

COMPARACIÓN ENTRE LA PUNCIÓN ASPIRACIÓN CON AGUJA FINA (PAAF) Y LA BIOPSIA CON AGUJA GRUESA (BAG) PARA EL DIAGNÓSTICO DE METÁSTASIS GANGLIONARES DE CÁNCER DE MAMA

Trabajo de Fin de Master en Iniciación a la Investigación en Medicina.

Alumno: David Santiago ROSERO CUESTA

Fecha programada para de presentación oral: Julio 12 de 2012

Director del Trabajo: Esther GIMENO ESTERAS. Médico Adjunto de Anatomía Patológica, Sección de Patología Ginecológica, Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

Planteamiento del problema:

El cáncer de mama (CM) continúa siendo una enfermedad con elevada morbilidad y mortalidad. La sospecha inicial de la entidad es por clínica y posteriormente por radiodiagnóstico. Pero su confirmación definitiva es histopatológica.

Establecer si la enfermedad está confinada a la mama al momento del diagnóstico o si ya tiene ganglios regionales metastatizados es básico para el conocimiento del tratamiento y pronóstico. La presencia de metástasis ganglionares en el cáncer de mama tiene un papel pronóstico importante e interfiere directamente en las decisiones terapéuticas. Varios estudios han demostrado que la linfadenectomía no aumenta la supervivencia de las pacientes con CM sin metástasis regionales, por ello actualmente se preserva la cadena ganglionar en ausencia dichas metástasis.^{1,2}

Para el diagnóstico histológico de metástasis ganglionares axilares en CM se han utilizado técnicas como biopsias con agujas tipo BAG (biopsia con aguja gruesa), PAAF (punción aspiración con aguja fina), o exérésis completa de los ganglios linfáticos.

Inicialmente, si la ecografía axilar es sospechosa de malignidad, las pacientes necesitan ser estudiadas mediante biopsia, como de tipo punción. En los casos en los que la punción (BAG o PAAF) resulta positiva para malignidad, nos indica que la paciente requiere quimioterapia neoadyuvante/preoperatoria, previa a la linfadenectomía. Y así mismo, la paciente con punción positiva no

necesita pasar por el estudio de biopsia de ganglio centinela (conocida como técnica selectiva de ganglio centinela / TSGC).²⁻⁴

Fomentar o no fomentar el uso de la técnica de BAG (que es más invasiva y más costosa) para el estudio de los ganglios axilares sospechosos de malignidad, ha sido motivo de controversia.⁴ Pues al comparar la BAG con la PAAF (siendo este último un procedimiento menos invasivo y más rápido), no ha habido completa claridad sobre las ventajas o desventajas globales.⁵

Hoy en día en medicina, la mayoría de los procedimientos siguen un curso estandarizado según guías científicas sólidas y basadas en la evidencia. Sin embargo, para el tipo de biopsia de ganglio linfático axilar, no hay claves claramente establecidas, careciendo de protocolos normatizados al respecto hasta el momento.⁶

En la actualidad la ecografía axilar resulta clave en el proceso de estadiaje, siendo la herramienta diagnóstica que se utiliza antes de la TSGC. La ecografía axilar tiene una especificidad alta para detectar los ganglios metastásicos (96,5%) pero en cambio presenta una sensibilidad muy variable. Cuando la axila es clínicamente positiva la sensibilidad varía entre 66,1-72,7 % si se utiliza el tamaño como criterio de positividad, y entre 54,7-92,3% si se emplean las características morfológicas como criterio de positividad. Cuando la axila es clínicamente negativa la sensibilidad varía entre 48,8-87,1% si se utiliza el tamaño como criterio de positividad, y entre 26,4-88,4% si nos basamos en las características morfológicas.⁷ En la figura 1 hay un ejemplo de imágenes de un verdadero positivo.

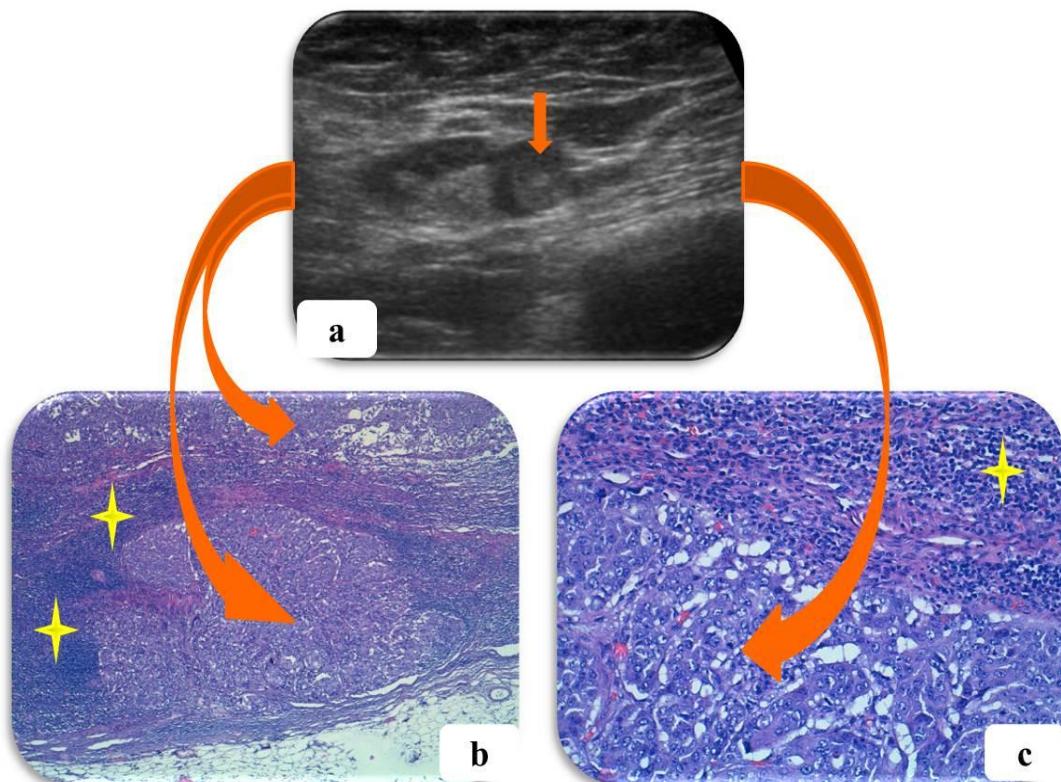


Figura 1: (a): Estudio ecográfico: pequeño nódulo cortical sospechoso de metástasis; (b y c): HE (40X y 200X) resaltando la presencia de metástasis (flecha) y áreas de tejido linfoide normal (estrellas)

Se ha demostrado que en los casos en que la ecografía axilar detecta la presencia de ganglios linfáticos sospechosos de malignidad, la utilización de biopsias por punción (PAAF o BAG) aumentan la especificidad hasta cerca del 100%.^{7,8}

Aunque hay estudios que han demostrado una sensibilidad parecida para las dos técnicas de punción,⁹ en general la BAG presenta una sensibilidad mayor en comparación con la PAAF (90% frente a 65%).^{10,11}

Objetivo general:

Comparar los resultados diagnósticos obtenidos mediante BAG y PAAF de biopsias axilares en pacientes con cáncer de mama, correlacionando con la ecografía.

Objetivos específicos:

- Calcular los parámetros de sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN), que presenta la ecografía axilar en el diagnóstico de metástasis ganglionares en pacientes con cáncer de mama en nuestro medio.
- Analizar el patrón anatomo-patológico de los falsos negativos y falsos positivos ecográficos.
- Analizar y comparar los parámetros de S, E, VPP y VPN para BAG y PAAF.
- Observar, del total de pacientes con cáncer de mama, el porcentaje que suelen ser candidatas a TSCG y candidatas a estudio patológico percutáneo de los ganglios sospechosos, ya sea mediante PAAF o mediante BAG.

Material y métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo, de tipo descriptivo. Se consultaron las bases de datos de Intranet del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza, y se incluyeron inicialmente todos los pacientes diagnosticados de cáncer de mama entre enero 1 de 2010 y diciembre 31 de 2011.

Simultáneamente, se consultaron para el mismo espacio de tiempo, las pacientes con el diagnóstico codificado como cáncer de mama por medio del Software Patwin versión 4.1.2; software ampliamente utilizado por los servicios de Anatomía Patológica a nivel internacional para el historial de hallazgos morfológicos macroscópicos y microscópicos. Ambos recursos electrónicos, Intranet hospitalaria y Patwin, contienen el mismo número de historia clínica de cada paciente, lo que ha evitado duplicidades y ayudado a disminuir la pérdida de número de casos útiles para el universo del estudio.

Se establecieron dos subgrupos:

- Pacientes que presentaban axila ecográficamente negativa y fueron candidatas a TSGC.
- Pacientes con axila ecográficamente sospechosa que fueron estudiadas con PAAF o BAG.

Del grupo con axila ecográficamente negativa hemos considerado los casos que fueron negativos para metástasis tras la TSGC como verdaderos negativos, y en los que se demostró presencia de metástasis tras la TSGC como falsos negativos.

Para el diagnóstico definitivo del ganglio centinela (TSGC) se utilizó el método OSNA¹² y el protocolo estándar con microscopía óptica (Hematoxilina-Eosina /

HE con marcador inmunohistoquímico Citokeratina Ae1Ae3). La Citokeratina Ae1 Ae3 (CK Ae1Ae3) es una de las técnicas inmunohistoquímicas que usamos en anatomía patológica para mostrar mayor claridad visual de los epitelios carcinomatosos. Aunque la llegada del método OSNA¹² nos ha ayudado a dar un mejor servicio diagnóstico de metástasis en ganglio al disminuir los falsos negativos en estudios biópsicos. Tal como se explica en el Anexo I, el método OSNA es un método automatizado que actúa midiendo el ARN mensajero de la CK19 en los ganglios linfáticos

El manual de procesos utilizado en nuestro hospital para las técnicas de BAG, PAAF convencional, PAAF citología líquida y TSGC se pueden consultar al final del documento (anexo I).

Se clasificó la invasión o no de ganglios según la última clasificación de pTNM del Colegio Americano de Patólogos / College of American Pathologists (CAP):^{13,14}

pNX: Los ganglios no pueden ser estudiados (como al haber sido previamente removidos o no removidos).

pN0: No se identifican ganglios metastásicos histológicamente.

CTA (células tumorales aisladas): son pequeños grupos de células de 0.2 mm o menos o células tumorales sueltas o en pequeños grupos de máximo 200 células. Los ganglios con CTA no cuentan como positivos pero se incluyen en el número total evaluado de nódulos linfáticos.

pN1mi: Micrometástasis (que miden más de 0.2 mm y/o más de 200 células, pero no más de 2.0 mm).

pN1a: Metástasis en 1 a 3 ganglios axilares, al menos uno con tamaño mayor a 2.0 mm.

pN2a: Metástasis en 4 a 9 ganglios axilares, al menos uno con tamaño mayor a 2.0 mm.

pN3a: Metástasis en 10 o más ganglios axilares, al menos uno mayor a 2.0 mm.

Además, en los casos estudiados mediante microscopía óptica se valoró el estado de la cápsula ganglionar de las metástasis, así:

- Metástasis sin afectación capsular.
- Metástasis con ruptura capsular.

Del grupo con axila ecográficamente sospechosa para malignidad se establecieron los verdaderos positivos y los falsos positivos, utilizando como referencia estándar los resultados obtenidos tras PAAF o BAG y estudio definitivo histológico en exéresis completa del ganglio. Se considerarán como verdaderos positivos los casos con estudio ecográfico sospechoso y biopsia positiva, y falsos positivos los casos en los que la ecografía sugería afectación metastásica pero con resultado biópsico negativo (Tabla 1). Y la distribución de los verdaderos negativos y de los falsos negativos se expone en la Tabla 2.

	VERDADEROS POSITIVOS	FALSOS POSITIVOS
Ecografía axilar	Positiva	Positiva
PAAF o BAG	Positiva	Negativa

Tabla 1: Selección de verdaderos positivos y falsos positivos para ecografía axilar

	VERDADEROS NEGATIVOS	FALSOS NEGATIVOS
Ecografía axilar	Negativa	Negativa
TSGC	Negativa	Positiva

Tabla 2: Selección de verdaderos negativos y falsos negativos para ecografía axilar

Criterios de exclusión

Al final del agrupamiento de los pacientes con cáncer de mama, se excluirán los casos en los que no disponemos de un estudio anatopatológico de referencia (exéresis ganglionar).

No serán tenidos en cuenta los ganglios que no sean axilares, pues los ganglios afectados o no afectados de cadenas mamaria interna, cervicales y otros, podrían verse implicados en estadios muy diferentes del curso de la enfermedad, por lo que no se estudiarán en nuestro grupo final de pacientes.

Igualmente, se excluirán los tumores no primarios de mama y los diagnosticados como: melanoma, sarcoma, y enfermedades linfoides/hematológicas como linfoma, leucemia y plasmocitoma. Esto es debido a que estas entidades malignas invaden de manera diferente los tejidos cuando se comparan con la forma convencional de extensión de las neoplasias de tipo epitelial (CM) hacia ganglios linfáticos.¹⁵

Resultados:

Se encontraron 866 pacientes con CM atendidas por el Hospital Universitario Miguel Servet entre enero de 2010 y diciembre de 2011. Cinco fueron hombres. Esto es el 0,6 % de los pacientes con CM.

En este total de pacientes con neoplasias malignas de mama no figuran cinco que fueron diagnosticados como: linfoma (dos pacientes), melanoma (un paciente), sarcoma (un paciente) y plasmocitoma (un paciente); atendiendo a los criterios de exclusión descritos previamente.

12 de los 866 pacientes (1,4%) tuvieron estudio ganglionar de cadena mamaria interna. Tales ganglios no se incluyeron en el análisis final por no ser axilares, pero esto no mermó el total de pacientes, pues esas doce pacientes con estudio de ganglio de mamaria interna también tenían biopsias de ganglios linfáticos axilares.

Del total de 866 pacientes, 391 presentaban axila ecográficamente negativa, por lo cual fueron candidatas a TSCG. Y en 169 se realizó estudio patológico percutáneo de los ganglios sospechosos, mediante PAAF en 133 (78,7%) y BAG en 36 (21,3%).

De los 391 pacientes estudiados mediante TSGC, 117 (29,9%) fueron positivos para malignidad, representando los falsos negativos que tuvieron informe previo de ecografía negativa para metástasis.

Además de los 117 falsos negativos, encontramos otros 11 pacientes cuya metástasis se pudo confirmar pero sólo para células tumorales aisladas (CTA). Lo que no altera el pTNM ni el estadio tumoral, porque no cuentan como ganglios positivos, según la clasificación ya expuesta en material y métodos.^{13,14}

El compromiso ganglionar fue entonces observado de la siguiente forma (tabla. 3): 11 casos con CTA (ejemplo de caso en la fig. 2), 44 micrometástasis (fig. 3), 50 metástasis sin rotura capsular, y 23 metástasis con rotura capsular (fig. 4). De estos últimos 23 casos, en cuatro se realizó previamente PAAF y en una se

realizó BAG, obteniendo material inadecuado para diagnóstico en los cinco casos, debido a que no se observó tejido linfoide acompañante de ganglio axilar o no se encontró celularidad evaluable.

Afectación ganglionar	Número de casos
Células tumorales aisladas (CTA)	11
Micrometástasis	44
Metástasis (macrometástasis)	50
Metástasis con ruptura capsular	23

Tabla 3: Distribución de los falsos negativos de la ecografía axilar en función del grado de afectación ganglionar

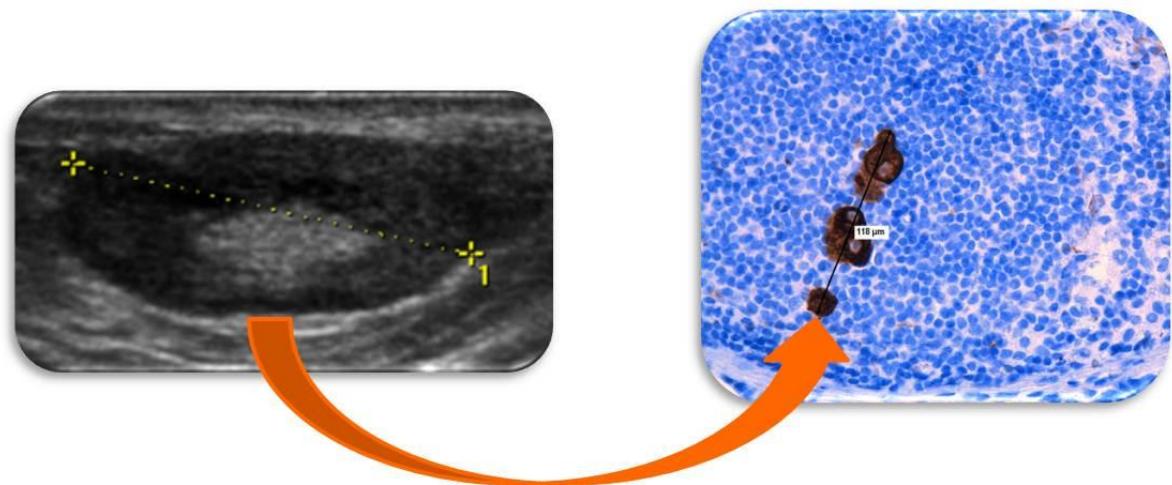


Figura 2: Ecografía axilar: ganglio de tamaño y ecoestructura normal. El estudio histopatológico (400X, CK Ae1Ae3) demostró la presencia de CTA que en conjunto medían 118μm

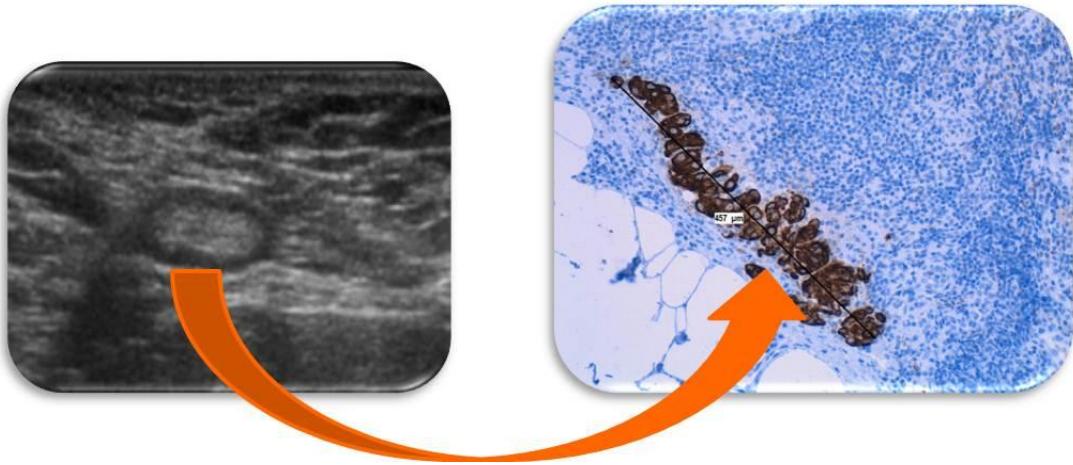


Figura 3. Ejemplo de un falso negativo. Ecografía axilar: ganglio de tamaño y ecoestructura normal. El estudio histopatológico (200X, teñido con CK Ae1Ae3) demostró la presencia de micrometástasis que media 457 μ m.

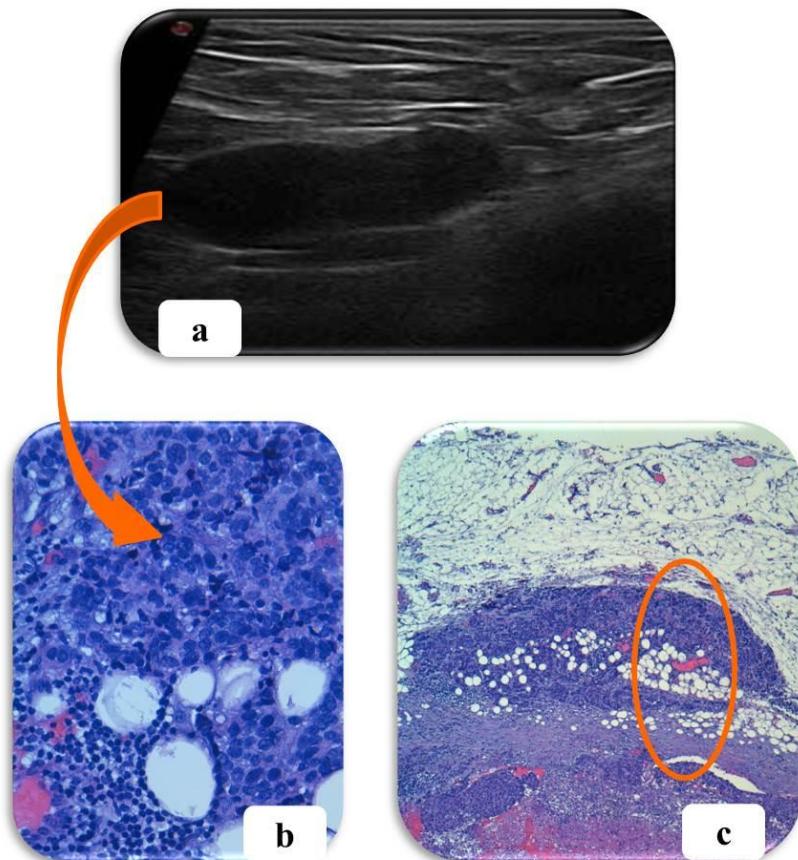


Figura 4. Ejemplo de un verdadero positivo y con rotura capsular. (a): Estudio ecográfico axilar: ganglio con marcada disminución de la ecogenicidad y pérdida del hilio graso, sugestivo de malignidad; (b y c): HE (400X y 40X).

En el grupo con axila ecográficamente sospechosa se realizaron 133 PAAF, de las cuales 27 (20,3%) se informaron como no diagnósticas (material insuficiente para diagnóstico). De las 106 PAAF restantes, 86 (81,1%) fueron positivas y 20 (18,9%) negativas.

Del mismo grupo, con axila sospechosa por ecografía, se estudiaron 36 casos mediante BAG. En 4 (11,1%) no se obtuvo material diagnóstico representativo para asegurar o descartar malignidad. De las 32 restantes, 25 (78,1%) fueron positivas y 7 (21,9%) negativas para metástasis en ganglio linfático.

Fue posible calcular los valores predictivos de la ecografía axilar en cáncer de mama, que con nuestros datos resulta de la siguiente forma: S 48,7%, E 91%, VPP 80,4% y VPN 70,1%.

Con los datos revisados hemos obtenido la siguiente distribución para las 106 PAAF informadas:

- De las 86 PAAF positivas para malignidad, 43 pudieron ser comparadas con la biopsia completa de la pieza ganglionar (exéresis ganglionar), encontrando 43 (100%) verdaderos positivos.
- De las 20 PAAF negativas para malignidad, 16 pudieron ser comparadas con la biopsia completa de la pieza ganglionar, encontrando 11 (68,8%) verdaderos negativos y 5 (31,2%) falsos negativos.

Y con los datos de las 32 BAG informadas hemos obtenido la siguiente distribución:

- De las 25 BAG positivas para malignidad, 17 pudieron ser comparadas con la biopsia completa de la pieza ganglionar (exéresis ganglionar), encontrando 17 (100%) verdaderos positivos.
- De las 7 BAG negativas para malignidad, 6 pudieron ser comparadas con la biopsia completa de la pieza ganglionar, encontrando 4 (66,7%) verdaderos negativos y 2 (33,3%) falsos negativos.

Los parámetros de validez y fiabilidad obtenidos para la PAAF son: S 89,6%, E 100%, VPP 100% y VPN 68,8%.

Los parámetros de validez y fiabilidad obtenidos para la BAG son: S 89,5%, E 100%, VPP 100% y VPN 66,7% (tabla 4).

PARÁMETROS	PAAF	BAG
S	89,6%	89,5%
E	100%	100%
VPP	100%	100%
VPN	68,8%	66,7%

Tabla 4: Parámetros de S, E, VPP y VPN para PAAF y BAG en ganglio linfático axilar.

Discusión:

De nuestros 866 pacientes con CM sólo cinco son hombres (0,6%), lo cual está acorde con la literatura sobre la entidad, enfermedad con aparición en el sexo masculino en menos del 1%.¹⁶ En informes publicados se ha observado que en hombres se suele ver en un promedio de edad más avanzado.¹⁷

En el presente trabajo hemos hallado 117 (29,9%) falsos negativos ecográficos en estudio axilar. Este porcentaje, cercano al 30%, concuerda con otras investigaciones sobre el tema, por estar en el rango usual de los últimos años.^{7,18}

En nuestro estudio, la ecografía axilar ha presentado una sensibilidad de 48,7% y una especificidad de 91%. Ambos porcentajes pueden estar en el rango de datos publicados por otros autores,^{7,18} pero llama la atención la baja sensibilidad. Y esto en parte se debe a las pequeñas metástasis, de 2 mm o menos (Micrometástasis), que difícilmente serán detectadas por los ecógrafos habituales.¹⁹

En el presente año tenemos una situación todavía similar a la de la previa década en cuanto a baja sensibilidad con la ecografía axilar. Por ejemplo, Damera et al.¹⁸ investigaron en el año 2003 las aproximaciones diagnósticas de la ecografía, y encontraron una sensibilidad de 55%, especificidad de 82%, VPP de 74% y VPN de 65%, en la identificación de metástasis ganglionares en cáncer de mama.

Los estudios protocolizados de ganglio centinela axilar se deben seguir realizando actualmente, para localizar los falsos negativos arrojados por la ecografía, que en nuestro medio constituyen un número importante.

La PAAF y la BAG tienen en nuestro sistema de salud una sensibilidad equivalente (89%), y la especificidad no varía tampoco entre ambas técnicas (100%). Por lo tanto, ambas técnicas son fiables para llegar a un diagnóstico.

Sin embargo, en algunas investigaciones previas, se ha encontrado una sensibilidad mayor para la BAG cuando se compara con la PAAF (90% frente a 65%).^{10,11}

En nuestro estudio, la diferencia principal encontrada entre ambas técnicas diagnósticas consta en que la BAG reduce a la mitad las posibilidades de obtener “material insuficiente para diagnóstico”. Pues las muestras con BAG nos han dejado un 11,1% de pacientes sin diagnóstico, pero con PAAF hemos visto este inconveniente en el 20,3% de las punciones.

Strien et al.²⁰ revisaron muestras de ganglios linfáticos de 473 casos de cáncer de mama, con estudio de ganglio centinela, y no encontraron asociación entre el método de biopsia (BAG o PAAF) y el estado de los ganglios centinela, por lo que para su caso era igual usar un tipo de biopsia u otro.

Más estudios como el presente son necesarios para establecer con certeza recomendaciones que ayuden a aumentar o a limitar un tipo de biopsia para el diagnóstico de cáncer de mama.

Agradecimientos:

Este estudio se ha realizado también gracias a la valiosa aportación de la Doctoras Laura Dinu (Servicio de Radiodiagnóstico), Ignacia Valero y María José Ríos (Servicio de Anatomía Patológica), todas del Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza.

ANEXO I.

PROCEDIMIENTO PARA PROCESAR BIOPSIAS POR AGUDA GRUESA (BAG)

Ayudados de técnicas de imagen, se realiza punción con aguja con diámetro de 18 a 14 G. La muestra se incluye en parafina. Luego, en procesadores Shandon, con alcoholes de diferente graduación; formol, xileno y parafina. Se introducen los cassettes en cestillas y posteriormente en el procesador. Se confeccionan los bloques con pinzas histológicas y en moldes metálicos.

Se vierten los bloques en el baño de parafina líquida. Se acerca a la placa fría para solidificar la base y fijar al molde. Se adaptan a la cabeza del microtomo.

Con el microtomo se desbasta la pieza 50 micras. Se introducen en el congelador 5 minutos. Los cortes se realizan a 2 micras y se estiran en un baño. Una vez hecho esto se recogen con el portaobjetos.

Se tiñen con HE, y los cortes sospechosos a la microscopía inicial se tiñen con técnicas de inmunohistoquímica, como la Citokeratina Ae1-Ae3.

Nota: el proceso de tinción de las biopsias convencionales (como exéresis de cirugía convencional de ganglios o tejido mamario) se lleva a cabo de manera similar desde la inclusión en parafina, previa fijación en formol.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS POR PUNCIÓN ASPIRACIÓN POR AGUJA FINA (PAAF)

Desinfección de la zona sobre la cual se realiza la punción. Se administra un sedante o anestésico local (según el caso, las lesiones muy superficiales no requieren del uso de anestesia). Se inserta una aguja fina en el interior del tejido a estudiar. Se realiza la aspiración de una pequeña cantidad de tejido.

Se precisa aguja corta de 1,5 a 2,5 cm de longitud, y 25 a 21 G (0,6 a 0,8 mm) de diámetro.

Para PAAF de lesiones de mama se usan técnicas de imagen para guiar la aguja hacia el punto exacto.

El frotis se realiza colocando una gota del material aspirado en el portaobjetos y se extiende con otro portaobjetos.

Las muestras son fijadas en alcohol, para su posterior tinción con Papanicolaou.

(CONTINUACIÓN DEL ANEXO I)

PROCESAMIENTO DE CITOLOGÍA LIQUIDA

Algunas veces la muestra de punción por aguja fina llega en un fijador como Cytorich, Mucolexx o Cytospin. Con una pipeta introducimos todo el líquido del tubo de falcon en los distintos tubos de cristal.

Centrifugamos y decantamos la muestra hasta quedarnos con el sedimento. Agregamos de eosina.

Lo lavamos con alcohol de 100º hasta que queda limpio el alcohol de restos de eosina. Ponemos alcohol limpio. Decantamos el alcohol y lo sustituimos por xilol. Quitamos el xilol y llenamos el tubo con parafina. Se deja en la estufa un día.

Lo llevamos al congelador para que se solidifique la parafina.

TÉCNICA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA (TSGC)

Se realiza biopsia intraoperatoria. Se observa el tamaño y número de ganglios.

Se secciona el ganglio en dos mitades por el hilio si es pequeño, o en cortes de 3 mm de grosor si es mayor de 1 cm.

El método automatizado (método OSNA) requiere introducir los fragmentos del ganglio en el procesador, que detecta presencia de marcadores inmunohistoquímicos como la Citokeratina 19 para indicar presencia de tejido neoplásico. Actúa midiendo el ARN mensajero de la Citokeratina 19 en los ganglios linfáticos.

Para la manera clásica (manual) de procesamiento del ganglio centinela, se secciona el ganglio igualmente pero posteriormente se realizan improntas, y en principio, así mismo raspado, de todas las superficies de sección. Se tiñen las laminillas.

No se realiza estudio de corte histológico en congelación, pues se pierde material.

El estudio puede ser en diferido (no en acto intraoperatorio): el ganglio se talla y se incluye en su totalidad. Se cortan seriadamente 10 laminillas adicionales por bloque, de las cuales se reservan las número 4 y 8. Las láminas 1,2,3,5,6,7,9 y 10 se tiñen con HE. Si son positivas ya es diagnóstico. Si no lo son, las láminas 4 y 8 se tiñen para la detección de Citokeratinas (Ae1Ae3). Si son positivas se establece el diagnóstico de metástasis según protocolo.

REFERENCIAS

1. Fisher B, Jeong JH, Anderson S, Bryant J, Fisher ER, Wolmark N. Twenty-five-year follow-up of a randomized trial comparing radical mastectomy, total mastectomy, and total mastectomy followed by irradiation. *N Engl J Med.* 2002; 346(7):567–75.
2. Houssami N, Ciatto S, Turner RM, Cody HS, Macaskill Petra. Preoperative Ultrasound-Guided Needle Biopsy of Axillary Nodes in Invasive Breast Cancer: Meta-Analysis of Its Accuracy and Utility in Staging the Axilla. *Ann Surg.* 2011; 254(2):243–51.
3. Gallego M. Validación de la técnica de detección intraoperatoria y biopsia selectiva del ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama operable tratadas con quimioterapia neoadyuvante [Tesis]. Universidad de Granada; 2011.
4. Masood S. Expanded Role of Cytopathology in Breast Cancer Diagnosis, Therapy and Research: The Impact of Fine Needle Aspiration Biopsy and Imprint Cytology. *Breast J.* 2012; 18(1): 1–2.
5. Turaga KK, Chau A, Eatrides JM, Kiluk JV, Khakpour N, Laronga C, Lee MC. Selective application of routine preoperative axillary ultrasonography reduces costs for invasive breast cancers. *Oncologist.* 2011; 16(7):942-8.
6. Mamoon N, Hassan U, Mushtaq S, Sharif MA. Histopathology of breast carcinoma -- an audit of 50 reports in Rawalpindi, Pakistan. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2010; 11(1):169-72.
7. Álvarez S, Añorbe E, Alcorta P, López F, Alonso I, Cortés J. Role of sonography in the diagnosis of axillary lymph node metastases in breast cancer: a systematic review. *AJR.* 2006; 186:1342-8.
8. Mustafa S, Marshall C, Griffiths PA, Chuthapisith S, Wheatley DC, Eremin JM, El-Sheemy M, Jibril JA, Eremin O. 18F-FDG dual-headed gamma camera PET in detection of axillary nodal disease in patients with large or locally advanced breast cancer: possible alternative staging of axilla. *Oncol Rep.* 2007; 18(6):1545-9.
9. Rao R, Lilley L, Andrews V, Radford L, Ulissey M. Axillary staging by percutaneous biopsy: sensitivity of fine-needle aspiration versus core needle biopsy. *Ann Surg Oncol.* 2009; 16(5):1170-5.

10. Topal U, Punar S, Taşdelen I, Adim SB. Role of ultrasound-guided core needle biopsy of axillary lymph nodes in the initial staging of breast carcinoma. *Eur J Radiol*. 2005; 56(3):382-5.
11. Alkuwari E, Auger M. Accuracy of fine-needle aspiration cytology of axillary lymph nodes in breast cancer patients: a study of 115 cases with cytologic-histologic correlation. *Cancer*. 2008; 114(2):89-93.
12. Guillén-Paredes MP, Carrasco-González L, Chávez-Benito A, Aguayo-Albasini JL. Aplicación de la técnica OSNA en el análisis intraoperatorio del ganglio centinela en el cáncer de mama. *Cir Esp*. 2011; 89(4):261-2.
13. Lester SC, Bose S, Chen Y, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with invasive carcinoma of the breast. *Arch Pathol Lab Med*. 2009; 133(10):1515-38.
14. Grin A, Horne G, Ennis M, O'Malley FP. Measuring extent of DCIS in breast excision specimens: a comparison of four methods. *Arch Pathol Lab Med*. 2009; 133:31-7.
15. Rodríguez-Gil Y, Pérez-Barrios A, Alberti-Masgrau N, Garzón A, de Agustín P. Fine-needle aspiration cytology diagnosis of metastatic nonhaematological neoplasms of the breast: a series of seven cases. *Diagn Cytopathol*. 2012;40(4):297-304.
16. Korde LA, et al. Multidisciplinary Meeting on Male Breast Cancer: Summary and Research Recommendations. *J Clin Oncol*. 2010;28(12):2114-22.
17. Kufel J. Male breast cancer. *Onkol Pol*. 2011; 14(2):83-5.
18. Damera A, et al. Diagnosis of axillary nodal metastases by ultrasound-guided core biopsy in primary operable breast cancer. *British Journal of Cancer*. 2003; 89(7):1310-13.
19. Strien L, Leidenius M, Heikkilä P. False-positive and false-negative sentinel node findings in 473 breast cancers. *Human Pathology*. 2012 May 9; [Epub ahead of print].
20. Yang W, Dempsey PJ. Diagnostic breast ultrasound: current status and future directions. *Radiol Clin North Am*. 2007; 45:845-61.