. J. of Cancer.* 2004; 40: 1731-73.
41. Gran RN, Tabah EJ, Adair FE. The surgical significance of the subareolar lymph plexus in cancer of the breast. *Surgery.* 1953; 33: 71-8.

42. Haagensen CD. General anatomy of the lymphatic system. Em; Haagensen CD, Feind CR, Herter FP, et al. The lymphatic cancers: Philadelphia. W. B. Sanders. 1972; p 17-21.
43. Hack TF, et al. Physical and psychological morbidity after axillary lymph node dissection for breast cancer. J. Clin. Oncol. 1999; 17: 143-9.
44. Hamy-Tillman RS, Kanairian S, Rubio JT, et al. Intraoperative touch preparation for sentinel lymph node biopsy: a 4-Year experience. Ann. Surg. ONcol. 2002; 9: 333-9.
45. Harlow SP, Krag DN, Julian TB, Ashikaga T, Weaver DL, et al. Prerandomization surgical training for the national surgical adjuvant breast and bowel project (NSABP) B-32 trial. A randomized phase III clinical trial to compare sentinel node resection to conventional axillary dissection in clinically node-negative breast cancer. Annals of Surgery. 2005; 241(1): 48-54.
46. Hauser W, Atking HL, Richards P. Lymph node scanning with 99mtc-sulfur colloid. Radiology. 1969; 92: 1369.
47. Hermanek P, Hutter RN, Sabin LH, et al. International union against cancer: classification of isolated tumor cells and micro metastases. Cancer. 1999; 86: 268-73.

48. Hill AD, Tran KN, Akqurst T, et al. Lessons learned from 500 cases of lymphatic mapping for breast cancer. *Am. Surg.* 1999; 229: 528-35.
49. Hughes M, Goffman TG, Peny RR, Larronja C. Obesity and lymphatic mapping with sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Am. J. Surg.* 2004; 187: 52-7.
50. Hutchinson RJ, Chagpar AB, Scoggins CR, Mardin II CGR, Carlson DJ, Laidley AL, et al. Surgeon and community factors affecting breast cancer lymph node biopsy. *The American Journal of Surgery.* 2005; 190: 903-6.
51. Huvos AT, Hutter R, Berg JW. Significance of axillary macrometastases and micrometastases in mammary cancer. *Ann. Surg.* 1971; 173: 44-6.
52. Kern KA. Sentinel lymph node mapping in breast cancer using subareolar injection of blue dye. *J. Am. Coll. Surg.* 1999; 189: 539-45.
53. Koller M, Barsuk D, Zippel D, Engeberg S, Ben-Ari G, Papa MZ. Sentinel lymph node involvement a predictor for axillary node status with breast cancer – has the time come? *Eur. J. Surg. ONcol.* 1998; 24: 16.

54. Komenaka JK, Bauer PV, Schnabel RF, Horowitz E, Joseph RA, Ditkoff BA, et al. Allergic reactions to isosul fan blue in sentinel lymph node mapping. *The breast journal*. 2005; 11(1): 70-2.
55. Krag DN, Weaven DL, Alex JC, et al. Surgical resection and radio localization of the sentinel node in breast cancer using a gamma probe. *Surg. Oncol*. 1993, 2:335-339.
56. Krag DN, Weaver DL, Asdi Kage T, et al. The sentinel node in breast cancer. A multicenter validation study. *N. Engl. J. Med*. 1998; 339: 941-946.
57. Kumar R, Bozkurt MF, Zquang H, Alcoi A. Sentinel lymph node biopsy in the management of breast câncer. *Indian Journal of Cancer*. 2003; 40(2): 60-6.
58. Kumor R, Potenta S, Alavi A. Sentinel lymph node biopsy in multifocal and multicentric breast câncer. *J. Am. Coll. Surg*. 2004; 194(4).
59. Lagios MD, Silverstein MJ. Sentinel node biopsy for patients with DCIS: a dangerous and unwananted direction. *Ann. Surg. Oncol*. 2001; 8: 275-7.

60. Lanjer I, Mati RN, Guller U, Moch H, Hader F, Oertli D, et al. Axillary recurrence rate in breast cancer patients with negative sentinel lymph node (SLN) or SLN micrometastasis. Prospective analysis of 150 patients after SLN biopsy. *Annals of Surgery*. 2005; 241: 1.
61. Lee A. Intraoperative touch imprint of sentinel lymph nodes in breast carcinoma patients. *Cancer Cytopathol*. 2002; 96: 225-31.
62. Liang TW, Sickel-Santanello JB, Nims AT. Is a completion axillary dissection indicated for micrometastasis in the sentinel lymph node? *The American Journal of Surgery*. 2001; 182: 365-8.
63. Linghan MK, Mackie RM, McKay AJ. Intraoperative identification of sentinel lymph node in patients with malignant melanoma. *Br. J. Cancer*. 1997; 75: 1505-8.
64. Llatjos M, Castella E, Fraule M, et al. Intraoperative assessment of sentinel lymph nodes in patients with breast carcinoma. Accuracy of rapid imprint cytology compared with definitive histologic workup. *Cancer Cytopathol*. 2002; 96: 150-6.

65. Lucci AJR, Keleman PR, Miller C, et al. (Baylor college of medicine, st. Louis Unio). National practice patterns of sentinel lymph node dissection for breast carcinoma. J. Am. Coll. Surg. 2001; 192: 453-8.
66. Luini A, Galimbert V, Gatti G, Arnone P, Vento AR, et al. The sentinel node biopsy after previous breast surgery: preliminary results on 543 patients treated at the European Institute of Oncology. Breast Cancer Research and Treatment. 2005; 89: 159-63.
67. Luini A, Gatti T, Zunida S, Galimberti V, Paganelli T, Naninato P, et al. The sentinel lymph node biopsy under local anesthesia in breast carcinoma: experience of the European Institute of Oncology and impact on quality of life. Breast Cancer Research and Treatment. 2005; 89: 69-74.
68. Lyman GH, Giuliano EA, Somerfield MR, Benson III Al B, Bodurka CD, Brenstein HJ, et al. American society of clinical oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. Journal of Clinical Oncology. 2005; 23(30);7: 703-20.

69. Martin GCR, Chagpa A, Scoggins RC, Edwards JM, Hagendoorn L, Stromberg JA, et al. Clinicopathologic factors associated with false-negative sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Annals of Surgery*. 2005; 241(1).
70. Mateos JJ, Vidal-Sicat S, Zanon T, Pahisa J, Fuster D, Martin F, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer patients: subdermal versus peritumoral radiocolloid injection. *Nucl. Med. Commun*. 2001; 22: 17-24.
71. McCarter MD, Yeung H, Fey J, et al. The breast cancer patient with multiple sentinel nodes. When to stop? *J. Am. Coll. Surg*. 2001; 192: 692-7.
72. Mc Masters KM, Tuttle TM, Carlson DI, et al. Sentinel lymph node biopsy for breast cancer: suitable alternative to routine axillary dissection in multi-institutional practice when optimal technique is used. *J. Clin. Oncol*. 2000; 18: 2560.
73. Menes ST, Tartter IP, Migrachi H, Smith RS, Estabrook A. Touch preparation or frozen section for intraoperative detection of sentinel lymph node metastases from breast cancer. *Ann. of Surgical Oncology*. 2003; 10(10): 1166-70.

74. Morton SL, Wen DR, Wong JH. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. Arch. Surg. 1992, 127: 392-9.
75. Motomura K, Inaji H, Komoike Y, et al. Intraoperative sentinel lymph node examination by imprint cytology and frozen sectioning during breast surgery. Br. J. Surg. 2000; 87: 597-601.
76. Nason RS, Anderson BO, Byrd DR, et al. Increased false negative sentinel node biopsy rates after preoperative chemotherapy for invasive breast carcinoma. Cancer. 2000; 89: 2187-94.
77. Nieweg EO, Estaer HS. What is a sentinel node and what is a false-negative sentinel node? Annals of Surgical Oncology. 2004; 11(3): 169-73.
78. Nissan A, Jager D, Roystacher M, Prus D, Peretz T, Eisenberg I, et al. Multimer RT-PCR assay for the detection of minimal residual disease in sentinel lymph nodes of breast cancer patients. British Journal of Cancer. 2006; 94: 681-5.
79. Noguchi M, Bando E, Tsugawa K, Miwa K, Yokoyama K, Nakagima K, et al. Staging efficacy of breast cancer with sentinel lymphadenectomy. Breast Cancer Res. Treat. 1999; 57: 221-9.

80. Noguchi M. Current controversies concerning sentinel lymph node biopsy. *Breast cancer research and treatment*. 2004; 84: 261-71.
81. Nogushi M, Tsugawa K, Miwa K, et al. Sentinel lymph node biopsy breast cancer using blue dye with or without isotope localization. *Breast cancer*. 2000; 7: 287-96.
82. Nos C, McKean HC, Fréneaux P, Trie A, Falcou CM, Sastre-Garau X. Prediction of tumor involvement in remaing axillary lymph nodes when the sentinel node in a woman with breast câncer contains metastases. *British Journal of Surgery*. 2003; 90: 1354-60.
83. Olivatto JA, Jackson JSH, Mates D, et al. Prediction of axillary lymph node involvement of women with invasive breast carcinoma. *Cancer*. 1998; 83: 948-55.
84. Pelosi E, Bello M, Grois M, Ala A, Giani R, et al. Sentinel lymph node detection in patients with early-stage breast câncer: Comparison of periareolar and subdermal / peritumoral injection techniques. *The Journal of nuclear medicine*. 2004; 45(2): 220-5.

85. Piato JR, Barros AC, Pincerato KM, et al. Sentinel node biopsy in breast cancer after neoadjuvante chemotherapy. A pilot study. Eur. J. Surg. Oncol. 2003; 29: 118-20.
86. Rahusen FD, Pijpers R, Van Diest PJ, Blei Chrodt RP, Tonenga H, Meijer S. The implementation of the sentinel node biopsy as a routine procedure for patients with breast cancer. Surgery. 128: 6-12.
87. Rompaul RS, Miremadi A, Pinder SE, Lee A, Ellis IO. Pathologic validation and significance of micrometastasis in sentinel nodes in primary breast câncer. Breast Cancer Res. 2001; 3: 113-6.
88. Rosen PP, Saigo PE, Braun DW, et al. Axillary micro and macrometastasis in breast cancer. Ann. Surg. 1981; 194: 585-91.
89. Roumen RMH, Valkenburg JGM, Geuskens LM. Lymphocintilography and feasibility of sentinel node biopsy in 83 patients with primary breast cancer. Eur. J. Surg. ONcol. 1997; 23: 495.
90. Sabel MS, Schott AF, Kleer CG, et al. Sentinel node biopsy prior to neoadjuvante chemotherapy. Am. J. Surg. 2003; 186: 102-5.

91. Sakaguchi M, Veimani A, Dudak WM, Peters NG, Leitch M, et al. Clinical relevance of reverse transcriptase – polymerase chain reaction for the detection of axillary lymph node metastasis in breast cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 2003; 10(2): 117-25.
92. Sanjuan A, Viad-Sicart S, Zanon G, Pahesa J, Velasco M, Fernandez PL, et al. Clinical axillary recurrence after sentinel node biopsy in breast câncer: a follow-up study of 220 patients. *Euro. J. of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2005; 32(8): 932-6.
93. Scherenk P, Hochreiner T, Fridrik M, et al. Sentinel node biopsy performed before preoperative chemotherapy for axillary lymph node staging in breast cancer. *Breast J*. 2003; 9: 282-7.
94. Schirrmester H, Rotzuke J, Vogl F, Buck Andreas, Czech N, et al. Prospective evaluation of factors influencing success rates of sentinel node biopsy in 814 breast cancer patients cancer biotherapy and radiopharmaceuticals. 2004; 19(6): 784-90.
95. Schiyven MP, Vingerhoest AJJM, Rutten HJT, Nieuwenquijzen GAP, et al. Comparison of morbidity between axillary lymph node dissection and sentinel node biopsy. *E. J. S. O*. 2003; 29: 341-350.

96. Schneebaum S, Stadler J, Cohen M, Yaniv D, Baron J, Skornick Y. Gamma probe – guided sentinel node biopsy: optimal timing for injection. *Eur. J. Surg. Oncol.* 1998; 24: 515.
97. Schrenk P, et al. Morbidity following sentinel lymph node biopsy us axillary lymph node dissection for patients with breast carcinoma. *Cancer* 2000; 88: 608-14.
98. Schrenk P, Wayand W. Sentinel-node biopsy in axillary lymph-node staging for patients with multicentric breast cancer. *Lancet.* 2001; 357: 122.
99. Shinrazu K, Tamaki Y, Taguchi T, et al. Sentinel lymph node biopsy using periareolar injection of radiocolloid for patients with neoadjuvant chemotherapy-treated breast carcinoma. 2004; 100: 2555-61.
100. Singletary E, Greene LF. Revision of breast cancer staging: The 6th edition of the TNM classification. *Seminars in Surgical Oncology.* 2003; 21: 53-9.
101. Singletary SE, Allred C, Ashley P, Bassett LW, Berry S, Bland RJ, et al. Revision of the American joint committee on cancer staging system for breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 3628-36.

102. Snoj M, Bracko M, Zagar I. Axillary recurrence rate in breast cancer patients with negative sentinel lymph node. *Croat. Med. J.* 2005; 46(3): 377-81.
103. Soares TC. Identificação de metastases nos linfonodos sentinelas e não-sentinelas em câncer de mama. Tese de doutorado do programa de pós-graduação em ginecologia, obstetrícia e mastologia, Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, 2003.
104. Tafrá L, Verbanac RM, Lannin DR. Preoperative chemotherapy and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Am. J. Surg.* 2001; 182: 312-5.
105. Tanis EI, Nieweg OE, Olmos RAV, Kroon BBR. Anatomy and physiology drainage of breast from the perspective of sentinel node biopsy. *J. Am. Coll. Surg.* 2001; 192: 399-409.
106. Tanis PJ, Van Sandick JW, Nieweg OE, Valdes ORA, Rutgers EJT, Hoefnagel CA, et al. The hidden sentinel node in breast cancer. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2002; 29: 305-11.

107. Tanis PJ, Boom RP, Koops HS, Faney IF, Peterse JL, Nieweg OE, et al. Frozen section investigation of the sentinel node in malignant melanoma and breast cancer. *Am. Surg. Oncol.* 2001; 8: 222-6.
108. Tausimis E, Vanzee RJ, Fly JV, et al. The accuracy of sentinel lymph-node biopsy in multicentric and multifocal invasive breast cancer. *J. Am. Coll. Surg.* 2003; 197: 529-35.
109. The American Society of Breast Surgeons – official statements. Consensus statement of guidelines for performance of sentinel lymphadenectomy for breast cancer. Online <http://www.breastsurgeons.org/officialstmts/sentinel.shtml>.
110. Turner-Warwick RT. The lymphatics of the breast. *Br. J. Surg.* 1959; 46: 574-82.
111. Urban AC, Pelizzon C, Zerwes F, Frasson A. O exame intra-operatório do linfonodo sentinela na realidade brasileira. *RBM.* 2004; 14(3): 107-11.

112. Van Rijk CM, Nieweg EO, Rutgers TJE, Oldenberg SAH, Olmos VR, Hoefnagel AC, et al. Sentinel node biopsy before neoadjuvante chemotherapy spares breast cancer patients axillary lymph node dissection. *Annals of Surgical Oncology*. 2006; 13(4): 1-5.
113. Veronesi L, Paganelli G, Vide G, et al. Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer. Results in a large series. *J. Natl. Cancer Inst*. 1999; 368-373.
114. Veronesi U, Banfi A, De Vecchio M, Clemente C, Greco M. Comparison of halsted mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection and radiotherapy in early breast câncer: long-term results. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol*. 1986; 22: 1085-9.
115. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, et al. Sentinel - node biopsy to avoid axillary dessection in breast cancer clinically negative lymph – nodes. *Lancet* 1997; 349 1884-1867.
116. Veronesi U, Paganelli G, Viale G. A randomized comparisson of sentinel biopsy with routine axillary dissection in breast câncer. *N. Engl. I. Med*. 2003; 349: 546-553.

117. Ververs AJJM et al. Risk, severity and predictors of physical and psychological morbidity after axillary lymph node dissection for breast cancer. *Eur. J. Cancer* 2001; 37: 991-9.
118. Viale G, Maiorano E, Mazzarol G, Zunida S, Galimberti V, Luini A. Histologic detection and clinical implications of micrometastasis in axillary sentinel lymph nodes for patients with breast carcinoma. *Cancer*. 2001; 92(6): 1378-84.
119. Viale G, Maiorano E, Pruner G, Mastropasqua GM, Valentini S, Galimberti V. Predicting the risk for additional axillary metastasis in patients with breast carcinoma and positive sentinel lymph node biopsy. *Annals of Surgery*. 2005; 241(2): 319-25.
120. Viale T, Maiorano E, Mazzarol T, Zunida S, Galembert V, Luini A, et al. Histologic detection and clinical implications of micrometastasis in axillary sentinel lymph node for patients with breast carcinoma. *Cancer*. 2001; 92: 1378-84.
121. Viali T, Bosari S, Mazzarol T, et al. Intraoperative examination of axillary sentinel lymph nodes in breast carcinoma patients. *Cancer*. 1999; 85: 2433-8.

122. Wada N, Imoto S, Haebe T, Ochiai A, Ebihara S, Moriyama N. Evaluation of intraoperative frozen section diagnosis of sentinel lymph nodes in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2004; 34(3): 113-7.
123. Weinberg SE, Dickson D, White L, Ahmad N, Patel J, Hakam A, et al. Cytokeratin staining for intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes in patients with invasive lobular carcinoma. *The American Journal of Surgery.* 2004; 188: 419-22.
124. Weiser MR, Montgomery LL, Susnik B, Tan LK, Borgen PI, Cody HS. Is routine intraoperative frozen-section examination of sentinel lymph nodes in breast cancer worthwhile? *Ann. Surg. Oncol.* 2000; 7: 651-5.
125. Zavagno G, Carcoforo P, Franchini Z, Renier M, Barutta L, De Schvo LG, et al. Axillary recurrence after negative sentinel lymph node biopsy without axillary dissection: a study on 479 breast cancer patients. *EJSO.* 2005; 31: 715-20.
126. Zavagno G, Carcoforo P, Marconato R, Franchini Z, Scalco G, Burelli P, et al. Role of axillary sentinel lymph node biopsy with pure ductal carcinoma in situ of the breast. *BMC Cancer.* 2005; 5: 1-6.

127. Zavagno G, Rubello D, Franchini Z, Meggiolaro F, Ballarin A, Casara D. Axillary sentinel lymph nodes in breast cancer: a single lymphatic pathway chains the entire mammary gland. *E. J. S.O.* 2005; 31: 479-84.