

## Micrometastasi nel linfonodo sentinella e fattori predittivi per metastasi nei linfonodi non sentinella nel carcinoma della mammella

V.L. TROILO, G. D'EREDITÀ, F. FISCHETTI, R. INDELLICATO, T. BERARDI

Dipartimento di Metodologia Clinica e Tecnologie Medico-Chirurgiche  
Centro Interdipartimentale di Ricerca sullo "Studio delle Malattie della Mammella" (Direttore: Prof. T. Berardi)  
U.O.S. Chirurgia della Mammella (Responsabile: Prof. G. D'Eredità)  
Università degli Studi di Bari

**SUMMARY:** Sentinel lymph node micrometastasis and predictive factors for metastasis in non-sentinel lymph nodes in breast cancer.

V.L. TROILO, G. D'EREDITÀ, F. FISCHETTI, R. INDELLICATO, T. BERARDI

***Aim:** The increasing number of sentinel lymph node biopsy in patients with early stage breast cancer increased the diagnosis of micrometastasis. The clinical importance of micrometastasis is still discussed. The aim of this study is to evaluate the incidence and the risk factors for metastasis in the axillary non-sentinel lymph nodes in patients with early stage breast cancer and micrometastatic sentinel lymph node.*

***Method:** Data about the axillary sentinel and non-sentinel lymph nodes collected from January 2000 to December 2008 were reviewed retrospectively. In the patients with micrometastatic sentinel lymph nodes, the incidence of non-sentinel metastasis was correlated with some features of the primary tumour, such as the T status, the grading, the proliferation index and the peritumoral lymphovascular invasion. Statistical univariate analysis was performed.*

***Results:** The sentinel lymph node biopsy was performed in 370 patients with early stage breast cancer, and 87 metastatic lymph nodes were found. Macrometastasis were 63, micrometastasis were 23 and only 1 case of isolated tumour cells was found. In the patients with micrometastatic sentinel lymph node, 7 patients (30,4%) had involvement of non-sentinel lymph nodes. The grading, the proliferation index and the peritumoral lymphovascular invasion were statistically significant.*

***Conclusions:** The presence of micrometastasis in the sentinel lymph node is associated to a high risk of metastasis in the non-sentinel lymph nodes, specially in tumours with aggressive features, such as high grade, high mitotic pattern, peritumoral lymphovascular invasion. These results suggest that even in micrometastatic sentinel lymph nodes we must perform axillary lymph node dissection.*

**KEY WORDS:** sentinel lymph node, micrometastasis, axillary lymph node dissection.

Corrispondenza Autore:  
Dott. Vito Leopoldo Troilo  
Via Cappuccini, 71/d - 70017 Putignano - Bari  
E-mail: vtroilo@libero.it

© Copyright 2009, CIC Edizioni Internazionali, Roma

### Introduzione

Nel carcinoma mammario lo stato linfonodale loco-regionale rappresenta il fattore prognostico più importante, pertanto la biopsia del linfonodo sentinella (BLS) si è ormai affermata come procedura di staging dei linfonodi ascellari essendo associata anche ad una minore morbidità rispetto alla linfectomia completa. L'obiettivo della BLS o della linfectomia ascellare non è quindi solo quello di migliorare il controllo loco-regionale della malattia, ma anche di acquisire informazioni diagnostiche per guidare una eventuale terapia sistemica al fine di migliorare la prognosi. Attualmente il linfonodo sentinella (LS) con micro o macrometastasi impone l'esecuzione della linfectomia ascellare. L'obiettivo di questo studio è di valutare la probabilità di metastasi nei linfonodi non sentinella in pazienti con LS positivo per micrometastasi.

### Metodi

Da Gennaio 2000 a Dicembre 2008 presso l'U.O.C. di Chirurgia "G. Marinaccio" dell'Università di Bari, 370 pazienti sono stati sottoposti a biopsia del linfonodo sentinella per carcinoma mammario. Il linfonodo sentinella è stato identificato con doppio tracciante (blu di metilene e <sup>99m</sup>Tc-albumina). Le metastasi nel linfonodo sentinella sono state distinte in macrometastasi, micrometastasi e cellule tumorali isolate (ITC) secondo le linee guida della AJCC 6<sup>th</sup> Edition. Tutti i pazienti con linfonodo sentinella positivo sono stati sottoposti a linfectomia completa del cavo ascellare. Tutti i linfonodi sentinella sono stati esaminati con sezioni dello spessore di 4 µm, eseguite ad una distanza di 250 µm, e colorate con Ematossilina-Eosina riservando le tecniche di immunistochemical sola-

mente ai casi risultati negativi dopo la prima colorazione. Nel gruppo dei pazienti con linfonodo sentinella positivo per micrometastasi sono stati esaminati in una analisi univariata i seguenti parametri: dimensioni del tumore, grading, invasione linfovaskolare peri-tumorale (ILV), indice di proliferazione cellulare (Ki67) utilizzando il test del  $\chi^2$ . I valori di  $P < 0.05$  sono stati considerati significativi.

## Risultati

I pazienti che hanno eseguito la BLS sono stati 370, con identificazione del linfonodo in 368 casi (99.5%), per un numero complessivo di linfonodi sentinella pari a 638 e con una media di 1,73 linfonodi per paziente (range 1-8). Tutti i pazienti con linfonodo sentinella positivo sono stati sottoposti a linfectomia ascellare completa, con una media di linfonodi asportati pari a 18,4 (range 6-46). I linfonodi sentinella risultati positivi per metastasi sono stati 87: rispettivamente 63 con macrometastasi, 23 con micrometastasi e 1 con ITC. Fra i pazienti con macrometastasi, 55/63 pazienti (87,3%) avevano metastasi anche nei linfonodi non sentinella, con una media di linfonodi coinvolti pari a 5,6 (range 1-21). Nel gruppo dei pazienti con micrometastasi, 7 pazienti (30,4%) avevano metastasi nei linfonodi non sentinella, con una media pari a 3,85 linfonodi metastatici. Da segnalare come uno solo di questi pazienti avesse metastasi massive in 12 linfonodi ascellari. L'unico paziente con ITC nel linfonodo sentinella aveva micrometastasi in un solo linfonodo ascellare. I risultati della nostra analisi statistica sono elencati in tabella 1 (Tab. 1).

## Discussione

L'obiettivo della BLS è innanzitutto quello di assicurare una corretta stadiazione del cavo ascellare cercando di evitare, ove possibile, una non necessaria linfectomia ascellare. Il modello meccanicistico di diffusione loco-regionale del carcinoma mammario, proposto da Halsted, considera la diffusione centrifuga delle metastasi da stazione a stazione con effetto cumulativo, e questo ne ha giustificato il trattamento chirurgico demolitivo. Recentemente si è proposto un modello biologico che considera il carcinoma mammario come una malattia sistemica e disseminate micrometastasi già dall'inizio, suggerendo che il comportamento delle micrometastasi abbia un ruolo determinante per la prognosi. Anche se la BLS risponde al modello meccanicistico, nella chirurgia moderna ha invece un ruolo puramente di staging e di guida per la linfectomia ascellare o altre terapie. Con l'introduzione della BLS, i progressi nella diagnosi istopatologica e nell'analisi molecolare si è avuto anche un incremento nella diagnosi delle micrometastasi; tuttavia, il loro significato e il successivo trattamento dell'ascella sono oggetto di discussione. Anche se la distinzione fra micrometastasi e macrometastasi è quantitativa piuttosto che qualitativa, la sopravvivenza dei pazienti dipende soprattutto dal numero dei linfonodi metastatici. Le micrometastasi, nonostante siano considerate come una entità di modesto rilievo, sono associate ad una prognosi peggiore rispetto alle pazienti N0. Inoltre, il rischio di mortalità aumenta in maniera lineare con il numero di linfonodi positivi. In una review di Dowlatschahi et al, le micrometastasi sono state associate ad una peggiore prognosi (1). Anche Truong et al. hanno dimostrato che la sopravvivenza libera da malattia (SLM) e la sopravvivenza globale (SG) dopo un follow-up di 10 anni nelle

TABELLA 1 - VARIABILI PREDITTIVE PER METASTASI NEI LINFONODI NON SENTINELLA.

	Metastasi linfonodali		No metastasi linfonodali		$\chi^2$	df <sup>a</sup>	P
	N.	%	N.	%			
ILV							
Presente	5	62.5	1	6.2	6.250	1	0.01
Assente	3	37.5	15	93.7			
Ki 67							
<20%	4	50	0	0	6.338	1	0.01
>20%	4	50	16	100			
Grading							
G1-G2	2	25	13	81.2	5.000	1	0.02
G3	6	75	3	18.8			
Dimensione (T)							
T1	3	37.5	13	81.2	2.833	1	0.09
T2	5	62.5	3	18.8			

<sup>a</sup> Gradi di libertà.

pazienti pT1mic era significativamente inferiori rispetto a quelle pN0 (SLM 82,3% vs 91,1%, SG 68,1 vs 75,5%) (2). Al contrario, ci sono Autori che hanno dimostrato che fino al 67% dei carcinomi mammari con metastasi nel LS non ha metastasi negli altri linfonodi; questo suggerirebbe di evitare la linfettomia ascellare in alcuni pazienti (3). Sono molti gli autori che hanno cercato di identificare le caratteristiche del tumore che possano essere predittive per l'interessamento linfonodale. Gli studi pubblicati hanno mostrato risultati divergenti riguardo il significato delle micrometastasi e delle ITC. Fisher et al. riportano un elevato tasso di recidiva loco-regionale e peggiori prognosi nelle pazienti con linfonodi micro metastatici dopo un follow-up di 4 anni (4, 5). Recentemente Chen et al. hanno dimostrato che la presenza di micrometastasi comporta una prognosi intermedia fra pazienti N0 e N1 (6). In un ampio studio retrospettivo che includeva 10.000 pazienti, Kuijt et al. hanno dimostrato come la presenza di micrometastasi sia legata ad una peggior prognosi rispetto al gruppo N0, anche se questo risultato era statisticamente significativo solo nelle pazienti che non avevano eseguito chemioterapia (7). In uno studio prospettico su pazienti con tumore allo stadio 1, l'International Ludwig Breast Cancer Study Group ha riportato una sopravvivenza disease-free del 58% nelle pazienti con micrometastasi rispetto al 74% delle pazienti N0, ed una sopravvivenza globale rispettivamente del 79% e 88% (8). Anche Colleoni et al. hanno riportato una minore SLM e una maggior rischio di metastasi a distanza in caso di micro metastasi dopo 50 mesi di follow-up (9). Una metanalisi che ha raccolto gli studi fra il 1966 e il 2003 ha concluso che la maggior parte degli autori ha dimostrato come la presenza di micrometastasi sia associata ad una prognosi peggiore, e pertanto la presenza di micrometastasi deve essere presa in considerazione nel trattamento delle pazienti (10). Numerosi studi hanno inoltre dimostrato come ci sia spesso un interessamento degli altri linfonodi in caso di micrometastasi nel LS. Viale et al. hanno riportato un 32% di positività degli altri linfonodi in caso di micrometastasi >1 mm, e 16% in caso di micrometastasi <1 mm (11). In altre casistiche queste percentuali variano dal 9% al 25%. Gli stessi autori hanno identificato la invasione linfovaskolare peritumorale come fattore indipendente predittivo di metastasi nei linfonodi non sentinella ad una analisi multivariata (12, 13). Più recentemente, Viale et al. hanno distinto i pazienti con LS positivo in tre gruppi di rischio: pazienti pNo(i+) che hanno un basso rischio di ulteriori metastasi linfonodali (16,2%), pazienti pN1(mi) con rischio del 30,2% fino al 50,3% di rischio nei pazienti con macrometastasi (14). È stato anche ipotizzato che la localizzazione anatomica delle micrometastasi nel linfonodo sentinella possa essere un fattore indipendente predittivo del rischio di interessamento degli altri linfonodi,

considerando più a rischio la localizzazione intra-nodale piuttosto che quella nel seno sottocapsulare (15). Hartveit ha suggerito che emboli neoplastici depositati nel seno sottocapsulare potrebbero essere associati ad una prognosi peggiore (16). Un recente studio di Page ha indicato il possibile trasporto di questi emboli neoplastici attraverso i linfatici nel seno sottocapsulare come conseguenza delle manovre chirurgiche (17). Evidenze contrarie derivano da studi in cui comunque non si hanno differenze statisticamente significative dopo analisi multivariate (18) o comunque da studi in cui il rischio raggiunge appena il 3% (19). Si è discusso anche sul significato delle micrometastasi in rapporto al metodo di identificazione istopatologica (20, 21). Numerosi sono gli studi in cui si dimostra come ci siano alcuni fattori di rischio indipendenti, quali le dimensioni del tumore, il grading, la invasione linfovaskolare peritumorale, la estensione extralinfonodale, e le dimensioni delle metastasi nel LS (22-24). Kuijt et al. hanno valutato le caratteristiche dei carcinomi di 1306 pazienti sottoposte a linfettomia ascellare con uno o più linfonodi metastatici, ed hanno concluso che le dimensioni del tumore maggiori di 1cm, le presenza di macrometastasi e di estensione extralinfonodale sono fattori indipendenti di rischio metastatico negli altri linfonodi (25). Lo studio di Grabau è il più ampio studio che mostra l'incidenza e il significato prognostico delle micrometastasi in una analisi multivariata. I risultati indicano come le pazienti con micrometastasi abbiano una peggiore sopravvivenza globale rispetto alle pazienti N0 indipendentemente dalla menopausa (26). Al contrario, Kahn et al. hanno riscontrato che la prognosi dei due gruppi è simile (27). Mignotte et al. hanno cercato di identificare un sottogruppo di pazienti in cui potesse essere evitata la linfettomia ascellare in caso di LS positivo, tuttavia senza giungere ad un risultato definitivo, poiché anche pazienti con metastasi molto piccole potevano, seppur con basso rischio, sviluppare una ripresa di malattia (28). Van Zee et al. hanno proposto lo sviluppo di un nomogramma per calcolare il rischio di ulteriori metastasi linfonodali in pazienti con LS positivo (29), concludendo che nemmeno nelle casistiche più ampie la probabilità di metastasi nei linfonodi non sentinella possa ascendere al di sotto del 10%. Riguardo all'impatto clinico delle ITC nel LS, Imoto et al. hanno condotto uno studio retrospettivo in cui hanno dimostrato una SLM del 94% in caso di ITC nel LS senza eseguire la linfettomia ascellare (30). Nella nostra analisi sono risultati statisticamente significativi parametri quali la invasione linfovaskolare peritumorale ( $P=0,01$ ), l'indice di proliferazione cellulare Ki67 ( $P=0,01$ ), il grading ( $P=0,02$ ). La dimensione del tumore, anche se in termini di percentuale mostra differenza fra i T1 (37,5% vs 81,2%) e i T2 (62,5% vs 18,8%) non raggiunge la significatività statistica ( $P=0,09$ ).

## Conclusioni

Dopo l'introduzione della chirurgia conservativa, la BLS è una delle sfide più avvincenti nel trattamento dei carcinomi mammari; ne deriva una minore insorgenza di complicanze, degenza più breve, un più accurato staging. Sebbene in passato la micrometastasi non fosse stata considerata rilevante nella gestione di questi pazienti, oggi in letteratura c'è un maggior numero di studi che documentano un peggioramento della prognosi in caso di micrometastasi nel LS suggerendo quindi la necessità di un trattamento loco-regionale più aggressivo e di eventuale terapia sistemica anche in questi casi. La nostra opinione è quindi favorevole per la linfotomia ascellare in presenza di micrometastasi o di ITC nel linfonodo sentinella. Non possiamo disconoscere comunque consapevoli che, in pazienti con particolari caratteristiche favorevoli del tumore primitivo, la probabilità di metastasi nei linfonodi non sentinella è bassa.

## Bibliografia

- Dowlathshahi K, Fan M, Snider HC, Habib FA. Lymph node micrometastasis from breast carcinoma: reviewing the dilemma. *Cancer* 1997;80:1188-97.
- Truong PT, Vinh-Hungb V, Csernic G, Woodward WA, Taie P, Vlastosf G. The number of positive nodes and the ratio of positive to excised nodes are significant predictors of survival in women with micrometastatic node-positive breast cancer. *Eur J Cancer* 2008;44:1670-1677.
- Cody HS. Sentinel lymph node mapping in breast cancer. *Breast Cancer* 1999;6:13-22.
- Fisher B, Gebhardt MC. The evolution of breast cancer surgery: past, present, and future. *Semin Oncol* 1978;5:385-394.
- Fisher ER, Palekar A, Rockette H, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol No. 4). V. Significance of axillary nodal micro and macrometastases. *Cancer* 1978;42(4):2032-2038.
- Chen SL, Hoehne FM, Giuliano AE. The prognostic significance of micrometastases in breast cancer: a SEER population-based analysis. *Ann Surg Oncol* 2007 Dec;14(12):3378-84.
- Kuijt GP, Voogd AC, van de Poll-Franse LV, Scheijmans LJ, van Beck MW, Roumen RM. The prognostic significance of axillary lymph-node micrometastases in breast cancer patients. *Eur J Surg Oncol* 2005;31(5):500-505.
- International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancers. *Lancet* 1990;335:1565-1568.
- Colleoni M, Rotmensz N, Peruzzotti G. Size of breast cancer metastases in axillary lymph nodes: clinical relevance of minimal lymph node involvement. *J Clin Oncol* 2005;23:1379-1389.
- Sakorafas GH, Geraghty J, Pavlakis G. The clinical significance of axillary lymph node micrometastases in breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2004;30:807-816.
- Viale G, Maiorano E, Mazzarol G, Zurrida S, Galimberti V, Luini A. Histologic detection and clinical implications of micrometastases in axillary sentinel lymph nodes for patients with breast carcinoma. *Cancer* 2001;92:1378-1384.
- Viale G, Maiorano E, Mazzarol G, Zurrida S, Galimberti V, Luini A, Renne G, Pruneri G, Maisonneuve P, Veronesi U. Histologic Detection and Clinical Implications of Micrometastases in Axillary Sentinel Lymph Nodes for Patients with Breast Carcinoma. *Cancer* 2001;92:1378-84.
- Viale G, Zurrida S, Maiorano E, Mazzarol G, Pruneri G, Paganelli G, Maisonneuve P, Veronesi U. Predicting the Status of Axillary Sentinel Lymph Nodes in 4351 Patients with Invasive Breast Carcinoma Treated in a Single Institution. *Cancer* 2005;103:492-500.
- Viale G, Maiorano E, Pruneri G, Mastropasqua MG, Valentini S, Galimberti V, Zurrida S, Maisonneuve P, Paganelli G, Mazzarol G. Predicting the Risk for Additional Axillary Metastases in Patients With Breast Carcinoma and Positive Sentinel Lymph Node Biopsy. *Ann Surg* 2005;241:319-325.
- Di Tommaso L, Arizzi C, Rahal D, Destro A. Anatomic location of breast cancer micrometastasis in sentinel lymph node predicts axillary status. *Ann Surg* 2006;243(5):706-707 author reply 706-7.
- Lilleng PK, Machle BO, Hartveit F. The size of a micrometastasis in the axilla in breast cancer: a study of nodal tumour-load related to prognosis. *Eur J Gynaecol Oncol* 1998;19:220-224.
- Carter BA, Jensen RA, Simpson JF, Page DL. Benign transport of breast epithelium into axillary lymph nodes after biopsy. *Am J Clin Pathol* 2000;113:259-265.
- Langer I, Marti WR, Guller U. Axillary recurrence rate in breast cancer patients with negative sentinel lymph node (SLN) or SLN micrometastases. *Ann Surg* 2005;241:152-158.
- Rutledge H, Davis J, Chiu R, Cibull M, Brill Y, McGrath P, Samayoa L. Sentinel node micrometastasis in breast carcinoma may not be an indication for complete axillary dissection. *Mod Pathol* 2005;18(6):762-768.
- Houvenaeghel G, Nos C, Mignotte H, Classe JM, Giard S, Rouanet P, Lorca FP, Jacquemier J, Bardou VJ. Groupe des Chirurgiens de la Federation des Centres de Lutte Contre le Cancer. Micrometastases in sentinel lymph node in a multicentric study: predictive factors of nonsentinel lymph node involvement- Groupe des Chirurgiens de la Federation des Centres de Lutte Contre le Cancer. *J Clin Oncol* 2006;24(12):1814-1822.
- Wong S, Chao C, Edwards M. The use of cytokeratin staining in sentinel lymph node biopsy for breast cancer. *Am J Surg* 2001;182:330-334.
- Imoto S, A Ochiai C, Okumura C, Wada N, Hasebe T. Impact of isolated tumor cells in sentinel lymph nodes detected by immunohistochemical staining. *EJSO* 2006;32:1175-1179.
- Houvenaeghel G, Nos C, Mignotte H, Classe JM, Giard S, Rouanet P, Lorca FP, Jacquemier J, Bardou VJ. Groupe des Chirurgiens de la Federation des Centres de Lutte Contre le Cancer. Micrometastases in sentinel lymph node in a multicentric study: predictive factors of nonsentinel lymph node involvement- Groupe des Chirurgiens de la Federation des Centres de Lutte Contre le Cancer. *J Clin Oncol* 2006;24(12):1814-1822.
- Joseph KA, El-Tamer M, Komenaka I, Troxel A, Ditkoff BA, Schnabel F. Predictors of Nonsentinel Node Metastasis in Patients With Breast Cancer After Sentinel Node Metastasis. *Arch Surg* 2004;139:648-651.

25. Kuijt GP, van de Poll-Franse LV, Roumen RMH, van Beek MWPM, Voogd AC. The significance of one positive axillary node EJSO 2006;32:139-142.
  26. Grabau D, Jensen MB, Rank F. Axillary lymph node micrometastases in invasive breast cancer: national figures on incidence and overall survival. APMIS 2007;115:828-837.
  27. Kahn HJ, Hanna WM, Chapman JA. Biological significance of occult micrometastases in histologically negative axillary lymph nodes in breast cancer patients using the recent American Joint Committee on Cancer breast cancer staging system. Breast J 2006;12:294-301.
  28. Mignotte H, Treilleux I, Faure C, Nessah K, Bremond A. Axillary lymph-node dissection for positive sentinel nodes in breast cancer patients. EJSO 2002;28:623-626.
  29. Van Zee KJ, Manasseh DME, Bevilacqua JLB, Boolbol SK, Fey JV, Tan LK, Borgen PI, Cody HS, Kattan MW. A Nomogram for Predicting the Likelihood of Additional Nodal Metastases in Breast Cancer Patients With a Positive Sentinel Node Biopsy. Ann Surg Oncol 2003;10.
  30. Imoto S, Ochiai V, Okumura C, Wada N, Hasebe T. Impact of isolated tumor cells in sentinel lymph nodes detected by immunohistochemical staining. EJSO 2006;32:1175-1179.
- 

© CIC EDIZIONI INTERNAZIONALI