

La modulazione della dissezione linfonodale dell'ascella nel carcinoma mammario.

Nostra esperienza



Ann. Ital. Chir., LXXIV, 1, 2003

**E. Procaccini, R. Ruggiero, L. Mansi*,
A.P. Laprovitera, P.F. Rambaldi*,
V. Cuccurullo*, A. Ferrara, F. Procaccini,
P. Zenone**

Cattedra Chirurgia Generale - Facoltà di Medicina -
Seconda Università di Napoli
*Cattedra Medicina Nucleare - Facoltà di Medicina -
Seconda Università di Napoli

Introduzione

Conoscere lo stato dei linfonodi ascellari è essenziale ai fini stadiativi, prognostici e di indirizzo per il trattamento adiuvante. Per questo motivo la dissezione completa dell'ascella è rimasta a lungo un tempo indispensabile nel trattamento del cancro mammario, nonostante la morbilità che tale gesto comporta. La maggiore frequenza nelle attuali casistiche di cancri diagnosticati in fase precoce, con linfonodi negativi, ha spinto a cercare soluzioni per ridurre o abolire la dissezione linfonodale. Nel passato sono state avanzate proposte di limitazione (sampling o dissezione del solo I livello) o astensione seguita o meno da radioterapia che si basavano su criteri non affidabili quali lo stadio precoce o l'età della paziente.

La biopsia del linfonodo sentinella (SNB) proposta inizialmente nel cancro del pene (1) e nel melanoma (2) è stata poi mutuata al carcinoma mammario impiegando un tracciante radioattivo (3), oppure un colorante vitale (4) ed infine la combinazione delle due tecniche (5). Da allora sono aperte nuove prospettive tanto da indurre diversi Autori a proporre la asportazione del solo SN, quando non metastatico (6, 7, 8). Tuttavia l'incidenza di falsi negativi non consente ancora di ridurre la dissezione linfonodale nel carcinoma mammario se non nell'ambito di rigorosi protocolli di ricerca.

Abstract

MODULATION OF THE AXILLARY LYMPH NODE DISSECTION IN BREAST CANCER

Several studies showed the reliability of the sentinel lymph node (SN) technique in the evaluation of the N parameter in breast cancer so much to induce surgeons to limit the axillary dissection to the biopsy of the SN alone (SNB) in case this is negative to the extemporaneous examination. After a period of focusing on the identification technique, biopsy and histological examination of the SN (October 97 - January 98) always followed by a complete dissection of the three axillary node levels (ALND), we started a study to evaluate the reliability of a limited dissection of the 1st level of the axilla (FLND) in women with T <3cm, N0-1a, M0, that did not undergo any neoadjuvant treatment and in which the SN resulted free from metastases. We started this phase of the study in February 1998 till May 2001. In the present paper we show the results related to this period.

Materials and Methods: we enrolled 256 women with T <3cm, N0-1a, M0. In 49 cases we used vital dye, in 23 dye + radioguided surgery (RGS) and in 184 RGS only. The extemporaneous histological examination of the SN has been performed with thin sections, dyed with EE. When SN was negative to the intraoperative examination, we limited the dissection to the 1st level of the axilla, except that in 3 patients, with SN located to the 2nd level, in which we did an ALND. The FLND has been performed in 17 cases with a minimally invasive technique. The definitive histological examination of the SN always included the immunohistochemistry. If the SN was positive, usually underestimated to the intraoperative examination, the patients had an adjuvant chemotherapy.

Results: In 203/207 patients (98,1%) SN was found to the pre-operative lymphoscintigraphy. During surgery the SN was identified in 46/49 (94%) using the vital dye, in 22/23 (96%) using the vital dye + RGS and in 176/179 (98,3%) using RGS. To the extemporaneous histological examination SN was negative in 140, metastatic in 101; to the histological definitive results of the SN we noticed 6 false negative, since others lymph nodes than SN were positive (4 cases) or for evidence of micrometastases at the immunohistochemistry which were not detected at the extemporaneous examination (2 cases). On 107 cases of N+ the SN was the only metastatic lymph node in 42 (39,3%).

Pervenuto in Redazione il 27 Luglio 2002

Aggiornato il 17 Ottobre 2002

The false negative percentage was 5,6% and the diagnostic accuracy of the SNB was 97,5%. In the group treated with FLND we only noticed two cases of light lymphedema (1,4%).

Conclusions: Our results are in concordance with the international literature and they induced us, from June 2001, to begin a new phase of the study in which we limit the dissection of the axilla to the SN only, if not metastatic, in women with T1 breast carcinoma.

Key-words: Breast cancer, sentinel node, axillary dissection.

Nel periodo settembre 97 - gennaio 98 abbiamo standardizzato la tecnica di rilievo, identificazione ed esame istologico estemporaneo e definitivo del SN, associando comunque una dissezione ascellare completa (ALND).

Successivamente, dal febbraio 1998 al marzo 2001, abbiamo intrapreso uno studio sulla possibilità di modulare la dissezione ascellare limitandola al solo I livello (FLND) nei casi in cui il SN era negativo all'esame intraoperatorio. Abbiamo proposto questo trattamento a donne con carcinoma mammario unifocale, di diametro inferiore a 3 cm, N- all'esame clinico ed M0. Nel presente lavoro riferiamo sui risultati ottenuti in questo secondo periodo. La nostra esperienza, seppure limitata numericamente, si presta ad una analisi perché condotta da una singola équipe chirurgica, con tecnica omogenea.

Materiali e Metodi

Dal febbraio 1998 al maggio 2001 abbiamo arruolato, previo consenso informato, 256 donne di età compresa tra i 27 ed gli 81 anni, con carcinoma mammario infiltrante unifocale, di diametro pari o inferiore a 3cm, N0 clinico ed M0, senza segni flogistici o di infiltrazione cutanea e non sottoposte a trattamenti neoadiuvanti. 39 donne avevano subito in precedenza una biopsia chirurgica. Il protocollo prevedeva la limitazione della dissezione linfonodale al solo I livello, nel caso in cui il SN fosse negativo all'esame estemporaneo. In 17 casi, in cui la neoplasia era localizzata in quadranti diversi dal supero-esterno abbiamo praticato la dissezione del solo I livello con tecnica mini-invasiva. Nel caso in cui l'esame istologico definitivo portasse ad una definizione di falso negativo della tecnica del SN, non era previsto alcun ulteriore gesto chirurgico a completamento della linfeotomia. Se il SN risultava metastatico all'intraoperatorio o localizzato al II o III livello, veniva eseguita una ALND. Sono state escluse le donne con T plurifocale, di diametro >3 cm, N+ clinico, M1 o che non hanno accettato il protocollo.

– *Tecnica di rilievo del SN:* per la identificazione del SN abbiamo impiegato 49 volte il colorante vitale, 23 vol-

te la associazione di colorante e linfoscintigrafia e 184 volte la sola linfoscintigrafia.

– *Linfoscintigrafia e Chirurgia Radioguidata (RGS):* impiegata in 184 casi da sola e in 23 abbinata al colorante vitale. Sono state utilizzate particelle di albumina di dimensioni comprese tra 10 e 80 nm (Nanocol, Amersham-Sorin). I nanocolloidi, marcati con 20-40 MBq in volume ridotto, sono stati iniettati con un ago 23 Gauge in due o più punti intorno al nodulo mammario; nelle lesioni precliniche l'inoculo è stato praticato sotto guida ecografica. Il volume complessivamente somministrato non era comunque superiore ad 1cc. In caso di lesione profonda veniva effettuato un secondo inoculo anteriormente al nodulo, intradermicamente, con un ago corto di 25 Gauge, così da creare un pomfo. Dopo l'inoculo si provvedeva al massaggio dell'area per favorire il drenaggio linfatico.

La bassa dose di Tc99 (<37MBq) e la ridotta attività specifica (dose al punto di iniezione nell'ordine di 15 mGy/MBq) consente una dosimetria favorevole. La dose erogata agli operatori non supera il limite di esposizione per la popolazione; non sono quindi necessari particolari accorgimenti di tipo protezionistico. Le immagini sono state acquisite con una gamma-camera a grande campo. Attraverso una piccola incisione parallela al pilastro anteriore dell'ascella e con la RGS si procedeva alla biopsia del linfonodo che veniva identificato come SN per una captazione di almeno 10 volte quella di fondo. Asportato il SN si controllava il cavo ascellare alla ricerca di altri focolai di emissione significativi.

– *Colorante vitale:* tecnica da noi utilizzata in 49 casi da sola e 23 volte abbinata alla linfoscintigrafia iniettando 2cc di Blue dye da 20 a 60' prima dell'intervento. Con una ampia incisione parallela al pilastro anteriore della ascella seguiamo i linfatici fino alla loro confluenza nel SN.

– *Combinazione delle due tecniche:* la combinazione della tecnica del colorante vitale e della linfoscintigrafia è stata impiegata in una prima fase della nostra esperienza, in 23 casi.

– *Esame Istologico Estemporaneo del SN:* la tecnica prevede coppie di sezioni sottili; in estemporanea vengono eseguite solo colorazioni con EE. Una delle sezioni viene riservata, in un tempo successivo, alla immunohisto-chimica nei casi negativi all'esame intraoperatorio.

Risultati

Identificazione preoperatoria del SN: con la linfoscintigrafia abbiamo identificato il SN in 203/207 (98,1%) (Tab. I). Il SN non è stato visualizzato in 4 pazienti (3 con localizzazione del T al prolungamento ascellare ed 1 sottoposta in precedenza ad ampia biopsia escissionale). In

Tab. I – IDENTIFICAZIONE PREOPERATORIA ED INTRAOPERATORIA DEL SN.

	N°	Scan Preoperatorio SN identificato (%)	Biopsia del SN	Intervento SN identificato (%)
Blue Dye	49	-----	49	46/49 (94)
Blue Dye + Scan	23	22/23	23	22/23 (96)
Scan	184	181/184 (98,4)	179*	176/179 (98,3)
Totale	256	203/207 (98,1)	251	244/251 (97,2)

*Nel periodo iniziale della nostra esperienza, 2 pazienti, con localizzazione esclusiva alla catena mammaria interna, non sono state sottoposte alla biopsia del SN; sono quindi uscite dallo studio.

6 pazienti il SN risultava alla catena mammaria interna; in 2 era comunque rilevabile anche una ipercaptazione sia pre- che intra-operatoria all'ascella; quattro di queste pazienti avevano una localizzazione del T ai quadranti mediali e due all'area centrale; in quattro, nelle nostra esperienza più recente, abbiamo praticato anche la biopsia del SN della catena mammaria interna. Le due pazienti in cui non abbiamo praticato la SNB della mammaria interna sono escluse da ulteriori considerazioni.

Identificazione intraoperatoria : con la tecnica del colorante vitale abbiamo identificato il SN in 46/49 (94%). Il numero dei SN rilevati con tale tecnica è stato in media di 2,5 (da 2 a 6). Con la RGS abbiamo identificato il SN in 176/179 (98,3%) con una media di 1,7 SN (da 1 a 4). Nei casi in cui abbiamo abbinato le tecniche il SN è stato identificato all'intervento in 22/23 (96%).

Complessivamente all'intervento chirurgico il SN è stato correttamente identificato 244/251 volte (97,2%). Quattro delle sette mancate identificazioni all'intervento chirurgico si sono verificate nel primo anno della nostra esperienza. Quattro volte si è trattato di donne che avevano subito una precedente biopsia escissionale; in due casi la localizzazione del tumore era al prolungamento ascellare con sovrapposizione di emissione dal focolaio di iniezione e in un solo caso non era evidente alcuna struttura linfonodale nella biopsia praticata con RGS.

In 3 casi in cui il SN era localizzato al II livello abbiamo eseguito una ALND di principio; vengono esclusi da ulteriori valutazioni nel presente studio. Riferiamo quindi su 241 pazienti.

All'esame intraoperatorio il SN è risultato negativo per metastasi 140 volte, positivo in 101 casi. Nelle 140 donne con SN negativo all'estemporanea, abbiamo praticato una FLND; nei casi in cui il SN era metastatico abbiamo praticato una ALND. L'esame istologico definitivo del SN negativo ha sempre compreso la immunohistochimica. Nelle pazienti trattate con FLND sono stati asportati tra 13 e 21 linfonodi (media 16,3); in 17 di queste pazienti, con T localizzato in quadranti diversi dal SE, la dissezione è stata praticata con tecnica mini-invasiva con un numero medio di linfonodi asportato pari a 14,4. Nelle pazienti operate con ALND sono stati identificati tra 23 e 34 linfonodi (media 26,8).

Abbiamo valutato due possibilità di falso negativo del SN: la prima è la presenza di altri linfonodi non-SN metastatici con SN negativo; la seconda è la evenienza che l'esame definitivo con l'immunohistochimica sveli la presenza di micrometastasi nel SN giudicato negativo all'estemporanea. Sono stati 6 i falsi negativi: in 4 un altro linfonodo non-SN risultava metastatico e in due casi il SN risultato negativo all'esame intraoperatorio presentava depositi metastatici alla immunohistochimica. La positività linfonodale definitiva sale quindi a 107 casi e la negatività scende a 134 (Tab. II). Il SN è risultato l'unico metastatico in 42 casi su 107 (39,3%). Da sottolineare che due volte il SN a maggiore emissione (hot-test node) risultava negativo, mentre un secondo SN, a minore emissione, era metastatico.

Sulla base di questi dati abbiamo rilevato una incidenza del falso negativo del 5,6% ed una accuratezza della tecnica del SN pari al 97,5%.

Nella Tab. III vengono confrontate le positività linfonodali in rapporto alle dimensioni del T; 3 dei 4 casi di positività di altri linfonodi non-SN si sono verificati nei T2 <3cm; il quarto caso si è verificato in un T1c. I due falsi negativi all'estemporanea del SN corretti dall'esame istologico definitivo per presenza di micrometastasi si sono verificati in un T1c e in un T2 < 3cm. Non abbiamo registrato falsi negativi nei T1a e T1b.

Non abbiamo rilevato differenze significative circa la durata della degenza né sulla incidenza di sieromi o di

Tab. II – SN E NON SN: ESAME ISTOLOGICO ESTEMPORANEO E DEFINITIVO

Estemporanea	Istologico Definitivo			
	SN	1° Livello	2°-3° Livello	n.
Pos	–	Neg	Neg	40
Pos	–	Pos	Neg o Pos	61
Neg*	Neg	Pos	–	4
Neg**	Pos	Neg	–	2
Neg	Neg	Neg	–	134
			Totale	241

*4 falsi negativi per positività di linfonodi non SN.

**2 falsi negativi dell'estemporanea del SN corretti all'esame definitivo.

Tab. III – POSITIVITÀ DEL SN ALL'ESAME INTRAOPERATORIO E DEI LINFONODI ASPORTATI (FLND E ALND) ALL'ESAME ISTOLOGICO DEFINITIVO IN RAPPORTO AL T.

	N.	Istologico Definitivo (SN e non -SN)	
		Estemporanea SN (s)	N+ (%) N- (%)
T1a	12	1	1 (8.4) 11 (91.6)
T1b	37	6	6 (16.3) 31 (83.7)
T1c	94	36	38 (40,5) 56 (59,5)
T2 <3cm	98	58	62 (63,2) 36 (36,8)
Totale (%)	241	101	107 (44,4) 134 (55,6)

alterazioni della sensibilità e motilità del cingolo scapolare nelle pazienti trattate con ALND o con FLND. Il linfedema dell'arto superiore dopo dissezione completa è presente, nella nostra casistica storica, nel 6% delle pazienti in forma lieve e nell'1% in forma moderata. Nelle pazienti trattate con FLND abbiamo riscontrato due soli casi di linfedema lieve (1,4%). Con un follow up variabile da 13 a 52 mesi non abbiamo rilevato recidive ascellari. Abbiamo registrato una recidiva sovraclavare e laterocervicale in una paziente trattata con dissezione del I livello con tecnica mini-invasiva e tre casi di metastatizzazione a distanza.

Discussione e Conclusioni

Nel cancro mammario in fase precoce l'incidenza della metastatizzazione ascellare varia dallo 0 al 19,6% per i T1a, al 31-44 % per i T1c (9, 10, 11). Molte donne ricevono quindi una linfectomia superflua e vengono esposte al rischio di complicanze talora invalidanti (12).

Il coinvolgimento linfonodale è solo ipotizzabile sulla base di alcuni parametri dei quali gli unici ritenuti significativi sono le dimensioni del tumore, la invasione linfovaskolare (13), il grading istologico e la modalità di diagnosi (in screening mammografico o meno). Anche le tecniche diagnostiche proposte nella identificazione della metastatizzazione ascellare (Ecografia, TC, RM, PET, Mammoscintigrafia) hanno evidenziato, in grado variabile, limiti di accuratezza (14, 15, 16, 17).

Negli ultimi trenta anni sono stati proposti interventi che non prevedevano alcun gesto chirurgico sulla ascella, seguiti o meno da radioterapia (18, 19, 20), o una limitazione della dissezione ascellare (sampling) in pazienti con tumore in fase precoce o anziane (21, 22, 23). Nel sampling i risultati migliori si ottengono per un numero di linfonodi asportati superiore a 6 (18, 24, 25). L'incidenza di recidiva linfonodale regionale dopo astensione è molto bassa nei T1a e T1b (2 ed 1,7%), lasciando presupporre che solo un piccolo numero di microemboli possano divenire successivamente clinicamente evi-

denti (20), ma sale in modo preoccupante nei tumori T1c e T2. Tuttavia con queste tecniche è inficiata la certezza della stadiazione e della programmazione terapeutica adiuvante; taluni Autori ritengono inoltre che si verifichi un peggioramento della prognosi per le pazienti che vanno incontro a ripresa regionale di malattia dopo dissezione incompleta (26).

La tecnica del SN consente di stabilire con accuratezza il parametro N (27). Se esaminato correttamente il SN negativo è predittivo dello stato dei linfonodi ascellari nel 95-98% e la accuratezza diagnostica sfiora o raggiunge il 100% in recenti casistiche (8). È quindi verosimile che la dissezione ascellare possa essere ridotta alla sola SNB in molte pazienti, senza significativo rischio di sottostadiazione e trattamento inadeguato, abbattendo la incidenza di complicanze, tra cui la più temibile è il braccio grosso (28, 29).

Esistono tuttavia ancora alcuni punti da meglio definire: quale sia la tecnica preferibile per la identificazione del SN, come debba essere eseguito l'esame istologico del SN e quale valore dare infine alle micrometastasi.

La identificazione del SN con tecniche colorimetriche dipende dalla esperienza dell'operatore. Questa tecnica richiede una ampia incisione del cavo ascellare, tempi operatori più lunghi, una sufficiente curva di apprendimento e il numero di SN identificati è più alto (fino a 7); in questi casi si tratta di un sampling piuttosto che di una SNB.

La introduzione della linfoscintigrafia e della RGS (3) ha reso più rapido e sicuro il riconoscimento del SN; attualmente è la tecnica di SNB più seguita. I nuovi traccianti composti da particelle tra 20 e 80 nm consentono una identificazione agevole del SN in oltre il 90% dei casi (7, 30, 31). Anche per la RGS esistono cause di errore come una precedente biopsia chirurgica (32); non tutti concordano con questa ipotesi (33). Una mancata identificazione si può verificare anche se il T è localizzato al prolungamento ascellare della mammella. È inoltre possibile che il SN metastatico non sia quello più "caldo" (hottest) (34); noi ne abbiamo osservato due casi. È quindi prudente prelevare ed esaminare tutti i SN. Va infine ricordata la multicentricità misconosciuta del tumore tra le cause di falso negativo, ma questa, più che un errore della tecnica del SN, è un difetto nella diagnostica della malattia mammaria.

La combinazione delle due metodiche, radioguidata e colorimetrica, se da un lato migliora le percentuali di identificazione del SN, dall'altro allunga i tempi per la biopsia (35, 36, 37, 38); talora il SN identificato con le due tecniche è differente (39).

Circa la sede di iniezione del tracciante molti Autori danno la preferenza alla via intradermica, associata o meno alla peritumorale, per rapidità di progressione del tracciante e semplicità di esecuzione riportando anche una significativa riduzione dei falsi negativi e una maggiore radioattività del SN (19, 31, 40). Noi preferiamo la via intradermica nelle lesioni situate superficialmente

e la via peritumorale, eventualmente associata alla intradermica, se la lesione è situata profondamente nel parenchima mammario; se il tumore non è palpabile, eseguiamo la iniezione del tracciante sotto guida ecografica, così come suggerito da altri Autori (41). Recentemente è stata proposta una iniezione del tracciante in sede retroareolare, presupponendo una unità funzionale di drenaggio linfatico tra ghiandola mammaria e cute che la ricopre (42, 43). Il nostro gruppo ha dimostrato con la linfo-scintigrafia, in un caso di doppia neoplasia mammaria sincrona, un distinto drenaggio linfatico per ciascun tumore: il tumore localizzato all'area centrale drenava ad un SN ascellare mentre quello al quadrante infero-interno ad un SN della catena mammaria interna (44). Riteniamo pertanto questa proposta non affidabile.

La nostra preferenza va alla RGS, con iniezione peritumorale e/o intradermica, che risulta semplice, rapida, consente una piccola incisione ascellare per la biopsia del SN e ci ha consentito la identificazione del SN nel 98,3%. In 17 donne con tumore localizzato in quadranti diversi dal supero-esterno abbiamo potuto completare la FLND con tecnica mini-invasiva, il cui risultato estetico è molto soddisfacente.

Si discute anche circa la tecnica di analisi istologica del SN: alcuni Autori ritengono che l'esame intraoperatorio con sezioni seriate sottili garantisca da possibili sottostadiazioni; altri ritengono più sicuro un esame postoperatorio del SN, impiegando anche le citocheratine. In estemporanea è stato anche proposto l'imprint citologico che potrebbe migliorare la valutazione intraoperatoria del SN (45). È certo che la aggiunta della immunoistochimica consente un miglioramento del rilievo di metastasi da 4 al 14% o, quanto meno, di interpretare come metastasi gruppi cellulari già evidenziati alle sezioni seriate (46).

Nella nostra esperienza abbiamo dato la preferenza ad un esame estemporaneo con multiple sezioni sottili colorate con EE, associato ad una FLND nel caso di SN negativo: l'estemporaneo identifica la grande maggioranza delle metastasi del SN (solo 2 falsi negativi dell'esame intraoperatorio corretti dall'immunoistochimica); la FLND mette al riparo dalla necessità di un secondo intervento, nel caso in cui nel SN vengano identificate micrometastasi all'esame definitivo con immunoistochimica.

Frequentemente il SN è l'unico ad essere metastatico (nella nostra esperienza SN unico metastatico in 42 casi su 107 di positività, pari al 39,3%); è stato quindi proposto di limitare la dissezione della ascella anche nei casi con SN positivo da T1a o con micrometastasi da tumori T1/T2 (47). La evenienza che altri linfonodi ascellari non-SN siano anche essi positivi dipende dal volume della metastatizzazione del SN, inferiore o superiore a 2 mm per Kamath (48), tanto che questo Autore identifica un subset di pazienti con micrometastasi rilevate con la immunoistochimica e confinate al solo SN nel 92,4%

dei casi ed ipotizza la possibilità di limitare la dissezione al solo SN anche se metastatico. Questa ipotesi appare ancora da verificare ed esistono in letteratura opinioni che invitano alla prudenza. Rahussen (49) ha infatti valutato una doppia variabile (numero dei SNs invasi e presenza di metastasi < o > superiori ad 1mm); secondo questo Autore pazienti con un singolo SN positivo e metastasi <1 mm hanno una incidenza di non-SN negativi significativamente inferiore rispetto alle pazienti con più di un SN invaso (40% vs 78%) e rispetto alle pazienti con macrometastasi (27% vs 49%); sulla base di questi dati conclude che non è ancora possibile identificare con sicurezza un subset di pazienti con non-SN indenni. Wong (50) rileva, oltre al numero dei SNs invasi, nelle dimensioni del T un fattore di incremento della colonizzazione dei linfonodi non-SN; anche egli giunge alla conclusione che è comunque opportuno consigliare la dissezione completa dell'ascella se i SNs sono positivi.

Nella nostra esperienza abbiamo rilevato un aumento di incidenza della metastatizzazione dei non SN nei T2 <3 cm; questo incremento è particolarmente evidente nel caso di macrometastatizzazione del SN e di positività di 2 o più SN. Questi sono, a nostro avviso, correlati in quanto nei T2, rispetto ai T1, abbiamo osservato più macrometastatizzazioni e multipla positività dei SN.

Nella nostra esperienza, la FLND, nei casi con SN negativo all'estemporanea, si è dimostrata una tecnica sicura soprattutto nei T1 e priva di complicanze significative. Riteniamo quindi di poter diversificare ulteriormente la dissezione linfonodale in rapporto alle dimensioni del tumore, oltre che alla positività o meno del SN. Da giugno 2001 abbiamo infatti iniziato una terza fase dello studio in cui limitiamo la dissezione linfonodale dell'ascella alla sola SNB per i T1, con SN negativo all'estemporanea, eseguendo, in un secondo tempo, una FLND solo nei casi in cui l'esame istologico definitivo mostri una metastatizzazione misconosciuta in uno o più SN.

Riassunto

Molti studi hanno dimostrato la affidabilità della tecnica del linfonodo sentinella (SN) nella valutazione del parametro N nel cancro mammario tanto da indurre a limitare la dissezione ascellare alla biopsia del solo SN (SNB) in caso questo sia negativo.

Dopo un periodo di messa a punto della tecnica di identificazione, biopsia ed esame istologico del SN (ottobre 97- gennaio 98) sempre seguita dalla dissezione completa dei tre livelli dell'ascella (ALND), abbiamo intrapreso uno studio per valutare la affidabilità di una dissezione limitata al solo I livello dell'ascella (FLND) in donne con T<3 cm, N0-1a, M0, non sottoposte in precedenza a trattamenti neoadiuvanti ed in cui il SN risultava non metastatico. Questa fase dello studio iniziata a febbraio 1998

si è conclusa a maggio 2001. Nel presente lavoro vengono riportati i risultati relativi a questo periodo.

Materiali e metodi: abbiamo arruolato 256 donne con T <3cm, N0-1a, M0. La tecnica di rilievo del SN è stata in 49 casi con colorante vitale, in 23 con colorante + chirurgia radioguidata (RGS) e in 184 con la sola RGS. L'esame istologico estemporaneo del SN è stato eseguito con sezioni seriate sottili, colorate con EE, al congelatore. Nel caso in cui il SN risultava negativo all'esame intraoperatorio, abbiamo limitato la dissezione al solo I livello della ascella tranne che in 3 pazienti, con SN localizzato al II livello, in cui abbiamo effettuato una ALND. La FLND è stata eseguita in 17 casi con tecnica miniinvasiva. L'esame istologico definitivo del SN ha sempre compreso la immunoistochimica. Nel caso in cui l'esame definitivo mostrava una positività del SN, misconosciuta all'esame intraoperatorio, le pazienti sono state sottoposte a chemioterapia adiuvante.

Risultati: Alla linfoscintigrafia preoperatoria il SN è stato evidenziato in 203/207 pazienti (98,1%). All'intervento chirurgico il SN è stato identificato in 46/49 (94%) con il colorante vitale, in 22/23 (96%) con la combinazione colorante + RGS e in 176/179 (98,3%) con la RGS. All'estemporanea è risultato negativo in 140, metastatico in 101; all'istologico definitivo abbiamo rilevato 6 falsi negativi del SN per positività di altri non SN (4 casi) o per evidenza alla immunoistochimica di micrometastasi del SN, non rilevate all'estemporanea (2 casi). Su 107 casi di N+ il SN era l'unico metastatico in 42 (39,3%). La percentuale di falsi negativi è risultata pari al 5,6% e la accuratezza diagnostica della SNB al 97,5%. Nel gruppo di pazienti trattate con FLND abbiamo rilevato solo due casi di linfedema di lieve entità (1,4%).

Conclusioni: I nostri risultati sono in linea con la letteratura internazionale e ci hanno indotto, da giugno 2001, ad iniziare una nuova fase dello studio in cui, nelle donne con carcinoma mammario T1, limitiamo la dissezione dell'ascella al solo SN, se non metastatico. Parole chiave: Cancro mammella, linfonodo sentinella, dissezione ascellare.

Bibliografia

- 1) Cabanas R.M.: *An approach for the treatment of penile carcinoma*. Cancer, 39:456-66, 1977.
- 2) Morton D.L., Duan-Ren W., Wong J.H., Yeatman T., Balducci L., Ku N., Shivers S., Berman C., Wells K., Rapaport D., Shons A., Horton J., Greenberg H., Nicosia S., Clark R., Cantor A., Reintgen D.S.: *Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma*. Arch Surg, 127:392-9, 1992.
- 3) Krag D.N., Weaver D.L., Alex J.C., Fairbank J.T.: *Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe*. Surg Oncol, 2:335-9, 1993.
- 4) Giuliano A.E., Kirgan D.M., Guenther J.M., Morton D.L.: *Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer*. Ann Surg, 220:391-8, 1994.
- 5) Albertini J.J., Lyman G.H., Cox C., Yeatman T., Balducci L., Ku N., Shivers S., Berman P.L., Wells K., Rapaport D., Shons A., Horton J., Greenberg H., Nicosia S., Clark R., Cantor A., Reintgen D.S.: *Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer*. JAMA, 276:1818-22, 1996.
- 6) Veronesi U., Paganelli G., Galimberti V., Viale G., Zurrida S., Bedoni M., Costa A., de Cicco C., Geraghty J.G., Luini A., Sacchini V., Veronesi P.: *Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes*. Lancet, 349:1864-67, 1997.
- 7) Cody H.S. 3rd: *Sentinel lymph node mapping in breast cancer*. Oncology, 13(1):25-34, 1999.
- 8) Giuliano A.E., Haigh P.I., Breannan M.B., Hansen N.M., Kelley M.C., Ye W., Glass E.C., Turner R.R.: *Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further axillary dissection in patients with sentinel node-negative breast cancer*. J Clin Oncol, 18(13):2553-9, 2000.
- 9) Mincey B.A., Bammer T., Atkinson E.J., Perez E.A.: *Role of axillary node dissection in patients with T1a and T1b breast cancer*. Mayo Clinic Experience. Arch Surg, 136(7):779-82, 2001.
- 10) Shoup M., Malinzak L., Weisenberger J., Aranha G.V.: *Predictors of axillary lymph node metastasis in T1 breast carcinoma*. Am Surg, 65(8):748-52, 1999.
- 11) Carter C.L., Allen C., Henson D.E.: *Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24,740 breast cancer cases*. Cancer, 63:181-187, 1989.
- 12) Velanovich V., Szymanski W.: *Quality of life of breast cancer patients with lymphedema*. Am J Surg, 177:3, 184-7, 1999.
- 13) Port E.R., Tan L.K., Borgen P.I., Van Zee K.J.: *Incidence of axillary lymph node metastases in T1a and T1b breast carcinoma*. Ann Surg Oncol, 5:1, 23-7, 1998.
- 14) Lam W.W., Yang W.T., Chan Y.L. et al.: *Detection of lymph node axillary metastases in breast carcinoma by technetium-99m sestamibi breast scintigraphy, ultrasound and conventional mammography*. Eur J Nucl Med, 23:498, 1996.
- 15) Bombardieri E., Crippa F., Maffioli L., Draisma A., Chiti A., Agresti R., Greco M.: *Nuclear medicine approaches for detection of axillary lymph node metastases*. QJ Nucl Med, 42:1, 54-65, 1998.
- 16) Mansi L., Rambaldi P.F., Procaccini E., Cuccurullo V., Laprovitera A.P.: *Scintimammography with Tc99m tetrofosmin in the diagnosis of breast cancer and lymph node metastases*. Eur J Nucl Med, 23:932-9, 1996.
- 17) Avrio N., Dose J., Jianicke F.: *Assessment of axillary lymph node involvement in breast cancer patients with positron emission tomography using radiolabeled 2-(fluorine-18)-fluoro-2-deoxy-D-glucose*. J Nat Cancer Inst, 88:1204, 1996.
- 18) Fisher B., Redmond C., Fisher E.R. et al.: *Ten-year results of a randomized trial comparing radical mastectomy and total mastectomy with or without radiation*. New Engl J Med, 312:674-81, 1985.
- 19) Kuznetsova M., Graybill J.C., Zusag T.W., Hartsell W.F., Griem K.L.: *Omission of axillary lymph node dissection in early-stage breast cancer: effect on treatment outcome*. Radiology, 197:507-10, 1995.

- 20) Greco M., Agresti R., Cascinelli N., Canalini P., Giovanazzi R., Maucione A., Tomasic G., Ferrarsi C., Ammatuna M., Pilotti S., Menard S.: *Breast cancer patients treated without axillary surgery: clinical implications and biologic analysis.* Ann Surg, 232(1):1-7, 2000.
- 21) Forrest A.P.M., Everington D., Mc Donald C.C., Steele R.J.C. et al.: *The Edinburgh randomized trial of axillary sampling or clearance after mastectomy.* Br J Surg, 82:1504-8, 1995.
- 22) Kingston R.D., Bridger J., Smith C.J., Jeacock J., Robinson C.: *Axillary sampling and radiotherapy does not compromise the patient with early breast cancer. Trafford database experience.* Eur J Surg Oncol, 21:364-7, 1995.
- 23) Feigelson B.J., Acosta J.A., Feigelson H.S. et al.: *T1 breast carcinoma in women 70 years of age and older may not require axillary lymph node dissection.* Am J Surg, 172:487-90, 1996.
- 24) Graversen H.P., Lichert-Toft M.B. et al.: *Breast cancer risk of axillary recurrence in node negative patients following partial dissection of the axilla.* Eur J Surg Oncol, 14:487-90, 1988.
- 25) Axelsson C.K., Mouridsen H.T., Zedeler K.: *Axillary dissection of level I and II lymph nodes is important in breast classification.* Eur J Cancer, 28A:1415, 1992.
- 26) Kiaergaard J., Blichert-Toft M., Andersen J. et al.: *Probability of false negative nodal staging in conjunction with partial axillary dissection in breast cancer.* Br J Surg, 72:365-7, 1985.
- 27) Veronesi U., Paganelli G., Viale G., Galimberti V., Luini A., Zurrada S., Robertson C., Sacchini V., Veronesi P., Orvieto E., de Cicco C., Intra M., Tosi G., Scarpa D.: *Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series.* J Natl Cancer Inst, 91(4):368-73, 1999.
- 28) Schrenk P., Rieger R., Shamiyeh A., Wayand W.: *Morbidity following sentinel lymph node biopsy versus axillary lymph node dissection for patients with breast carcinoma.* Cancer, 88(3):608-14, 2000.
- 29) Sener S.F., Winchester D.J., Martz C.H., Feldman J.L., Cavanaugh J.A., Winchester D.P., Weigel B., Bonnefoi K., Kirby K., Morehead C.: *Lymphedema after sentinel lymphadenectomy for breast carcinoma.* Cancer, 92(4):748-52, 2001.
- 30) Paganelli G.: *Sentinel node biopsy: role of nuclear medicine in conservative surgery of breast cancer.* Eur J Nucl Med, 25; 99-100, 1998.
- 31) Mariani G., Moresco L., Viale G., Villa G., Bagnasco M., Canadese G., Buscombe J., Strass H.W., Paganelli G.: *Radioguided sentinel lymph node biopsy in breast cancer surgery.* J Nucl Med, 42(8):1198-215, 2001.
- 32) Feldman S.M., Krag D.N., McNally R.K., Moor B.B., Weaver D.L., Klein P.: *Limitation in gamma probe localization of the sentinel node in breast cancer patients with large excisional biopsy.* J Am Coll Surg, 188:3, 248-54, 1999.
- 33) Haigh P.I., Hansen N.M., Qi K., Giuliano A.E.: *Biopsy method and excision volume do not affect success rate of subsequent sentinel lymph node dissection in breast cancer.* Ann Surg Oncol, 7:121-7, 2000.
- 34) Lannin D., Meade P., Moran J., Edwards M., Newton J.L., Tafta L.: *Is the hottest node the node most likely to be positive in lymphatic mapping for soft tissue tumors?* ASCO, Abst. 1985, 1998.
- 35) O'Hea B.J., Hill A.D.K., El-Shirbiny A.M., Yeh S.D.J., Rosen P.P., Coit D.G., Borgen P.I., Cody H.S.: *Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: initial experience at Memorial Sloan-Kettering Cancer Centre.* J Am Coll Surg, 186:423-7, 1998.
- 36) Mc Intosh S.A., Purushotham A.D.: *Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in breast cancer.* Br J Surg, 85, 10:1347-56, 1998.
- 37) Hill A.D., Tran K.N., Akhurst T., Yeung H., Yeh S.D., Rosen P.P., Borgen P.I., Cody H.S. 3rd: *Lessons learned from 500 cases of lymphatic mapping for breast cancer.* Ann Surg, 229(4):528-35, 1999.
- 38) Tafta L., Lannin D.R., Swanson M.S., Van Eyk J.J., Verbanac K.M., Chua A.N., Ng P.C., Edwards M.S., Halliday B.E., Henry C.A., Sommers L.M., Carman C.M., Molin M.R., Yurko J.E., Perry R.R., Williams R.: *Multicenter trial of sentinel node biopsy for breast cancer using both technetium sulfur colloid and isosulfan blue dye.* Ann Surg, 233(1):51-9, 2001.
- 39) De Cicco C., Cremonesi M., Luini A., Bartolomei M., Grana C., Prisco G., Galimberti V., Calza P., Viale G., Veronesi U., Paganelli G.: *Lymphoscintigraphy and radioguided biopsy of the sentinel axillary node in breast cancer.* J Nucl Med, 39, 12:2080-84, 1998.
- 40) Mc Masters K.M., Wong S.L., Martin R.C., Chao C., Tuttle T.M., Noyes R.D., Carlson D.J., Laidley A.L., Mc Glothin T.Q., Ley P.B., Brown C.M., Glaser R.L., Pennington R.E., Turk P.S., Simpson D., Cerrito P.B., Edwards M.J.: *Dermal injection of radioactive colloid is superior to peritumoral injection for breast cancer sentinel lymph node biopsy: results of a multiinstitutional study.* Ann Surg, 233(5):676-87, 2001.
- 41) Miner T.J., Shriver C.D., Jacques D.P., Maniscalco-Theberge M.F., Krag D.N.: *Ultrasonographically guided injection improves localization of the radiolabeled sentinel lymph node in breast cancer.* Ann Surg Oncol, 5(4):315-20, 1998.
- 42) Borgstein P.J., Meijer S., Pijpers R.J., van Diest P.J.: *Functional lymphatic anatomy for sentinel node biopsy in breast cancer: echoes from the past and the periareolar blue method.* Ann Surg, 231(1):81-9, 2000.
- 43) Kern K.A., Rosenberg R.J.: *Preoperative lymphoscintigraphy during lymphatic mapping for breast cancer: improved sentinel node imaging using subareolar injection of technetium 99m sulfur colloid.* J Am Coll Surg, 191(5):479-89, 2000.
- 44) Procaccini E., Cuccurullo V., Ruggiero R., Laprovitera A.P., Rambaldi P.F., Ferrara A., Mansi L.: *Double lymphatic spread in plurifocal breast cancer. Case Report* (in press).
- 45) Motomura K., Inaji H., Komoike Y., Kasugai T., Nagumo S., Noguchi S., Koyama H.: *Intraoperative sentinel lymph node examination by imprint cytology and frozen section during breast surgery.* Br J Surg, 87:597-601, 2000.
- 46) Viale G., Bosari S., Mazzarol G., Galimberti V., Luini A., Veronesi P., Paganelli G., Bedoni M., Orvieto E.: *Intraoperative examination of axillary sentinel lymph nodes in breast carcinoma patients.* Cancer, 85:11, 2433-8, 1999.
- 47) Chu K.U., Turner R.R., Hansen N.M., Brennan M.B., Bilchik A., Giuliano A.E.: *Do all patients with sentinel node metastasis from breast carcinoma need complete axillary node dissection?* Ann Surg, 229:4, 536-41, 1999.
- 48) Kamath V.J., Giuliano R., Dauway E.L., Cantor A., Barman C., Ku N.N., Cox C.E., Reintgen D.S.: *Characteristics of the sen-*

tinel lymph node in breast cancer predict further involvement of higher-echelon nodes in the axilla: a study to evaluate the need for complete axillary lymph node dissection. Arch Surg, 136(6):688-92, 2001.

49) Rahusen F.D., Torrenge H., van Diest P.J., Pijpers R., van der Wall E., Licht J., Meijer S.: *Predictive factors for metastatic involv-*

ment of nonsentinel nodes in patients with breast cancer. Arch Surg, 136(9):1059-63, 2001.

50) Wong S.L., Edwards M.J., Chao C., Tuttle T.M., Noyes R.D., Woo C., Cerrito P.B., Mc Masters K.M.: *Predicting the status of nonsentinel axillary nodes: a multicenter study.* Arch Surg, 136(5):563-8, 2001.

Commento

Commentary

Prof. Nicola PICARDI

Ordinario di Chirurgia Generale
Università "G. d'Annunzio" di Chieti

Nella ormai ricca produzione scientifica attorno all'impiego della strategia del LNS per il carcinoma mammario di scoperta precoce, il presente studio porta un contributo casistico abbastanza rilevante, che ricalca peraltro gli schemi operativi oggi più diffusi sul tema. Esso affida la sua validità sulla uniformità operativa dell'esperienza presentata, perché eseguito da una singola squadra chirurgica e con l'adozione di un protocollo formalmente omogeneo. Originale è l'adozione della tecnica mini-invasiva per il prelievo linfonodale, limitata peraltro ad alcuni casi selezionati sulla base della sede del tumore primitivo.

L'affidare le decisioni per l'adozione di un trattamento, adiuvante alla positività del LNS di primo livello presenta però tuttora un certo margine di rischio, anche se dai risultati del presente lavoro esso risulta ulteriormente ridotto rispetto ai dati della letteratura, in considerazione dei falsi negativi e dell'accuratezza diagnostica rilevati nello studio presentato.

Sul piano globale non appare opportuno l'arruolamento nello studio di 39 pazienti precedentemente sottoposte a biopsia chirurgica, verosimilmente eseguita in altra sede – a parte la decisa critica specifica a questa strategia se non eseguita in regime estemporaneo – perché così si aggiunge ad una strategia già ricca di elementi inevitabilmente difforni, ulteriori elementi di variabilità che, nel caso specifico, possono interferire sulla prognosi e dunque sulla corretta valutazione dei risultati.

Dato il significato eminentemente stadiativo dell'analisi istologica dei linfonodi ascellari, si può condividere la scelta di non sottoporre la paziente a nuovo intervento chirurgico per una linfoadenectomia ascellare nel caso di provata falsa negatività del NS all'esame estemporaneo, quando cioè venga poi smentita dall'esame istologico definitivo. Naturalmente questa scelta va comunque seguita da un adeguato trattamento adiuvante.

Un commento positivo merita la scelta degli Autori di eseguire coppie multiple di sezioni sottili di NS in fase estemporanea, di cui una sola di ogni coppia esaminata con colorazione EIE. Anche se rimane discutibile il significato delle micrometastasi linfonodali, pur tuttavia estendere la loro ricerca con l'esame estemporaneo a diversi livelli, sia pure con la semplice colorazione di base, può offrire in tempi brevi informazioni utili per le decisioni immediate, senza vistosi aggravati dal punto di vista dell'economia di tempo e di costi.

Non è indicato nel lavoro se, come è presumibile, sia stata adottata una chirurgia moderatamente demolitiva in presenza di un T <3cm, seguita da un protocollo di RT postoperatoria.

La riprova della bontà strategica della metodica del LNS richiede certamente ancora ulteriori verifiche, sia per ciò che riguarda la decisione di una dissezione ascellare limitata sui risultati dell'esame istologico estemporaneo e con semplice colorazione E/E, sia globalmente sulla scelta di adottare o meno il trattamento chemioterapico adiuvante basandosi sempre e soltanto sui dati di questi risultati. Per questi controlli di validità della strategia l'unica verifica affidabile è quella fondata su un follow-up di molti anni sulla totalità di un numero molto ampio di pazienti, e per un periodo di tempo certamente superiore al tempo di latenza media per la comparsa di metastasi dopo il trattamento chirurgico del tumore mammario, dopo trattamento adeguato sia chirurgico che adiuvante. Pertanto è auspicabile che la casistica presentata dagli Autori si accresca con la stessa uniformità, ma soprattutto che si riesca a seguirla diligentemente ed a lungo nel tempo, per contribuire all'acquisizione in modo prospettico dei chiarimenti ancora necessari circa la validità dell'intera metodica.

In the large scientific production of SN strategy for early mammary cancer, this paper gives a rather numerous contribution, performed with the more usual surgical strategy. The true interest of the study comes from the homogeneous surgical technique chosen, and moreover in the hands of the same surgical staff with a single protocol. The adoption of mini-inva-

sive technique for lymph-node direct picking-up is rather original, though reserved to selected cases considering the primitive tumour's localisation. The trust on the eventually positive lymph-node of first level (SN) to decide the possible adjuvant treatment is the core of the SN strategy, although the findings could be inadequate in some cases, and in these there can be a risk of error. From the results of the paper this risk seems further reduced versus literature reports because of a declared low false negative rate and high diagnostic accuracy. From a general point of view, it should be rejected the enrolling in the study of the 39 patients previously submitted elsewhere to biopsy – a strategy that can be anyway criticized because the biopsy must be used only for extemporary diagnosis – not to introduce further elements of variability (specifically interfering with prognosis and correct evaluation of outcomes) in a strategy already burdened by many different elements of variability.

Since the histological analysis of axillary lymph-nodes is only for stadiation purpose, we agree with the choice of the authors not to submit the patient to a new operation of axillary lymph-adenectomy also in case of successive demonstrated false negativity of the SN strategy on late histological examination. Certainly in these cases the choice must be followed by an adequate adjuvant treatment.

Welcomed and largely agreed is the evaluation of multiple couples of thin sections of the SN for complete extemporary diagnosis, with one slice of the single couple dyed at the beginning with the simple and quick E/E coloration. Although lymph-nodal micro-metastasis meaning is still questionable, yet extending their search to different levels by extemporary examination on the single node, even by the simplest and basic coloration, can offer useful information for quick and immediate decisions, reducing loss of time and costs.

In the paper it is not specified whether a mildly radical surgery has been adopted in the presence of $T < 3$ cm, and were followed by a post-operative RT protocol.

The good results of SN method certainly need further confirmations, to confirm the rightness of following decision regarding the axillary dissection, eventually reserved only to the cases of positive SN on extemporary histological evaluation and moreover on simple E/E coloration. Likewise is still questionable the choice of adopting or not the adjuvant chemotherapy only on the basis of these results as a point of reference.

For a correct evaluation of the entire SN strategy, only a long follow up of many years, and on a large number of patients, can validate it, and for a lap of time surely longer than the average latency period for the appearance of metastasis after an adequate surgical treatment for mammary tumour.

Therefore, it is advisable that the series of cases presented by the authors will be further increased and with the same uniform procedure, provided the follow up were careful and careful, in order to help prospectively in the acquisition of the still necessary clarification for a whole method value.

Bibliography

- 1) Picardi N.: *Inspiring Concepts the modern surgery of mammary cancer*. Ann Ital Chir, 70/3, 321-334, 1999.
- 2) Gemignani M.L., Cody H.S. 3rd, Fey J. V., Tran K.N., Venkatraman E., Borgen P.I.: *Impact of sentinel lymph node mapping on relative charges in patients with early-stage breast cancer*. Ann Surg Oncol, 7/8, 575-580, 2000.
- 3) Xu X., Roberts S.A., Pasha T.L., Zhang P.J.: *Undesirable cytokeratin immunoreactivity of native nonepithelial cell in sentinel lymph nodes from patients with breast carcinoma*. Arch Pathol Lab Med, 124/9, 1310-1313, 2000.
- 4) Rodier J.F., Routiot T., Mignotte H., Janser J.C., Bremond A., David E., Barlier C., Ghnassia J.P., Treilleux I., Chassagne C., Velten M.: *Lymphatic [mapping and sentinel node biopsy of operable breast cancer]*. World J Surg, 24/10, 1220-1226, 2000.
- 5) Div. Nuclear medicine, Civic Spedali of Brescia: *Tumors*, 86/4, 309-311, 2000.
- 6) Multicentre Validation Study, New Engl Med J, 339/14, 941-946, 1998.
- 7) Businesslike operational for the nodale sentinel, University from Genoa, Service of Nuclear Medicine Tumors, 86/4, 297-299, 2000.
- 8) UOA nuclear Medicine - Hospital of the Patients of Biella - *Tumors*, 86/4, 304-306, 2000.

Autore corrispondente:

Prof. E. PROCACCINI
Seconda Università di Napoli
Cattedra di Chirurgia Generale
P.zza Miraglia
80138 NAPOLI
E-mail: eugenio.procaccini@unina2.it

