



**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI  
FEDERICO II  
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA**

**Dottorato Di Ricerca "SCIENZE CHIRURGICHE E TECNOLOGIE  
DIAGNOSTICO TERAPEUTICHE AVANZATE"**

XXIV° ciclo

**DIRETTORE: PROF. ANDREA RENDA**

**TESI DI DOTTORATO**

**"SIGNIFICATO PROGNOSTICO DELLE MICROMETASTASI  
NEL LINFONODO SENTINELLA DA CARCINOMA MAMMARIO  
INVASIVO: ANALISI RETROSPETTIVA DI 51 CASI"**

**RELATORE:  
CH.MO PROF. ANDREA RENDA**

**CANDIDATA:  
GIUSEPPINA DI MARTINO**

ANNO ACCADEMICO 2010-2011

# INDICE

<b>INTRODUZIONE.....</b>	<b>1</b>
<b>MATERIALI E METODI.....</b>	<b>30</b>
<b>RISULTATI.....</b>	<b>32</b>
<b>DISCUSSIONE.....</b>	<b>36</b>
<b>CONCLUSIONI.....</b>	<b>46</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>48</b>

# INTRODUZIONE

Allo stato attuale il carcinoma della mammella rappresenta la più diffusa neoplasia epiteliale del sesso femminile nei Paesi economicamente più avanzati: esso, infatti, detiene il primato di mortalità per tumore nella donna, configurandosi come vera e propria malattia sociale.

In Italia si stimano in oltre 300.000 le donne affette da malattia e che siano circa 30.000 i nuovi casi diagnosticati ogni anno, con livelli d'incidenza di poco inferiori rispetto alla media europea.

L'eziologia della neoplasia è ancora sconosciuta, tuttavia studi epidemiologici condotti sull'argomento hanno evidenziato molteplici fattori di rischio, classificabili come: demografici, costituzionali, fisiologici, patologici, ambientali (Tab.1). E' nota l'esistenza di determinanti genetici probabilmente responsabili di circa il 5% dei tumori maligni della mammella insorti in donne che hanno ereditato mutazioni di geni cosiddetti "onco-soppressori" (BRCA 1, BRCA 2) per le quali è documentata una maggiore probabilità di ammalarsi. Sebbene alcune donne siano considerate ad alto rischio, il 75% di coloro che sviluppano una patologia neoplastica maligna della mammella non presenta alcuno dei fattori predisponenti noti al di fuori dell'età avanzata. E' d'uopo pertanto riconoscere l'influenza che il parametro cronologico

Tab.1 Fattori di rischio per il carcinoma mammario

---

A) INDICATORI DEMOGRAFICI E SOCIOLOGICI

- Età
- Popolazioni occidentali ricche
- Classi socio-culturali agiate
- Migrazioni in Paesi ricchi in età prepubere o puberale

B) FATTORI COSTITUZIONALI, FISIOLGICI E RIPRODUTTIVI

- Famiglie ad alto rischio
- Elevato peso alla nascita
- Menarca precoce
- Statura elevata
- Nulliparità
- Primigravidanza tardiva
- Età alle successive gravidanze
- Mancanza di latte o allattamento breve
- Età della menopausa
- Obesità o sovrappeso in menopausa
- Elevati livelli sierici di testosterone e di estradiolo e bassi livelli di SHBG (in menopausa)

C) FATTORI AMBIENTALI

- Radiazioni ionizzanti (specie in età prepubere o puberale)
- Dieta ipercalorica (specie in età prepubere o puberale)
- Scarsa attività fisica (specie in età giovane)
- Consumo di alcool
- Dieta povera di frutta e verdura
- Dieta povera di fitoestrogeni

D) FATTORI PATOLOGICI

- Anamnesi familiare positiva per cancro della mammella in parenti di primo grado
  - Anamnesi personale positiva per neoplasia maligna (incluso carcinoma della mammella)
  - Pregressa patologia mammaria (ad es.: patologia proliferativa benigna o esito di biopsia).
-

esercita nella patogenesi della neoplasia, relegando gli altri fattori di rischio ad un ruolo subalterno di cofattori o indicatori.

Alla luce di quanto emerso, interventi di prevenzione primaria finalizzati all'eliminazione delle cause predisponenti presentano scarsa efficacia nel ridurre l'incidenza della patologia; ugualmente un approccio farmacologico basato su sostanze ad azione anti cancerogena (chemioprevenzione) costituisce un'alternativa ancora in fase di sperimentazione clinica.

La storia naturale del carcinoma della mammella insegna che le dimensioni delle lesioni sono direttamente correlate all'interessamento linfonodale e ad un'eventuale disseminazione metastatica.

Durante la fase pre-clinica (lesione inferiore ad 1 cm) del tumore i linfonodi sono positivi in una percentuale compresa tra il 5-18% dei casi (Fig.1): questo si associa ad un miglioramento della prognosi e della sopravvivenza, che a 5 anni è pari circa al 96% dei casi trattati.

La marcata tendenza del carcinoma mammario alla diffusione linfatica è da lungo tempo conosciuta, pertanto il trattamento del tessuto linfatico loco-regionale ha sempre avuto un ruolo essenziale nell'approccio chirurgico alla malattia.

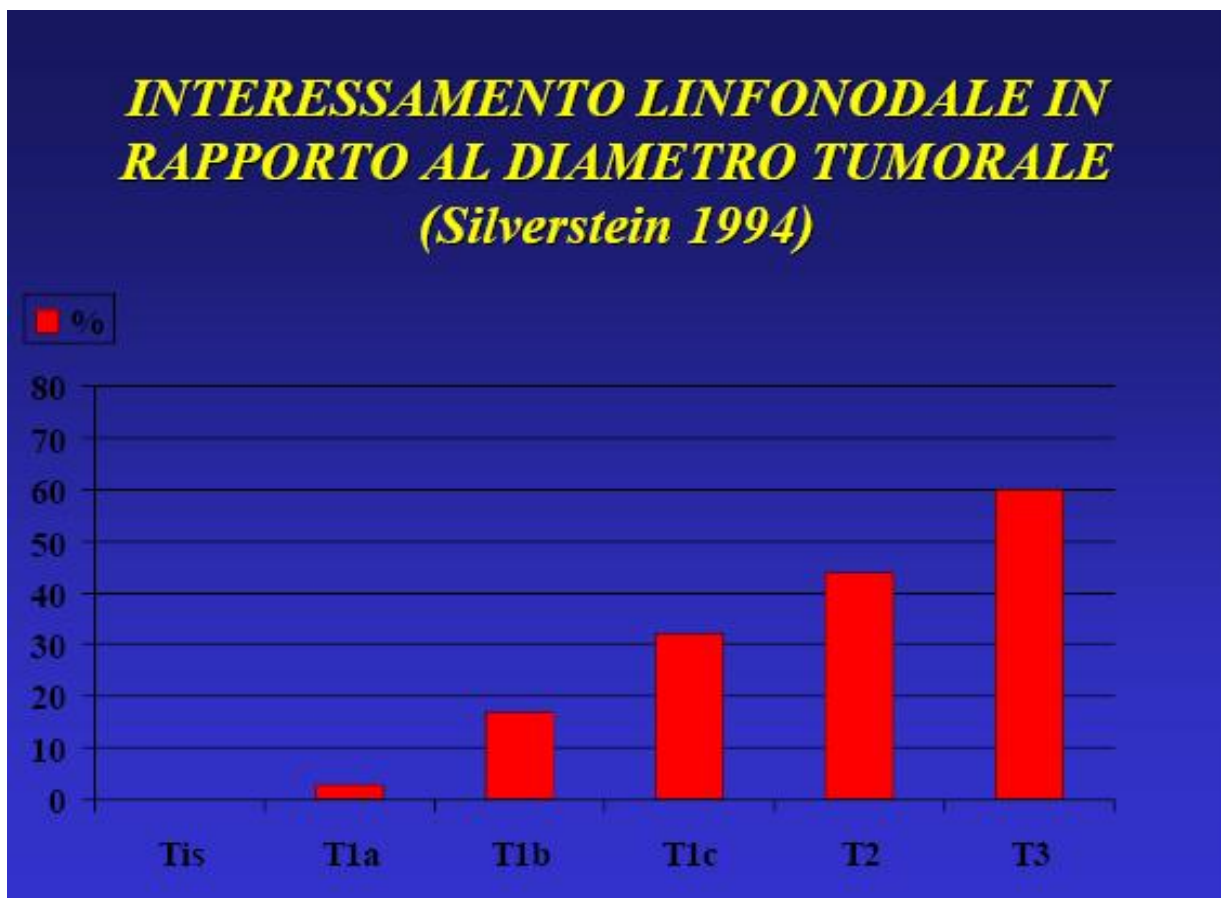
Le indicazioni, l'estensione e le finalità dell'exeresi linfatica hanno subito nel tempo profonde modificazioni, in sintonia con l'evoluzione delle conoscenze sulla storia naturale della malattia.

Il padre comunemente riconosciuto della chirurgia del cancro mammario fu l'americano William Halsted(1852-1922), la cui teoria sosteneva che il tumore mammario fosse inizialmente una malattia loco-regionale che si espande poi, in maniera progressiva ed ordinata, fino a divenire sistemica. In questo contesto teorico si riteneva che le cellule tumorali permeassero progressivamente i vasi linfatici fino ai linfonodi regionali, che costituivano il filtro principale prima che il tumore si disseminasse a distanza per via ematica.

Tuttavia, l'evidenza che alcune pazienti sviluppavano metastasi a distanza nonostante i linfonodi ascellari risultassero negativi all'esame istologico contrastava palesemente con la teoria halstediana; si cercò di considerare tale contraddizione come conseguenza dell'asportazione dei soli linfonodi ascellari, lasciando in sede altre stazioni regionali, come quelle della catena mammaria interna, potenzialmente responsabili della successiva disseminazione. Altri chirurghi introdussero pertanto interventi ancora più demolitivi, le cosiddette mastectomie allargate, che oltre ai linfonodi ascellari comprendevano la rimozione dei linfonodi della mammaria interna e, in alcune versioni, addirittura dei linfonodi mediastinici, sovraclaveari e di una porzione di parete toracica. Questi interventi non diedero i risultati attesi: uno studio multicentrico degli anni 70' dimostrò che non vi era differenza fra la mastectomia di Halsted e le allargate in termini di sopravvivenza globale e libera da malattia.

Cominciò a diffondersi un nuovo modo di considerare il carcinoma mammario: non più come malattia loco-regionale, ma come malattia sistemica dall'inizio, indipendentemente dalla tecnica chirurgica utilizzata (teoria di Fisher).

FIG.1: Interessamento linfonodale in base al diametro tumorale.



La presenza di linfonodi metastatici rappresentava l'indicatore piuttosto che la causa di una cattiva prognosi. Sulla base di questa nuova visione della storia naturale della malattia, negli anni 70' si assistette ad un'inversione di tendenza, nel senso della progressiva adozione di interventi chirurgici meno demolitivi.

L'evoluzione in senso conservativo è stata da allora rapida ed eclatante per la chirurgia della mammella, mentre sul versante della chirurgia dei linfonodi ascellari la linfoadenectomia ascellare (ALND) ha rappresentato il gold standard fino alla fine degli anni novanta.

A metà degli anni novanta furono pubblicate le prime esperienze con una metodica di stadiazione dell'ascella che avrebbe rivoluzionato l'approccio chirurgico all'ascella: il linfonodo sentinella. Esso rappresenta il primo linfonodo che drena la linfa e le eventuali cellule metastatiche provenienti dal tumore ed è, quindi, un accurato indicatore dello stato degli altri linfonodi ascellari.

Migliaia di casi sono stati studiati ed i risultati hanno evidenziato la complessiva affidabilità di questa tecnica, che è già stata ampiamente adottata nella pratica clinica, anche se la sua valutazione nell'ambito di studi clinici controllati è, al momento attuale, ancora in corso.

Scopo di questo studio è riferire la nostra esperienza come centro coinvolto in uno studio multicentrico per la validazione della tecnica (2000-2002) della biopsia del sentinella prima, e in seguito come unità senologica che in un periodo di osservazione di circa 102 mesi ha applicato la metodica in maniera routinaria al trattamento del carcinoma mammario operabile, valutando benefici e controversie della metodica, tra cui la maggiore e più attuale riguarda la valutazione ed il trattamento delle micro- e macro-metastasi nel linfonodo sentinella, il significato prognostico e l'opportuno trattamento chirurgico.. Viene da seguito presentato uno studio retrospettivo su 203 casi.



## **IL LINFONODO SENTINELLA (LS)**

Con il termine “linfonodo sentinella” s’intende, appunto, il primo linfonodo che riceve la linfa proveniente dal tumore ed esso è, con essa eventuali cellule neoplastiche trasportate per via linfatica. Ne consegue che se il linfonodo sentinella è libero da cellule neoplastiche all’esame istologico, anche gli altri linfonodi regionali saranno con alta probabilità negativi.

## **EVOLUZIONE DELLA METODICA**

Il potenziale valore del linfonodo sentinella come indicatore dello stato dei linfonodi regionali fu inizialmente esplorato da Ramon Cabanas nel cancro del pene. Nel 1992 Morton pubblicò la sua esperienza con il LS su 237 pazienti con melanoma, riferendo che la concordanza tra lo stato del linfonodo sentinella e quella degli altri linfonodi regionali era del 99%.

La biopsia del linfonodo sentinella (BLS) fu prontamente indagata anche nel tumore della mammella. Le prime esperienze di BLS utilizzando un radiotracciante per la sua identificazione furono pubblicate da Krag nel 1993 in un piccolo studio pilota di 18

pazienti, mentre l'anno successivo Giuliano riportò la sua esperienza usando come tracciante un colorante vitale in 174 pazienti con tumori T1-T2 ( tasso di identificazione del LS -IR- del 65%, FN: 4,3% ).

La possibilità di avere finalmente a disposizione un metodo minimamente invasivo in grado di identificare le pazienti con linfonodi negativi sollevò immediatamente grande interesse ed in tutto il mondo la metodica fu estensivamente studiata.

Gli studi di coorte a singola istituzione furono seguiti da quattro trial di studio multicentrici:

- Krag et al., riportò risultati derivanti da 443 pazienti sottoposte a linfo-scintigrafia per identificare ed asportare il LS e successiva ALND (IR: 93%, FN: 11%, accuratezza: 97%, VPN: 96%, specificità: 100%, sensibilità: 89%);
- McMasters et al., riportò risultati da 806 pazienti operate da 99 chirurghi di cui 83 erano ancora in curva di apprendimento, usarono il radionuclide e/o il colorante vitale come traccianti a discrezione del singolo chirurgo, tutte furono sottoposte ad ALND( IR: 86%, FN: 11,8% quando era usata una sola metodica di identificazione; se erano usate entrambe: IR: 90%, FN: 5,8%);
- Trial Breast Lymphatic Mapping del Dipartimento della Difesa, che analizzò risultati provenienti da 41 ospedali(IR: 86%, FN: 4%, accuratezza: 99%);
- Tafra et al., pubblicarono i risultati su 529 pazienti( IR: 87%, FN: 13%, accuratezza del LS nel predire lo stato ascellare: 96%)

A questa serie di studi preliminari ha fatto seguito l'organizzazione di studi clinici randomizzati (Tab.2) con lo scopo di comparare l'efficacia terapeutica della BLS rispetto alla classica ALND.

Allo stato attuale, ci sono solo due studi completi randomizzati pubblicati che paragonano le due metodiche:

- Veronesi et al., con l'approvazione dell'IEO e supporto dell'AIRC, ha studiato 516 pazienti, suddivise in maniera casuale tra un gruppo (257 pz) sottoposto a SLNB e ad ALND comunque (gruppo ALND) ed un gruppo (259 pz) sottoposto a SLNB e solo in caso di positività ad ALND (gruppo SLNB); accuratezza : 96,9%, sensibilità: 91,2%, specificità: 100%, VPN: 95,4% ed i FN: 8,8%. Metastasi al LS furono trovate in 83 pazienti nel gruppo ALND (32%), di queste 29 erano micrometastasi e in 24(83%) pazienti i LS erano gli unici linfonodi interessati; nel gruppo SLNB metastasi si ebbero in 92 pz(35%), di queste 31 erano micrometastasi ed in 26 casi (84%) il LS fu l'unico preso. Ad un follow-up di 46 mesi, ci furono 25 casi di recidiva mammaria, 15 nel gruppo ALND e 10 nel gruppo SLNB; i FN nel gruppo SLNB erano 8(8,8%), quindi 8/167 pz avevano il potenziale di sviluppare metastasi ascellari, ma gli eventi che si rilevarono in seguito non erano legati a metastasi ascellari, pertanto gli Autori conclusero che pazienti con LS negativo non necessitavano di ALND a completamento del trattamento locale della malattia;

- Lo studio ALMANAC( Axillary Lymphatic Mapping Against Nodal Axillary Clearance) è multi-istituzionale e randomizzato, che coinvolge 13 istituti di trattamento per il carcinoma mammario in Inghilterra. Dopo una fase di validazione della metodica, 1031 pz furono sottoposte a SLB e poi ad ALND (gruppo ALND- 496 paz.-) di principio o ad ALND se il SLB era positivo( gruppo SLB) o a RT se il SLB era positivo, al posto della dissezione ascellare. Delle 515 pazienti del gruppo SLB, 121 avevano il LS positivo, di queste 83 ricevettero ALND e 33 la RT. A 12 mesi ci sono state una recidiva ascellare nel gruppo SLB e 3 nel gruppo ALND.  
Allo stato attuale il follow-up è troppo breve per altre valutazioni.

## **IDENTIFICAZIONE DEL LINFONODO SENTINELLA**

La metodica per l'identificazione del LS prevede l'iniezione di un tracciante che segua le stesse vie linfatiche del tumore e si fissi nel primo linfonodo, evidenziandolo.

Le due categorie di traccianti comunemente utilizzate comprendono i coloranti vitali ed i radiofarmaci .

Le percentuali di successo nell'identificazione del LS con le due metodiche sono di seguito riportate (Tab. 3).

**Tab 2:** Recenti studi clinici randomizzati sulla BLS

<b>NSABP B32</b>	
<b>Endpoints</b>	<b>ALND vs. no ALND after negative SLNB</b> Overall survival, Disease-free survival, Local regional control, Morbidity
<b>Eligible pts</b>	T1-3, N0
<b>Start</b>	3/1999
<b>Close</b>	2/2004
<b>No. of pts</b>	5,611
<b>ACOSOG Z0010</b>	
<b>Endpoints</b>	<b>No ALND after negative SLNB</b> Micrometastasis in SLN and bone marrow; Local regional control
<b>Eligible pts</b>	BCS, T1-2, N0
<b>Start</b>	4/1999
<b>Close</b>	5/2003
<b>No. of pts</b>	5,539
<b>ACOSOG Z0011</b>	
<b>Endpoints</b>	<b>ALND vs. no ALND after positive SLNB</b> Overall survival, Disease-free survival, Local regional control, Morbidity
<b>Eligible pts</b>	BCS, T1-2, N0, and 1 or 2 positive SLNs
<b>Start</b>	5/1999
<b>Close</b>	12/2004
<b>No. of pts</b>	891
<b>ALMANAC</b>	
<b>Endpoints</b>	<b>ALND vs. SLNB</b> Arm morbidity, QOL, Resource cost, Local regional control
<b>Eligible pts</b>	T1-3, N0
<b>Start</b>	11/1999
<b>Close</b>	10/2003
<b>No. of pts</b>	1,031
<b>AMAROS</b>	
<b>Endpoints</b>	<b>1) ALND vs. RT after positive SLNB</b> <b>2) No ALND after negative SLNB</b> Local regional control, Morbidity
<b>Eligible pts</b>	0.5-3.0 cm, N0
<b>Start</b>	2/2001
<b>Close</b>	Ongoing
<b>No. of pts</b>	2,868 (3,485 planned)
<b>IBCSG 23-01</b>	
<b>Endpoints</b>	<b>ALND vs. no ALND after SLN micrometastasis (&lt;=2mm)</b> Disease-free survival
<b>Eligible pts</b>	T1-2, N0
<b>Start</b>	12/2001
<b>Close</b>	Ongoing
<b>No. of pts</b>	1,960 (Planned)

ALND, Axillary lymph node dissection; BCS, Breast conserving surgery; Pts, Patients; RT, radiation therapy; SLN, Sentinel lymph node; SLNB, sentinel lymph node biopsy;

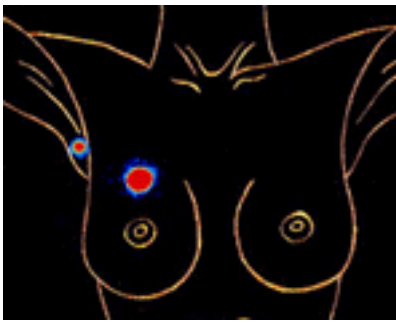
L'uso del tracciante radioattivo (Fig. 2, 3) rispetto al colorante vitale (Fig. 4a, 4b) consente una dissezione meno estesa e più rapida ed una più facile identificazione del LS, però ha costi economici ed organizzativi più elevati (presenza di medicina nucleare per la linfo-scintigrafia e disponibilità di sonda radioguidata). Alcuni Autori utilizzano entrambe le metodiche e riferiscono migliori percentuali d'identificazione del LS e minore incidenza di falsi negativi.

Molto importante è la sede d'iniezione del tracciante: intratumorale, peritumorale profonda, intradermica o subdermica. Di tutte la subdermica è sicuramente la più diffusa, poiché consente la rapida visualizzazione del LS ascellare, dato che la rete linfatica a questo livello è molto rappresentata. Recentemente è stata introdotta la via d'iniezione subareolare: in questa sede vi è il plesso linfatico di Sappey, nel quale convergono linfatici provenienti da tutta la mammella. Numerosi studi hanno dimostrato che la via subareolare, peritumorale profonda ed intradermica sull'area tumorale, evidenziano lo stesso linfonodo sentinella. Ciò suggerisce che la linfa proveniente da diverse regioni della mammella raggiunga comunque lo stesso linfonodo ascellare, cioè esiste un unico LS per l'intera mammella. La via subareolare rappresenterebbe, pertanto, un'utile metodica in caso di tumori non palpabili, i tumori multicentrici o quelli già escissi.

**Tab.3:** Percentuale di identificazione del linfonodo sentinella e tasso di falsi negativi nelle principali casistiche pubblicate

Autore	Anno	Nr. pazienti	Tracciante	Rep. LS		Accuratezza		Falsi negativi	
				Nr	(%)	Nr	(%)	Nr	(%)
Giuliano (13)	1994	174	Colorante	114/174	(65,5)	109/114	(95,6)	5/42	(11,9)
Giuliano (80)	1997	107	Colorante	100/107	(93,5)	100/100	(100,0)	0/42	(0)
Guenther (81)	1997	145	Colorante	103/145	(71,0)	100/103	(97,1)	3/31	(9,7)
Koller (82)	1998	98	Colorante	96/98	(98,0)	93/96	(96,9)	3/51	(5,9)
Flett (91)	1998	68	Colorante	56/68	(82,4)	53/56	(94,6)	3/19	(16,7)
Rodier (83)	2000	73	Colorante	61/74	(82,4)	59/61	(96,7)	2/25	(8,0)
Albertini (51)	1996	62	Doppio	57/62	(91,9)	57/57	(100,0)	0/18	(0)
Nwariaku (84)	1998	119	Doppio	96/119	(80,7)	95/96	(99,0)	1/27	(3,7)
Bass (85)	1999	186	Doppio	173/186	(93,0)	172/173	(99,4)	1/54	(1,9)
Morrow (92)	1999	139	Doppio	110/139	(79,1)	106/110	(96,4)	4/32	(12,5)
Tafra (93)*	2001	535	Doppio	446/535	(83,4)	428/446	(96,0)	18/140	(12,9)
McMasters (86)*	2001	2.121	Doppio	1957/2121	(92,3)	1902/1957	(97,2)	55/690	(8,1)
Snider (87)	1998	80	Tecnezio	70/80	(87,5)	69/70	(98,6)	1/14	(7,1)
Rubio (94)	1998	55	Tecnezio	53/55	(96,3)	51/53	(96,2)	2/17	(11,8)
Borgstein (88)	1998	130	Tecnezio	122/130	(93,9)	103/104	(99,0)	1/45	(2,2)
Krag (95)*	1998	443	Tecnezio	413/443	(93,2)	392/405	(96,8)	13/114	(11,4)
Crossin (96)	1998	50	Tecnezio	42/50	(84,0)	41/42	(97,6)	1/8	(12,5)
Veronesi (89)	1999	376	Tecnezio	371/376	(98,7)	359/361	(99,5)	12/180	(6,7)
Winchester (97)	1999	72	Tecnezio	58/72	(80,6)	54/58	(93,1)	4/39	(10,3)
Borba (90)*	2000	102	Tecnezio	88/102	(86,3)	86/88	(97,7)	2/37	(5,4)
Zavagno (98)*	2000	126	Tecnezio	115/126	(91,3)	110/115	(95,6)	5/46	(10,9)

\* Studi multicentrici;  
Tracciante: Colorante (Isosulfan blue o Patent blue V)  
Doppio (colorante vitale + radioisotopo)  
Tecnezio (sulfur colloid o albumina nanocolloidale marcati con Tecnezio 99)



## Scintigrafia del Linfonodo Sentinella

Iniezione di tracciante radioattivo al di sotto del derma o all'interno del parenchima vicino al tumore. Tanto il tumore come il linfonodo sentinella possono essere identificati attraverso immagini linfo-scintigrafiche.



**Chirurgia** Identificazione del linfonodo sentinella mediante l'utilizzo di una sonda per chirurgia radioguidata.



L'intensità e la frequenza del segnale emesso è proporzionale al livello di radioattività rilevata. Il linfonodo che risulta più radioattivo è rimosso ed inviato per un esame istologico intraoperatorio.

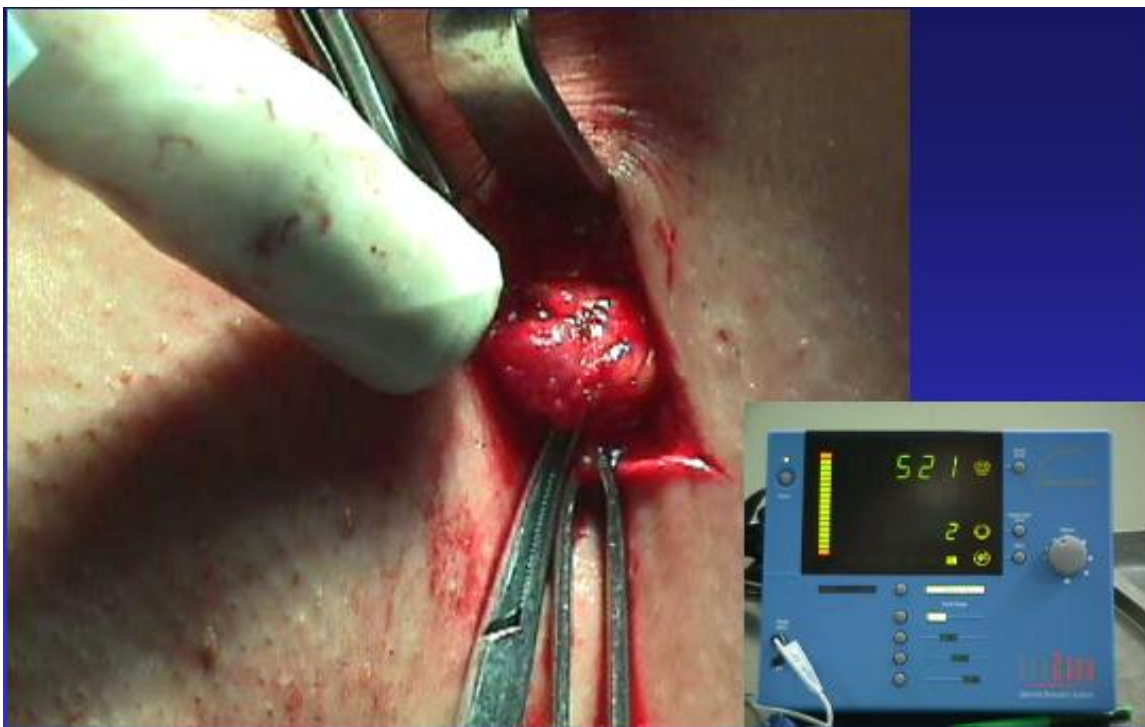


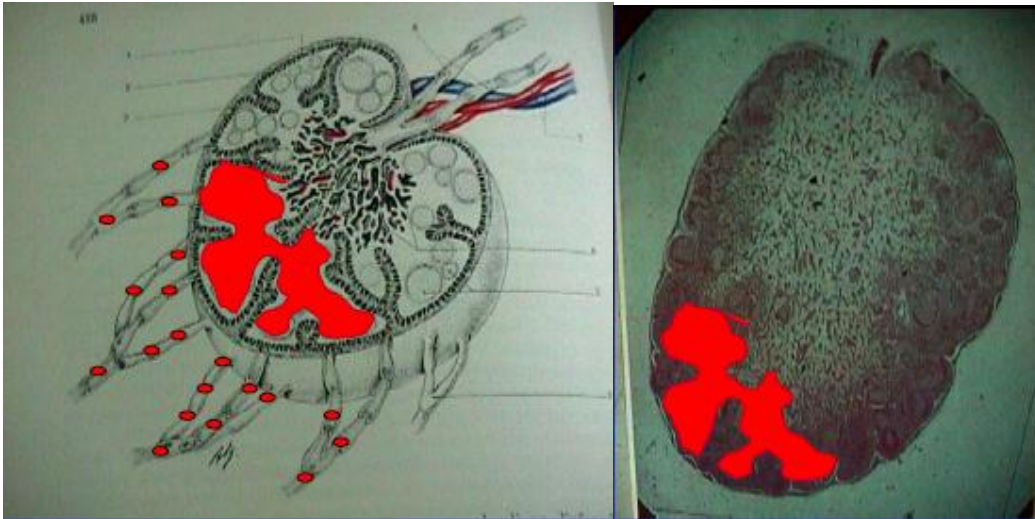
## Analisi istologica

Esame istologico intraoperatorio del linfonodo sentinella. In circa 40 minuti il chirurgo riceve la diagnosi istologica e si decide il successivo trattamento.



**Fig.2:** Metodica di rilevamento intraoperatoria mediante gamma-camera portatile

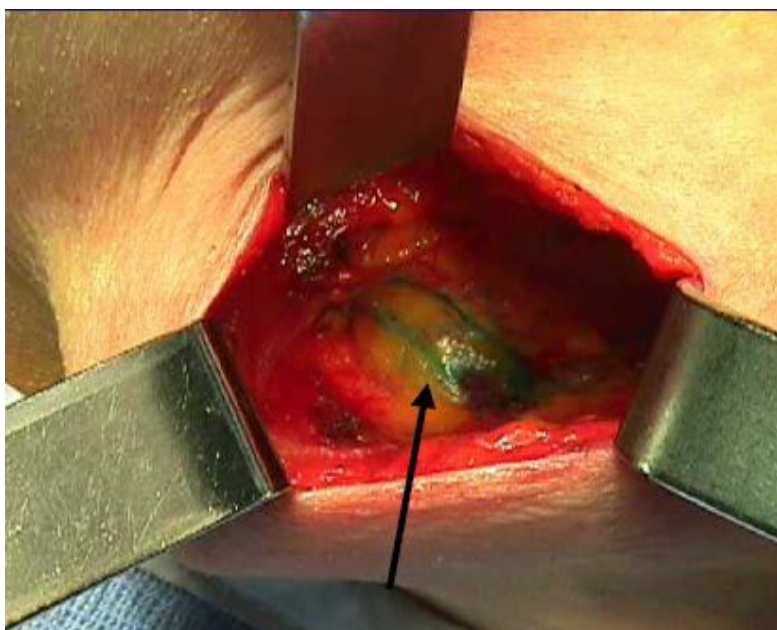




**Fig. 3:** Macroaggregati di albumina sierica arrivano al linfonodo attraverso i linfatici afferenti e sono intrappolati nella corticale

**Fig. 4a:** Tecnica di identificazione mediante colorante vitale





**Fig. 4 b: RICERCA DEL LINFONODO SENTINELLA CON IL COLORANTE VITALE:**

Iniezione subdermica o peritumorale di 1- 2 ml di patent blue in sala operatoria. Il linfonodo sentinella e' colorato di blue.



## INDICAZIONI E CONTROINDICAZIONI

Quali pazienti sono candidate alla biopsia del linfonodo sentinella?

L'orientamento generale riserva la metodica a carcinomi mammari infiltranti di diametro inferiore a 3 centimetri, monocentrici, con ascella clinicamente negativa.

Tuttavia vi sono numerose controversie sull'affidabilità della metodica in varie circostanze di seguito riportate.

- **TUMORI DI DIAMETRO SUPERIORE AI 5 CM**

L'ipotesi iniziale era che questi tumori avessero più vie di drenaggio linfatico e che, quindi, il rischio di non individuare correttamente il linfonodo (o i linfonodi) sentinella fosse elevato. Numerosi studi (Bedrosian et al., 2000; Chung et al., 2001; Cox et al., 2006 ) hanno però dimostrato che l'accuratezza della BLS non cambia nei tumori di grandi dimensioni. Nonostante questi dati, l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) Expert Panel ha concluso che i dati sulla accuratezza della metodica sono insufficienti per donne con tumore T4, non infiammatorio, e perciò non raccomanda la BLS per studiare l'ascella in donne con tumori > 5 cm ed ascella clinicamente negativa.

- **TUMORI MULTICENTRICI E MULTIFOCALI**

La presenza di tumori multipli posti in quadranti diversi della mammella (multicentricità) è considerata una classica controindicazione alla BLS perché si ritiene che la presenza di diverse vie di drenaggio possa comportare un alto tasso di

falsi negativi. Tuttavia molteplici esperienze riportano ottimi risultati nella BLS anche in questi tumori, sia utilizzando iniezioni multiple in corrispondenza delle diverse sedi interessate, sia con un'unica iniezione subareolare del tracciante.

I tumori multifocali, allo stesso modo non presentano problemi a patto che il diametro complessivo non superi i 5 cm. Tutti gli studi confermano che il linfonodo sentinella rappresenta il primo linfonodo di drenaggio della mammella per intero e non dello specifico tumore, pertanto la BLS appare fattibile in queste pazienti con ascella clinicamente negativa.

- **CARCINOMA DUTTALE IN SITU E CARCINOMA MICROINFILTRANTE**

In presenza di un carcinoma micro-infiltrante la probabilità di metastasi ascellari è bassa (<10%). La BLS è generalmente indicata.

Il carcinoma duttale in situ per definizione non dà metastasi, ma è noto che in alcuni casi possano essere riscontrate metastasi linfonodali, forse perché un'area di microinfiltrazione può sfuggire all'esame del patologo, soprattutto se la neoplasia è di grandi dimensioni (0-13%). L'incidenza di microinvasività aumenta se il tumore è palpabile, di grosse dimensioni, di alto grado, o se la paziente è giovane. Le linee guida ASCO indicano come cut-off un diametro di 5 cm o più e pazienti che sono candidate all'intervento di mastectomia, data l'impossibilità di reperire il LS dopo la rimozione della mammella.

- **DOPO TERAPIA SISTEMICA NEOADIUVANTE**

La BLS in pz con linfonodi palpabili che vengono sottoposte a terapia neoadiuvante per avere un down-staging della malattia che possono ottenere

anche regressione clinica dell'ascella (alcuni AA affermano che la chemioterapia può sterilizzare l'ascella nel 30-40% delle pazienti con linfonodi palpabili), è controverso.

Sono state espresse molte perplessità sull'attendibilità del LS in questi casi, principalmente perché la chemioterapia potrebbe indurre la regressione della malattia nel LS ma non negli altri linfonodi ascellari, inoltre si è riscontrata anche un'elevata percentuale di falsi negativi e di errori nell'identificazione del sentinella, probabilmente per l'effetto lesivo dei farmaci sui vasi linfatici.

- L'ASCO ha sviluppato delle linee guida in cui stabilisce che la BLS non è indicata per tumori T3 o T4, carcinomi infiammatori della mammella, linfonodi sospetti per metastasi, gravidanza, pregressa chirurgia ascellare, pregressa chirurgia non-oncologica mammaria, e dopo terapia sistemica neoadiuvante.

## **SIGNIFICATO CLINICO DELL' IDENTIFICAZIONE DEL LINFONODO SENTINELLA DELLA CATENA MAMMARIA INTERNA**

La rara identificazione ed il successivo trattamento di metastasi del LS della catena mammaria interna è diventato rilevante negli ultimi anni: il quesito maggiore è se queste metastasi impongono o meno una dissezione ascellare come nel caso di un LS ascellare positivo. Due studi hanno valutato (Shen et al., 2004; Guth et al., 2006) il

problema e concluso che in questi casi la dissezione ascellare andrebbe fatta, perché dai loro dati emerge che le pazienti con metastasi ai linfonodi sentinella della mammaria interna avrebbero tumori più aggressivi, con alto rischio di invasione linfovascolare e metastasi ascellari, con alta percentuale di multifocalità ed alto grado e stadio avanzato alla valutazione definitiva. In contrasto a tutto questo, un recente lavoro di Intra et al., 2007, afferma che quando vengono evidenziati sia un LS della mammaria interna che dell'ascella, sarà il LS ascellare a determinare la necessità o meno di un ulteriore ALND, mentre se si riscontra un LS della mammaria interna positivo o negativo in assenza di un LS ascellare, in quel caso la dissezione ascellare andrà fatta per l'impossibilità di reperire un LS ascellare. Inoltre, lo studio retrospettivo su 15000 pazienti al Moffitt Cancer Center del 2005 sul LS della mammaria interna, ha dimostrato che un LS della mammaria interna metastatico isolato mostra, nei confronti di un LS ascellare positivo, prognosi più favorevole e se è l'unico metastatico con LS ascellare negativo, non impone la dissezione ascellare.

## **VALUTAZIONE ISTOPATOLOGICA DEL LINFONODO**

### **SENTINELLA**

Nella classificazione TNM (Tumor Node Metastases) dell'UICC (International Union Against Cancer), il termine macrometastasi identifica ogni forma di deposito metastatico che misuri almeno 2 mm o più nel diametro maggiore e/o le metastasi a due o più linfonodi. Per valutare accuratamente le macrometastasi è indispensabile

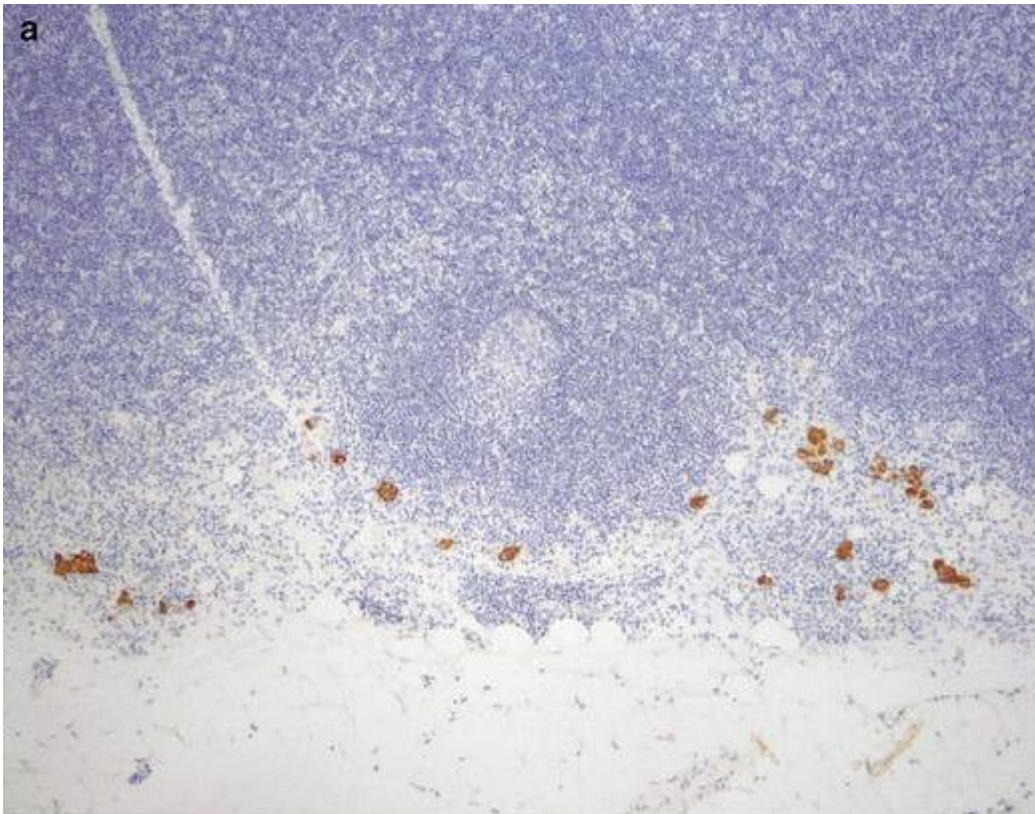
vengano preparate sezioni di taglio di almeno 2 mm, poi le sezioni vengano incluse in paraffina ed in seguito valutate istologicamente.

Nella classificazione TNM dell'UICC, il termine micrometastasi definisce l'arresto ed il successivo impianto di cellule metastatiche nell'organo coinvolto con fenomeni di stravaso, proliferazione e spesso reazione stromale per un'estensione compresa tra 0,2-2,0 mm di diametro massimo. Attualmente costituisce una sottoclasse nell'ambito dei node positive secondo la classificazione TNM (pN1mi). Per la valutazione delle micrometastasi del LS sono necessari tagli delle sezioni incluse in paraffina di almeno 0,2 mm attraverso l'intero blocco.

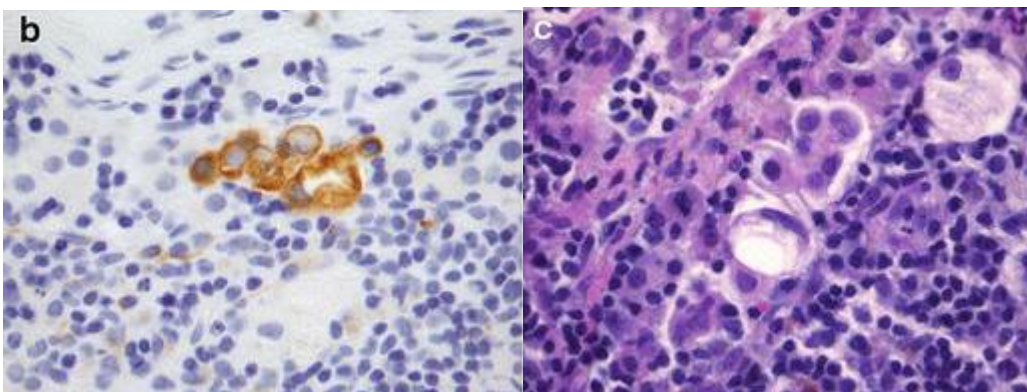
Per cellule tumorali isolate (ITC) si intende invece la presenza di singole cellule tumorali o in piccoli clusters che non misurino oltre 0,2 mm nel loro diametro maggiore, che non mostrino tipica attività metastatica, invasione vascolare o superamento della parete del seno linfatico (FIG. 5a, 5 b,5c). Sono classificate come pN0(i+).E' un reperto di raro riscontro istopatologico, quasi occasionale. Viale et al., hanno riportato che non ci sono sostanziali differenze di rischio di metastasi ai linfonodi non-sentinella per le ITC o per le vere micrometastasi del carcinoma mammario.

Per Calhoun et al.il rischio di metastasi dei non-SL erano inferiori al 5%.





**FIG. 5a:** Photomicrograph ( $\times 40$ ) of cytokeratin AE1:AE3 immunostain showing the dispersed distribution of metastatic clusters along the subcapsular sinuses of nearly the entire circumference of the lymph node (ITC).



**FIG. 5b, 5c:** Higher power ( $\times 400$ ) view of cytokeratin immunostain. (c) H&E stain.

## **NOSTRA ESPERIENZA CON LA METODICA DEL LINFONODO SENTINELLA**

Dal gennaio 2000 al dicembre 2002, il nostro Dipartimento ha collaborato ad uno studio pilota nell'ambito di un protocollo di studio multicentrico, prospettico, randomizzato di fase III, coordinato dal GISCRIS.

Obiettivo dello studio: la valutazione dell'impatto clinico della Biopsia del Linfonodo Sentinella (BLS) vs. Linfectomia Ascellare (AL) sull'intervallo libero da malattia.

Criteria d' inclusione:

- Pazienti con diagnosi di carcinoma mammario allo stadio iniziale(T1), palpabile o meno.

Criteria di esclusione:

- Linfonodi ascellari palpabili;
- Gravidanza/ Allattamento;
- Carcinoma multifocale o multicentrico;
- Precedenti interventi chirurgici sulla mammella.

L'arruolamento delle pazienti comprendeva:

- Consenso informato;
- Scheda valutativa della qualità di vita;

- Dati anagrafici;

Staging pre-operatorio:

- Esame clinico;
- Esame citologico;
- Mammografia bilaterale;
- Radiografia del torace;
- Ecografia epato-biliare;
- Scintigrafia ossea (entro un mese).

Le pazienti venivano poi suddivise in maniera randomica in due gruppi :

-Gruppo della Linfectomia Ascellare (ALND): dopo l' arruolamento venivano sottoposte ad intervento chirurgico ed a successiva valutazione istologica dei linfonodi asportati;

-Gruppo del Linfonodo Sentinella(SLND): dopo l' arruolamento le pazienti venivano sottoposte a studio linfo-scintigrafico per reperire il linfonodo sentinella che veniva asportato ed in seguito analizzato: in caso di positività la paziente veniva rioperata (ALND), nel caso opposto(N0) veniva sottoposta agli eventuali trattamenti adiuvanti previsti ed a follow-up.

Esecuzione:

- Studio linfo-scintigrafico mediante l' iniezione di 800µ/ 150 ul di <sup>99m</sup>Tc-albumina umana nanocolloidale per via subdermica nelle lesioni palpabili,

per via peritumorale su guida ecografia o stereotassica nelle lesioni non palpabili;

- Acquisizione di immagini planari in proiezione anteriore e laterale a partire da 15 minuti e, in caso di tardiva visualizzazione, fino ad un massimo di tre ore;
- Tatuaggio dell' area di proiezione cutanea del LS individuata con un repere radioattivo;
- Trattamento chirurgico dopo circa 18 ore;
- Esame definitivo istopatologico del linfonodo asportato: esame con ematossilina-eosina su sezioni multiseriate, esame immunohistochimico con anticorpi monoclonali anti- pancitocheratina ed anti- EMA per la ricerca di micrometastasi.
- 49/50 pazienti (una rifiutò di sottoporsi a chirurgia), stadio T1: 24 nel gruppo SLNB, 25 nel gruppo ALND.
- 24 pz SLNB: 19 avevano il sentinella negativo, 5 positivo; di queste ultime all' esame definitivo post-ALND: in 4 pazienti il linfonodo sentinella era l' unico metastatico, in una c' erano altri linfonodi metastatici
- 25 pz ALND: 20 con linfonodi ascellari negativi, 5 con linfonodi ascellari metastatici.
- Le pazienti venivano seguite con un follow-up semestrale, fino a 5 aa: delle 19 pz con sentinella negativo una ha sviluppato recidiva ascellare. Una pz

del gruppo di studio e' deceduta per evento indipendente dal precedente mammario( accidente cerebrovascolare acuto).

In seguito, la metodica è stata diffusamente applicata nella pratica clinica quotidiana, sia mediante reperimento con studio linfoscintigrafico, sia con iniezione di colorante vitale.

Inoltre, altri studi di validazione della tecnica ne hanno esteso l' indicazione anche a tumori di dimensioni maggiori (T1-T2) e linfonodi non palpabili, a forme estese di carcinoma in situ con sospetta microinvasione, tumori multifocali e/o multicentrici. Allo studio linfoscintigrafico è stato possibile aggiungere e/o utilizzare in alternativa l' identificazione mediante colorante vitale, come già dimostrato dagli studi pionieristici in materia, rendendo più pratica la tecnica anche per quanto concerne velocità, tempi organizzativi e costi economici.

Dal gennaio 2003 al giugno 2011, presso il nostro Dipartimento sono state trattate 2328 pz, di queste 724 hanno usufruito della biopsia selettiva del linfonodo sentinella per tumori T1-T2 fino a 3 cm con linfoscintigrafia o con colorante vitale. 203 su 724 avevano metastasi al linfonodo sentinella. 51/203 erano micro metastasi mentre 152/203 erano macro metastasi.

Quello presentato di seguito è uno studio retrospettivo su 51 casi con micro-metastasi al linfonodo sentinella ed il loro trattamento.

L' identificazione è stata possibile mediante linfoscintigrafia preoperatoria, iniezione di colorante vitale o entrambe le tecniche insieme. Nel corso dell'

intervento chirurgico il linfonodo sentinella viene valutato in sede intraoperatoria mediante striscio su vetrino e/o frozen section. In caso di positività del linfonodo sentinella si procede alla dissezione ascellare, altrimenti si rimanda la valutazione all' esame istologico definitivo dopo esteso campionamento del linfonodo.

Il discorso, così esposto, appare lineare e facilmente gestibile nella pratica clinica, tuttavia il chirurgo si deve confrontare spesso con un' altra realtà, diversa da quella citata nelle linee guida, e con pazienti timorose sul proprio futuro, che aspettano una risposta chiara e precisa, bianca o nera.

Purtroppo, con il progresso tecnologico, tale visione dicotomica delle cose non è più attuabile: vengono presentate tante sfumature, organizzate tante classi di rischio, sottoclassi, varianti, ognuna con una prognosi influenzata da ulteriori molteplici fattori (dipendenti dalle caratteristiche del tumore, dei linfonodi, dei fattori intrinseci della paziente) nella gestione della malattia.

L'argomento forse più controverso e fonte di dibattito a livello internazionale e oggetto negli ultimi anni di molteplici trial di studio ancora in corso è la presenza di micrometastasi nel linfonodo sentinella e la successiva gestione clinica della complessiva e quantitativamente variabile positività del linfonodo sentinella.

## **MATERIALI E METODI**

Dal Gennaio 2003 al Giugno 2011 sono giunte alla nostra osservazione, per carcinoma mammario 2328 pazienti, delle quali 724 sono state sottoposte ad asportazione del linfonodo sentinella.

Il giorno precedente la procedura le pazienti praticavano una linfo-scintigrafia (n=463-64%-), mediante l' iniezione di 800µ/ 150 ul di <sup>99m</sup>Tc- albumina umana nanocolloidale per via subdermica nelle lesioni palpabili, per via peritumorale su guida ecografia o stereotassica nelle lesioni non palpabili.

Sono state acquisite immagini planari in proiezione anteriore e laterale a partire da 15 minuti e, in caso di tardiva visualizzazione, fino ad un massimo di tre ore, poi una volta reperito il sentinella veniva posto un tatuaggio dell' area di proiezione cutanea del LS individuata con un repere radioattivo. Il linfonodo sentinella è stato localizzato in sala operatoria mediante l' ausilio di gamma-probe "NEO-PROBE 2000"( Ethicon Endosurgery).

L'identificazione del linfonodo sentinella mediante colorante vitale è stata utilizzata nei casi in cui la paziente ha rifiutato di sottoporsi alla metodica linfoscintigrafica, quando è stato necessario rilevare in sede intraoperatoria un LS dopo asportazione di lesione rivelatasi neoplastica al momento della biopsia, o per motivi organizzativi (n=261-36%-). Il colorante vitale è stato il patent blue o il blue di metilene.

La metodica consiste nell' iniezione subdermica o intracavitaria di 2 cc di colorante, seguita da un massaggio ghiandolare. Dopo circa 15 minuti si è potuto procedere ed il linfonodo è stato evidenziato per la colorazione bluastra.

In circa 333(46%) casi sono state associate entrambe le metodiche. Una volta asportato, il linfonodo è stato sottoposto ad esame intraoperatorio, che a discrezione del patologo poteva avvenire mediante la sola citologia per apposizione o la sezione al congelatore (FS).

L'esame intraoperatorio del linfonodo sentinella è stato fatto in oltre due terzi dei casi, evitato solo in casi particolari(linfonodi troppo piccoli, carcinoma duttale in situ o con microinvasione). Dato che il rischio di metastasi ai linfonodi non-sentinella è inversamente proporzionale al numero di linfonodi sentinella negativi asportati, il numero di sentinella asportati necessita di essere considerato.

Nella nostra casistica, il numero dei linfonodi sentinella asportati è variato negli anni, proprio in virtù delle recenti acquisizioni, ed in media sono stati asportati da 1 a 3 linfonodi sentinella.

Gli interventi chirurgici sono stati: trattamenti conservativi (BCS) in 659(91%) casi e mastectomia in 65 (9%) casi.



## **RISULTATI**

In 203(28%) casi il linfonodo sentinella è risultato positivo all' esame definitivo.

In 51 (7%) casi è stata rilevata la presenza di micrometastasi al linfonodo sentinella.

L'età delle pazienti variava da 37 a 81 anni (età media: 52 anni).

La maggior parte (n=536) presentava un tumore palpabile (74%) T1-T2, mentre presentava una massa non palpabile o alterazioni radiologiche alla mammografia il 26%(n=188)

L'esame istologico definitivo ha mostrato (vd. Grafico 1): carcinoma duttale invasivo nel 70% delle pazienti, un carcinoma lobulare invasivo nel 17%, carcinoma lobulare invasivo con carcinoma duttale invasivo nel 4%, carcinoma tubulare nel 3%, carcinoma duttale in situ 6%. C'è stato un caso di tumore neuroendocrino.

Delle 51 pazienti con linfonodo sentinella micro metastatico, in 37(72%) casi la diagnosi è stata fatta sull' intraoperatoria, mediante citologia e FS, pertanto si è

proceduto ad ALND. All' esame istologico definitivo del linfonodo sentinella la diagnosi di micrometastasi è stata confermata in 30 (58%) casi, mentre in 14 (27%) c'è stato un upstaging delle micrometastasi a macrometastasi sulle definitive, mentre 7 (15%) pazienti hanno avuto un downstaging per la presenza alle definitive di cellule isolate sparse (ITC) in 5 casi e di linfonodi liberi da neoplasia in 2 casi.

In due pazienti l'esame istologico intraoperatorio ha dato linfonodi in iperplasia reattiva, mentre le sezioni definitive hanno mostrato la presenza di micrometastasi nel sentinella: in una paziente si è proceduto ad ALND da cui è emerso che il sentinella era l' unico coinvolto; nell' altra paziente erano stati inviati anche due linfonodi parasentinella sui quali non era stato praticato esame intraoperatorio, ma che sono risultati liberi alle definitive, pertanto si è ommesso ogni ulteriore intervento chirurgico.

In 14 casi (27%), la valutazione intraoperatoria del linfonodo sentinella non è stata fatta per le dimensioni troppo piccole dei linfonodi, anche per facilitare la valutazione sulle sezioni definitive, come spesso consigliato dagli stessi patologi.

L'esito finale ha rivelato la presenza di micrometastasi, e su due o tre linfonodi sentinella asportati, uno solo è risultato micrometastatico, pertanto, in relazione anche a vari fattori, quali le dimensioni ridotte del tumore primitivo (T1b, qualche T1c), il grado di malignità (G1-G2), la presenza di varianti a prognosi favorevole (tubulare, cribriforme, mucinoso puro), o fattori legati alla paziente stessa (età avanzata, rifiuto a sottoporsi ad un ulteriore intervento chirurgico), l' ALND di salvataggio è stata praticata in circa 4 casi (28%) e non vi erano all' istologia definitiva altri linfonodi interessati. Nel gruppo delle restanti 10 pazienti con sentinella micro metastatico non

sottoposte ad ALND non si sono evidenziati a breve (nei primi 24 mesi) ed a 5 anni eventi legati alla malattia (dato che la dissezione ascellare di salvataggio ha l' unico scopo di migliorare il controllo loco-regionale della malattia).

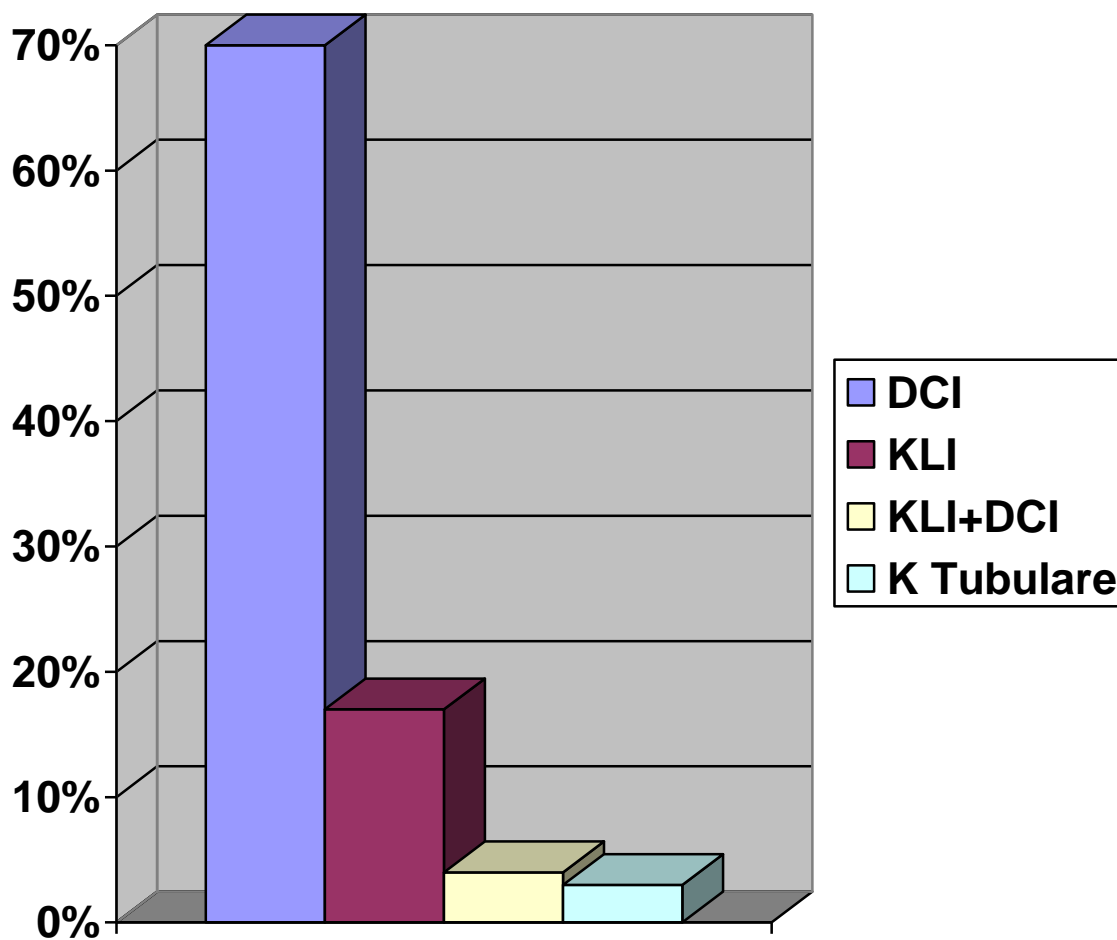
Quando è stata praticata la dissezione ascellare per LS effettivamente micro metastatici (n=30-58%-) sia all' esame intra-operatorio che all' istologia definitiva, in 2 casi era presente metastasi ad un linfonodo non-sentinella, mentre per le altre pazienti, il sentinella è risultato l'unico linfonodo interessato. Nei casi di cellule isolate tumorali, non si è proceduto oltre.

Delle 152 pazienti con macro-metastasi al sentinella 84 presentavano metastasi agli altri linfonodi ascellari dopo dissezione ascellare.

La percentuale di Falsi Positivi per micrometastasi della FS nella nostra esperienza è stata circa il 5%, come pure i Falsi Negativi sono stati all' incirca il 5%.

Ad un follow-up di 108 mesi, una sola paziente, del gruppo delle 152 con sentinella positivo , è deceduta per metastasi a distanza. Nel gruppo con micrometastasi, non sono stati allo stato attuale riscontrati eventi legati alla patologia, a distanza o loco-

regionali.



**Grafico 1:** Distribuzione per varianti istologiche su 724 casi

## **DISCUSSIONE**

Lo stato linfonodale ascellare rappresenta il più importante fattore prognostico per donne con carcinoma mammario per decidere la successiva terapia adiuvante e/o predire l' outcome delle pazienti.

La biopsia del linfonodo sentinella è nata come alternativa alla tecnica della dissezione ascellare(ALND) nella valutazione dello stato linfonodale in pazienti con carcinoma mammario ed ascella clinicamente negativa.

Attualmente pazienti con LS negativo non vengono sottoposte a dissezione ascellare, mentre tale procedura è indicata in quelle con LS positivo.

ALND è indicata in queste pazienti per ottenere un adeguato controllo loco-regionale dell'ascella. In uno studio retrospettivo di Takei et al., dove il LS veniva esaminato con sezioni di taglio ad intervalli di 2 mm, recidiva ascellare si ebbe solo in due (0,6%) di 459 pazienti con LS positivo sottoposte ad ALND, con un periodo di follow-up medio di 34 mesi. Pertanto ALND è altamente efficace nel prevenire recidive ascellari in pz con macrometastasi al LS.

Tuttavia, la questione sorge se l'intervento è effettivamente necessario in tutte le pazienti con LS positivo. E' stato visto che pazienti con metastasi ai linfonodi ascellari, non sempre sviluppano recidive ascellari, anche se non trattate. Nel trial NSABP-04, donne con linfonodi clinicamente negativi venivano divise in maniera random in 3 gruppi: mastectomia radicale, mastectomia totale con irradiazione linfonodale, o mastectomia totale con eventuale ALND solo dopo recidiva ascellare; ad un follow-up di 25 anni non ci sono state significative differenze di sopravvivenza fra i vari gruppi. Inoltre solo il 19% delle pazienti senza ALND sviluppa recidive ascellari, mentre la frequenza attesa di linfonodi istologicamente positivi era del 40%. Inoltre, la terapia radiante consente un efficace controllo loco-regionale, infatti dopo Breast Conserving Surgery (BCS), la radioterapia convenzionale comunque copre i linfonodi del I livello. La successiva terapia sistemica adiuvante potrebbe eradicare eventuali macrometastasi nei linfonodi non-LS (nLS) e ridurre il rischio di recidiva locale. Ci sono molti studi multicentrici in corso, fra questi l' AMAROS, in cui pazienti con LS positivo vengono assegnate in maniera random al gruppo da sottoporre ad ALND o al gruppo che riceve radioterapia ascellare. In questo studio è stato ipotizzato che entrambe le metodiche possano garantire un buon controllo regionale e sopravvivenza. Fino alla conclusione del trial, tuttavia, ALND rimane l'unico trattamento indicato.

## **IL MANAGEMENT DELLE MICROMETASTASI DEL LS**

C'è un dibattito aperto riguardo il significato prognostico delle “micrometastasi”, sebbene questo termine, usato per indicare lesioni comprese tra 0.2 mm e 2 mm derivasse dall'osservazione che lesioni di queste dimensioni non fossero clinicamente rilevanti. Inoltre, è controversa la decisione sul trattamento ulteriore da proporre a queste pazienti, chirurgico (ALND) o meno. È stato dimostrato che l'85-90% delle pazienti con micrometastasi al LS non avevano malattia nei rimanenti linfonodi (nLS). Questi risultati non solo forniscono evidenza al concetto del LS, ma suggeriscono che la dissezione ascellare può essere evitata in queste pazienti. Si è concordi infatti nel ritenere che l'asportazione di linfonodi negativi non comporti alcun beneficio. Per identificare la classe di pazienti che più delle altre potrebbe evitare l'ALND, molti studi sono stati condotti per valutare l'incidenza di metastasi nei linfonodi nLS. Chu et al., Reynolds et al., hanno riscontrato una relazione fra pazienti con T1 e linfonodi non palpabili con micrometastasi al LS e l'assenza o la bassa prevalenza di metastasi nei nLS. Questi studi esaminano un campione di pazienti ridotto, pertanto altri studi con lo stesso obiettivo ma che arruolano un più vasto numero di pazienti sono stati organizzati e mostrano una percentuale di metastasi ai nLS del 14-22%. In una metanalisi di 11 studi, Degen et al., hanno rilevato che dimensioni del tumore >2 cm, la presenza di invasione linfovaskolare, l'aumento delle dimensioni delle metastasi al

LS o l' estensione extranodale sono correlati ad un più alto rischio di metastasi ai nLS. Tuttavia non è stato possibile identificare una categoria di pazienti attraverso una singola caratteristica che consenta di dimostrare un rischio di metastasi ai nLS < 10%, e che potrebbe quindi evitare una dissezione ascellare.

Il volume del deposito metastatico al LS sembra essere importante nella stima del rischio di ulteriori metastasi linfonodali, per cui minore sarà il deposito nel Ls e più bassa sarà la percentuale di metastasi nei nLS. In un recente studio austriaco, i LS di pazienti con tumori privi di invasione linfovaskolare peritumorale e con deposito linfonodale inferiore a 0,5 mm erano associati ad un minore coinvolgimento dei nLS (8,5%) rispetto al gruppo con micrometastasi in generale(23%) o con macrometastasi (51%). In una recente pubblicazione di Viale et al., LS con micrometastasi > di 1 mm sarebbero associati ad un rischio del 36 %, mentre depositi >di 0,5 mm ma < ad 1 mm avrebbero un rischio del 16%.

Dato che l'85-90% delle donne con LS micrometastatici non ha malattia ai nLS, la maggior parte di queste pazienti potrebbe evitare l' ALND. In più, la radioterapia postoperatoria e la terapia adiuvante potrebbero eradicare eventuali micrometastasi nel nLS più efficacemente delle micrometastasi.

In uno studio retrospettivo, Takei et al., hanno riportato su 822 pazienti con LS negativo, ma con tagli di sezione istologica ad intervalli di 2 mm, e quindi un' alta percentuale di non reperimento di micrometastasi, una percentuale di recidiva ascellare dello 0,5% ( solo 4 pazienti).



Nonostante tutte le linee guida ASCO raccomandano l'uso routinario dell'ALND in pazienti con LS micrometastatico, mentre non vengono poste indicazioni riguardo le cellule isolate tumorali (ITC). In assenza di dati da studi randomizzati, perciò, l'impatto a lungo termine della biopsia del solo LS sul rischio di recidiva ascellare e sulla sopravvivenza in queste pazienti resta incerto. Si attendono risultati dai maggiori studi clinici randomizzati in corso: il trial NSABP B-32 e l'Axillary Lymphatic Mapping Against Nodal Clearance (ALMANAC) trial. Mentre sono stati recentemente pubblicati i risultati di un'importante studio clinico randomizzato:

l'American College of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) Z0011 in cui dal maggio 1999 al dicembre 2004, 891 pazienti con tumore T1-T2, linfonodi non palpabili, sottoposte a terapia conservativa e irradiazione dell'intera mammella (comprendente anche l'ascella) e metastasi al SLN sono state suddivise in due gruppi, il primo sottoposto ad ALND di almeno 10 linfonodi ed il secondo senza dissezione, con eventuale supporto di terapia adiuvante per entrambi i gruppi. La disease free-survival è stata a 5 anni superiore al 90% per i due gruppi, mentre recidive ascellari a 5 anni si sono avute nel 2.5% del gruppo senza dissezione ascellare vs. il 3.6% del gruppo ALND; addirittura, nel gruppo ad alto rischio (ER-, PR-) la mancata ALND non influirebbe sulla sopravvivenza.

Criteri di esclusione: malattia ad estensione extra-linfonodale, 3 o più SLN presi, terapia neo-adiuvante, irradiazione parziale, pazienti sottoposte a mastectomia.

Pertanto, alla luce di questi dati recenti, ed in attesa degli altri trials clinici in corso, molto potrebbe cambiare nel trattamento globale delle pazienti, chirurgico e

medico, rinfrescando la teoria sistemica di Fisher, ma soprattutto in termini di riduzione delle fastidiose complicanze chirurgiche associate alle linfadenectomie di salvataggio.

## **CELLULE TUMORALI ISOLATE SPARSE (ITC) NEL LS**

La classificazione TNM dell' UICC descrive le cellule isolate tumorali come singole cellule o piccoli clusters di cellule che misurano meno di 0,2 mm nel diametro massimo, che non mostrano evidenza di attività metastatica o penetrazione della parete dei vasi o dei linfatici del seno.

Anche se la procedura di valutazione istologica del LC è molto accurata, la loro rilevazione è considerato un evento casuale e non ricercato.

Il dubbio è se queste cellule possano predire una riduzione della sopravvivenza se paragonato a LS privi di ITC e se possono beneficiare di ulteriori trattamenti (ALND o CT).

Tuttavia, recenti studi suggeriscono che un successivo interessamento linfonodale può essere atteso in queste pazienti. Viale et al., hanno riportato che non c'è differenza significativa di rischio di sviluppare metastasi ai NLS in queste pazienti ed in quelle con micrometastasi, in quanto metastasi nei nLS sono state ritrovate in entrambi i gruppi. Calhoun et al., mostrano un rischio di focolai metastatici nei nLS inferiore al 5% in pazienti con ITC dopo ALND; inoltre ad un follow-up medio di 80.5 mesi, non

ci sono stati casi di recidive locali e/o sistemiche fra le pz che non si erano sottoposte ad ALND.

Una recente analisi suggerisce che le ITC e le micrometastasi hanno entrambe valore prognostico: pazienti con queste lesioni avrebbero un profilo di metastasi a distanza ed una disease-free survival a 5 anni peggiore delle pazienti con LS negativi; le ITC sembrano influenzare meno le metastasi a distanza, ma sarebbero associate ad un più alto rischio di recidiva locoregionale. Al contrario, la sopravvivenza globale non varia rispetto alla popolazione di riferimento.

E' d'uopo considerare poi i meccanismi biologici della metastatizzazione, che necessita di invasione cellulare, adesione ed angiogenesi, e depositi metastatici minimi di 1-2 mm potrebbero non innescare del tutto l' angiogenesi e rimanere occulti.

L' ipotesi della cellula staminale, per cui una popolazione di cellule cancerose consiste di un piccolo numero di cellule cancerose staminali che facilitano la progressione tumorale, ed un numero maggiore di cellule cancerose non- staminali dormienti. Si è ipotizzato che la presenza delle sole cellule staminali nel deposito metastatico sia cruciale per lo sviluppo e la crescita di questi foci, e senza di esse tali depositi sarebbero destinati a scomparire per fenomeni apoptotici o a restare silenti nel tempo.

In tutte le pubblicazioni precedenti il 2002, ed in molte altre successive, il termine micrometastasi includeva anche la categoria delle ITC, ed il coinvolgimento linfonodale veniva spesso classificato in base al metodo utilizzato per l' esame istologico (HE vs. IHC) e non in base alla dimensione o alle caratteristiche qualitative che potrebbero distinguere le ITC dalle micrometastasi.

L' European Working Group for Breast Screening Pathology (EWGBSP) ha evidenziato che il termine micrometastasi veniva usato nel 92% dei 232 laboratori di patologia esaminati, ma con 17 diverse definizioni (solo l' 81% delle quali conforme alla definizione TNM), mentre il termine ITC era usato nel 71% delle istituzioni con 10 diverse definizioni (solo il 43% conforme all' originale). Ciò ha senz' altro spostato l' attenzione sull' influenza del patologo nell' identificazione dei LSs positivi. Una ricerca dell' International Breast Cancer Group ha mostrato una percentuale di mancata rilevazione di metastasi nel LS durante controlli in un laboratorio di riferimento centrale pari al 4%.

Un lavoro di Roberts et al., ha dimostrato che in una serie di 25 LS rappresentati da una sola sezione all' HE ed una con IHC, 10 patologi hanno dato diagnosi unanime solo nel 12%( tre casi); e quando i LS contenevano più di 10 cellule metastatiche, almeno tre patologi non le rilevavano.

Con l' utilizzo dell' IHC ci si attende una sovrastima per LS positivi del 6-13% rispetto alla metodica standard. La presenza di questi dati discordanti riguardo l' interpretazione istologica introduce un'ulteriore considerazione: i lavori in cui vengono considerati i LS e le micrometastasi secondo l' attuale classificazione TNM, potrebbero essere sbagliati nelle loro conclusioni, in quanto derivanti da un' errata interpretazione istopatologica a monte che avrebbe portato ad includere nel quadro delle micrometastasi molte ITC.

## I FALSI POSITIVI

Alcuni LS possono contenere in sede sotto capsulare cellule nevice che possono sembrare micrometastasi all' esame istologico, ma l' IHC può risolvere il caso.

L'IHC a sua volta può identificare non solo cellule tumorali nel LS, ma colorare anche rare inclusioni epiteliali benigne, cellule dendritiche e residui cellulari trasportati dalle mani del tecnico o dalla lama da bisturi. Riguardo le ITC, si è diffusa l' ipotesi di un loro possibile trasporto passivo al LS. Citologie diagnostiche, procedure di localizzazione, massaggio o l' intervento chirurgico stesso (biopsia escissionale) possono farle diffondere attraverso i linfatici al LS.

L' esame istologico non può dirimere fra la metastatizzazione precoce e l' inoculo iatrogeno, pertanto si può avere una sovrastima del LS. Tuttavia, il fatto che le ITC rientrino nella categoria pNo potrebbe risolvere il problema della valutazione clinica. Inoltre i risultati a breve termine non hanno mostrato prognosi peggiore per le pazienti con LS positivi alle sole citokeratine-IHC.

La valutazione istopatologica intraoperatoria per identificare metastasi al linfonodo sentinella è argomento alquanto controverso. Molti utilizzano le sezioni al congelatore(Frozen Section), con una sensibilità variabile dal 68% all' 87% ed un' accuratezza dal 91% al 93%. Su quattro studi è stato evidenziato un solo caso di falso positivo, e la sensibilità è minore per le micrometastasi.

La FS ha degli effetti collaterali: una parte del campione può andare perduta durante il congelamento, il che può complicare la valutazione sulle sezioni permanenti del LS;

artefatti possono venire introdotti durante il congelamento; richiede una quantità di tempo maggiore. Per ovviare a tutto questo si ricorre alla citologia per apposizione su vetrino intraoperatoria del LS, esaminato con colorazione “touch prep”. Rubio et al., hanno riportato un’ accuratezza diagnostica del 99% su 55 casi.

Entrambe le metodiche possono essere utilizzate insieme o alternate, in base al giudizio del chirurgo e del patologo.

## CONCLUSIONI

La biopsia selettiva del linfonodo sentinella è nata per valutare lo stato linfonodale ascellare ed evitare interventi chirurgici non necessari in pazienti con node-negative breast cancer.

Allo stato attuale, pazienti con LS negativo non vengono sottoposte a dissezione ascellare, mentre questa procedura è indicata in caso di LS positivo. Tuttavia, il dibattito sorge sulla necessità di praticare la linfectomia ascellare in tutte le pazienti con LS positivo. Infatti, pazienti con metastasi ascellari, non sempre sviluppano recidive ascellari, anche se non trattate.

Inoltre, la linfectomia ascellare di salvataggio può essere praticata facilmente senza rischio di sequele chirurgiche in seguito, in pazienti con malattia ascellare in progressione, anche se sviluppano recidive ascellari.

L'utilizzo della dissezione ascellare in pazienti con micrometastasi, è ancora controverso. Recenti studi retrospettivi su pazienti selezionate per avere avuto micrometastasi al LS e non aver praticato ALND, suggeriscono che questa sottoclasse di pazienti non abbia rischio maggiore di sviluppare recidive locoregionali.

Alcuni autori hanno studiato la prognosi di queste pazienti non sottoposte ad ALND. Fan et al., hanno visto che una paziente su 27 con una micrometastasi, non sottoposta ad ALND ha sviluppato recidiva locale e sistemica 17 mesi dopo la chirurgia (mastectomia). Nagashima et al., hanno riportato solo un caso di recidiva ascellare in una paziente dopo 24 mesi. Tuttavia, c'è da puntualizzare che molte volte la dissezione ascellare non viene praticata anche per scelta della paziente dopo consultazione con i medici. Recidive locali e sistemiche associate a malattia residua in pazienti con LS positivo eleggibile a non avere ulteriori trattamenti chirurgici non sono state osservate in un periodo di osservazione lungo. Pertanto, l'ALND potrebbe essere omessa in caso di micrometastasi per la bassa prevalenza di metastasi ai non-sentinella. Per alcuni Autori l'asportazione chirurgica di malattia subclinica linfonodale è associata ad un beneficio in termini di sopravvivenza minimo, ma comunque superiore a zero, mentre per altri la terapia sistemica adiuvante e /o radiante sarebbe adatta a trattare tutte queste pazienti adeguatamente.

Le micrometastasi probabilmente influenzano la prognosi ed il management del carcinoma mammario.

Studi clinici randomizzati ancora in corso potranno sicuramente aiutare a risolvere i quesiti inerenti il trattamento delle micrometastasi nei prossimi anni.



## **BIBLIOGRAFIA**

1. Andersen JA, Schiodt T: On the concept of carcinoma in situ of the breast. *Pathol Res Pract*, 166: 407-414, 1980.
2. Bland Kirby I., Copeland E.: *The Breast*. Saunders, Philadelphia, 1998.
3. Bonifacino A., Budzar A.U., Halliwell M.: *Carcinoma della Mammella*. Poletto editore, Milano, 1999.
4. Calhoun KE, Hansen NM, Turner RR, Giuliano AE. Nonsentinel node metastases in breast cancer patients with isolated tumor cells in the sentinel node: implications for completion axillary lymph node dissection. *Am J Surg* 190: 588-591, 2005

5. Chung M.H., Ye W., Giuliano AE: Role for sentinel lymph node dissection in the management of large ( $>$  or  $=$  5 cm) invasive breast cancer. *Ann Surg Oncol* 8: 688-692, 2001.
6. Cody HS III. Sentinel lymph node biopsy for DCIS: are we approaching consensus? *Ann Surg Oncol* 14: 2179-81,2007.
7. Cox C.E., Cox J. M.,et al.: Intramammary sentinel lymph nodes : what is the clinical significance? *Ann Surg Oncol* 5: 1273-1274, 2008.
8. Cserni G., Gregori D., Merletti F., et al.: Meta.analysis of non-sentinel node metastases associated with micrometastatic sentinel nodes in breast cancer. *Br J Surg*, 91: 1245-52, 2004.
9. Cserni G: What is a positive sentinel lymph node in a breast cancer patient? A practical approach.. *The Breast* 16: 152-160, 2007.
- 10.Degnim AC, Griffith Ka, Sabel MS, et al.: Clinicopathologic features of metastases in non-sentinel lymphnodes of breast carcinoma patients.*Cancer*, 98: 2307-15, 2003.

11. Elmor J., Barton M., Mocerri V., Polk S., Arena P., Fletcher S.: Ten -years risk of false positive screening mammograms and clinical breast .NEJM 338:1089-1096,1998.
12. Giuliano A.E., Hunt K.K., Ballman K.V., et al.: Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis JAMA. 2011 Feb; 305(6): 569-575.
13. Guth AA, Mercado C., Roses DF. Et al.,: Intramammary lymph nodes and breast cancer: a marker for disease severity, or just another lymph node? Am J Surg 192: 502-505, 2006
14. Intra M., Garcia-Etienne CA, et al.,: When sentinel lymph node is intramammary. Ann Surg Oncol 2007.
15. Julian TB: Is sentinel node biopsy necessary in conservatively treated DCIS? Ann Surg Oncol. 2007 Aug;14(8):2179-81
16. Kelley M., Hansen N., et al., : Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. Am J Surg 188: 49-61, 2004.
17. Lagios MD, Silverstein MJ: DCIS: Trough a glass, darkly

18. Lenington WJ, Jensen RA, Page DL: Ductal carcinoma in situ of the breast: heterogeneity of individual lesions. *Cancer* 73:118-124,1994.
19. Maaskant-Braat A.J., Lonneke V., Voogd A.C., et al.: Sentinel node micro metastases in breast cancer do not affect prognosis: a population- based study. *Breast Cancer Res Treat*, 2011; 127: 195-203
20. Noguchi M.: Avoidance of axillary lymph node dissection in selected patients with node-positive breast cancer. *EJSO* 34: 129-134, 2008.
21. Page DL: The woman at high risk for breast cancer. Importance of hyperplasia. *Surg Clin North Am* 76:221-230,1996.
22. Pastore G., Marano P., Romani M., Costantini M., Belli P.: Revisione critica di 215 casi di lesioni non palpabili della mammella. *Radiol Med* 97:344-348,1999.
23. Reynolds C, Mick R, Donohue JH, et al.: Sentinel lymph node biopsy with metastases: can axillary dissection be avoided in some patients with breast cancer? *J Clin Oncol*,17: 1720-6, 1999.
24. Rosen PP: Clinical implications of preinvasive and small invasive breast carcinoma. *Pathol Ann* 16: 337-356, 1981.

25. Rosen PP: Lobular carcinoma in situ and intraductal carcinoma of the breast. *Monogr Pathol* 25: 59-105, 1984.
26. Rubio IT.: Positive sentinel lymph node: new controversies regarding axillary node dissection. *J Surg Oncol*, 93: 517-8, 2006.
27. Sato K: Clinical trials for sentinel node biopsy in patients with breast cancer. *Breast cancer* 14: 31-36, 2007.
28. Shen J, Gilcrease MZ, Babiera GV.: Feasibility and accuracy of sentinel lymph node biopsy after preoperative chemotherapy in breast cancer patients with documented axillary metastases. *Cancer* 109: 1255-1263, 2007.
29. Shen J, Hunt KK, Mirza NX, et al.: Intramammary lymph node metastases are an independent predictor of poor outcome in patients with breast carcinoma. *Cancer* 101: 1330-7, 2004.
30. Singletary S: Revision of the American Joint Committee on Cancer Staging System for –Breast Cancer. *J Clin Oncol* 20: 3628-3636, 2002
31. Takei H., Kurosumi M, et al.: Current trends of sentinel lymph node biopsy for breast cancer- a surgeon's perspective. *Breast Cancer* 14: 362-370, 2007.

32. Viale G., Maiorano E., Pruneti G., et al.: Predicting the risk for additional axillary metastases in patients with breast carcinoma and positive sentinel lymph node biopsy. *Am Surg* 241: 319-25, 2005.
33. Veronesi U.: *Manuale di Senologia Oncologica*. Masson editore, Milano, 1995.
34. Veronesi U.: *I tumori della mammella*. Forza Operativa Nazionale sul Carcinoma Mammario. Pubblicato dalla Società Italiana di Senologia, Gennaio 2002.
35. Wada N., Imoto S.: Clinical evidence of breast cancer micrometastasis in the era of sentinel node biopsy. *Int J Clin Oncol* 13: 24-32, 2008.
36. Wahedna Y., Evans A.J., Pinder S., Ellis I., Blamey R.W., Geraghty J.: Mammographic size of ductal carcinoma in situ does not predict the presents of an invasive focus. *Eur J Cancer* 37:459-462,2001.
37. White RL, Wilke LG: Update on the NSABP and ACOSOG breast cancer sentinel node trials. *AmSurg* 70: 420-424,2004.
38. Wong SL, Chao C., et al.: Accuracy of sentinel lymph node biopsy for patients with t2 and t3 breast cancers. *Am Surg* 67: 522-528, 2001.

39. Zanetti R., Crosignani P., Rosso S.; Il cancro in Italia. I dati di incidenza dei registri tumori. Pensiero Scientifico, Roma., 1997