

# Valoración pronóstica del carcinoma ductal infiltrante mamario en PAAF. Estudio comparativo de tres sistemas de graduación citológica

## *Prognostic evaluation of invasive ductal carcinoma of the breast by fine needle aspiration biopsy. Comparative study of three cytological grading systems*

Francisco Javier Torres Gómez<sup>1</sup>, Luis Felipe Calle Cruz<sup>2</sup>, Francisco Javier Torres Olivera<sup>3</sup>

### RESUMEN

Se han valorado comparativamente tres sistemas de graduación citológica, que combinan diversos parámetros morfológicos para definir el grado citológico (GC), correlacionándolos con el grado histológico (GH), grado citológico histológico (GCH) e índice mitótico histológico (IMH), en 366 muestras de PAAF obtenidas de piezas quirúrgicas sin fijar con carcinoma ductal infiltrante. La sensibilidad y la especificidad de los sistemas de graduación para definir el GC1 han oscilado respectivamente entre el 91,9% y 95,2% y entre 89,3% y 98,2%. Para la definición del GC3 se ha obtenido una sensibilidad y especificidad comprendida respectivamente entre 88,4% y 80,6% y entre 90,7% y 95,4%. El grado de anisocariosis, de agrupamiento celular, de irregularidad de la membrana nuclear y la ausencia o presencia de mitosis son los parámetros que se correlacionan con el GH con mayor significación estadística. Los parámetros excluyentes tienen un valor importante para definir el GC. La correlación del GC con el GCH es adecuada, mientras que la establecida con el IMH es válida solamente en el grupo de menor grado. No se han realizado catalogaciones indebidas de tumores de bajo grado como de alto grado y viceversa. Las catalogaciones erróneas entre el grado bajo e intermedio y entre grado intermedio y alto se sitúan en el rango referido en la literatura.

**Palabras clave:** Grado citológico, carcinoma ductal infiltrante, PAAF.

### SUMMARY

We have evaluated three different systems of cytologic grading based in morphological parameters in order to define the Cytological Grade (CG) making a correlation with the Histological Grade (HG), Histological Cytological Grade (HCG) and the Histological Mitotic Index (HMI) in 366 FNA biopsies from surgical specimens of the breast without fixation diagnosed as invasive ductal carcinoma. The sensitivity and specificity of the grading systems used to define CG1 fluctuate between 91.9% and 95.2% and 89.3% and 98.2%, respectively. They are between 88.4% and 80.6% and 90.7 and 95.4% in the definition of CG3. Anisocariosis index, cellular grouping, nuclear membrane irregularity and the presence or absence of mitotic figures are the parameters that correlate with the HG showing the best statistic signification. Excluding parameters are important in order to define the CG. The correlation between CG and HCG is good in almost every case but the one established between CG and HMI is valid only in the group with lower grade. We have not classified improperly grade tumours as high grade tumours and vice versa. The erroneous classification of tumours of low grade as intermediate grade and these as high grade tumours are in the range referred in the literature.

**Keywords:** Cytological grade, invasive ductal carcinoma, FNAC.

*Rev Esp Patol 2008; 41 (4): 279-285*

Recibido el 21/8/07. Aceptado el 19/3/08.

<sup>1</sup> Hospital de Alta Resolución de Utrera. Unidad de Anatomía Patológica.

<sup>2</sup> Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica. Facultad de Medicina. Sevilla.

<sup>3</sup> Hospital Universitario Virgen Macarena. Dpto. de Anatomía Patológica. Sevilla.

Correspondencia:

Francisco Javier Torres Olivera

Dpto. de Anatomía Patológica

Hospital Universitario Virgen Macarena

Avda. Doctor Fedriani, 3

41003 Sevilla

ptorresolivera@gmail.com

## INTRODUCCIÓN

La valoración pronóstica mediante PAAF de los carcinomas mamarios ha sido un intento mantenido a partir de la década de los 70 (1,2) que no se ha materializado en parámetros morfológicos homogéneos, debido a la disparidad de criterios utilizados y a la subjetividad de su valoración. Por otra parte, a pesar de la utilidad probada de algunos de estos parámetros en reflejar la conducta biológica del tumor (3), no ha sido posible conseguir el reflejo de estos datos en el informe citopatológico de forma estandarizada.

Algunos sistemas de clasificación citopronóstica establecen tres grados (4-9). En estos sistemas se valoran la disposición celular y las características nucleares, con pequeñas variaciones. Algunos de estos sistemas valoran además el hallazgo de mitosis de forma variable (4,5,9). Otros sistemas establecen igualmente tres grados pronósticos basándose exclusivamente en criterios nucleares (10-12). Otros autores establecen dos grupos predictivos combinando criterios nucleares y número de mitosis (9,13,14).

El grado histológico combinado propuesto por Elston y Ellis (15), una modificación al sistema de Bloom y Richardson (16) ha demostrado su valor pronóstico en el carcinoma ductal infiltrante de mama. El grado histológico (GH) se obtiene mediante la suma de la valoración de tres parámetros: formación tubular, atipia nuclear y número de mitosis. Parece lógico que la correlación cito-histológica debiera fundamentarse en estos parámetros (17). Sin embargo el reconocimiento de túbulos en material citológico es dificultoso y su presentación inequívoca, excepcional (12,17,18). El grado nuclear es el parámetro morfológico mejor correlacionado con la histología (12,17,19,20) independientemente del método tintorial utilizado (21). No obstante, la valoración de la atipia nuclear es el resultado de la combinación heterogénea de características morfológicas nucleares (4,7,9,10,12,13,20-26), lo que ha creado alguna discrepancia en cuanto a su valor pronóstico (27). El índice mitótico obtenido en material de PAAF ha demostrado un valor pronóstico similar al grado nuclear en el material histológico (21) por lo que este parámetro se encuentra integrado en algunos sistemas de graduación citológica. Sin embargo otros autores no encuentran correlación entre el índice mitótico tisular y el obtenido en muestras citológicas (12,19,20), debido a dificultades de identificación (12,19), o a la escasez de material celular en la PAAF (4,10,18,20,23,24,26,27). El grado de disociación celular se correlaciona significativamente con la presencia o no de metástasis (25,28,29) y aparece integrado en algunos sistemas de graduación citológica (4,5,7,25). El grado citológico (GC) obtenido con la inclusión de este parámetro se correlaciona bien con el GH (25). Otros sistemas no valoran este parámetro (23,24). Algunos sistemas incorporan el tamaño nuclear como parámetro (7,30) y otros introducen porcentajes para valo-

rarlos (8,12,30). Como puede apreciarse en lo expuesto en este apartado, la heterogeneidad de criterios es realmente significativa.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha obtenido material citológico de 366 piezas de tumorectomías mamarias remitidas sin fijar al Departamento de Anatomía Patológica para estudio intraoperatorio. Una vez realizada la descripción macroscópica de la pieza, medido el tamaño del tumor, seccionado y obtenido un fragmento del mismo para su estudio en congelación, hemos procedido a realizar una PAAF multidireccional del tumor. El material obtenido por este procedimiento se ha extendido sobre un portaobjetos mediante deslizamiento e inmediatamente pulverizado con fijador comercial en spray (Mercofix). Este procedimiento permite obtener extensiones de óptima calidad, con abundante celularidad, distribuida homogéneamente en monocapa y fijación inmediata y adecuada.

Los extendidos citológicos se han teñido según el método de Papanicolaou y montados con cubre mediante Eukitt.

La valoración citológica para la obtención del grado citológico (GC) se ha realizado en un microscopio Olympus BX 40 mediante observación a 100 y 400 aumentos, desconociendo el resultado del estudio anatomopatológico de la pieza de tumorectomía. En cada caso se ha determinado el GC aplicando los criterios morfológicos propuestos por Fisher (23) Robinson (25) y una variante de los propuestos por Jayaram (30) a los que se les ha asignado valor de 1 a 3, correlacionándolos con el GH, grado citológico histológico (GCH) e índice mitótico histológico (IMH).

El análisis estadístico de los datos se ha realizado con el programa SPSS versión 12.0 para Windows. Los métodos utilizados han sido: para el análisis de variables cualitativas o cuantitativas agrupadas en intervalos se han calculado las tablas de contingencia u homogeneidad con el test de la Chi-cuadrado o en el caso de tablas 2 x 2, con la corrección de continuidad. En el caso de comparación de variables cuantitativas según los grupos que establece una variable cualitativa, hemos utilizado el análisis de la varianza (Anova) y en el supuesto de obtener diferencias significativas hemos utilizado el test de comparaciones múltiples de Bonferroni. La sensibilidad y especificidad de los métodos de graduación citológica se han calculado a partir de las tablas de contingencia.

## RESULTADOS

De los 366 casos evaluados, 56 casos (15,30%) correspondieron en el estudio histológico a GH I, 181 casos (49,45%) a GH II y 129 casos (35,24%) a GH III.

**TABLA 1. Correlación entre GC y GH**

Método	GC	GH (n) (%)			N.º total
		I	II	III	
Fisher	1	<b>51 (91,07%)</b>	24 (13,26%)	0 (0%)	<b>75</b>
	2	5 (8,93%)	<b>146 (80,66%)</b>	15 (11,63%)	<b>166</b>
	3	0 (0%)	11 (6,08%)	<b>114 (88,37%)</b>	<b>125</b>
N.º casos		<b>56</b>	<b>181</b>	<b>129</b>	<b>366</b>
Robinson	1	<b>50 (89,28%)</b>	15 (8,29%)	0 (0%)	<b>65</b>
	2	6 (10,71%)	<b>144 (79,55%)</b>	18 (13,95%)	<b>168</b>
	3	0 (0%)	22 (12,15%)	<b>111 (86,05%)</b>	<b>133</b>
N.º casos		<b>56</b>	<b>181</b>	<b>129</b>	<b>366</b>
Jayaram	1	<b>55 (98,21%)</b>	25 (13,81%)	0 (0%)	<b>80</b>
	2	1 (1,79%)	<b>145 (80,11%)</b>	25 (19,38%)	<b>171</b>
	3	0 (0%)	11 (6,07%)	<b>104 (80,62%)</b>	<b>115</b>
N.º casos		<b>56</b>	<b>181</b>	<b>129</b>	<b>366</b>

Se estableció adecuada correlación entre GH y GC en 311 casos (84,97%) con el sistema de graduación de Fisher, en 305 casos (83,32%) con el sistema de Robinson y en 304 casos (83,06%) con el sistema de Jayaram modificado.

La correlación adecuada entre el GC y el GH en los tres sistemas de graduación citológica, queda reflejada en la tabla 1.

La sensibilidad y especificidad del GC1 es respectivamente del 92,3% y 91,1% para el sistema de Fisher, 95,2% y 89,3% para el sistema de Robinson y 91,9% y 98,2% para el sistema de Jayaram modificado. En el GC3 se obtiene respectivamente una sensibilidad y especificidad de 88,4% y 94,9% para el sistema de Fisher, 86% y 90,7% para el sistema de Robinson y 80,6% y 95,4% para el sistema de Jayaram modificado.

La anisocariosis leve y la ausencia de nucleolo han sido los parámetros citológicos que mejor han definido el GHI con los tres sistemas de graduación utilizados, a los que se añade la ausencia de mitosis en los sistemas de Fisher y Jayaram modificado. La ausencia de anisocariosis severa, macronucleolo o nucleolo múltiple y núcleo grande ha sido asimismo común a los tres sistemas. La ausencia de frecuentes mitosis en los sistemas de Fisher y Jayaram modificado es asimismo común a ambos sistemas. Los sistemas de Robinson y Jayaram modificado añaden el predominio de grupos celulares y borde nuclear liso como definitorios del GHI.

El GHII queda definido por la mayor incidencia de anisocariosis moderada, cromatina grumosa, ausencia de mitosis y núcleo mediano en los tres sistemas de graduación. Los sistemas de Robinson y Jayaram modificado añaden un patrón de agrupamiento mixto y borde nucle-

ar irregular. El único parámetro excluyente ha sido la ausencia de frecuentes mitosis en los sistemas que contemplan este parámetro.

La anisocariosis severa es el único parámetro común a los tres sistemas de graduación utilizados que define con mayor incidencia al GHIII. En los sistemas de Robinson y Jayaram modificado, la disociación celular es el único parámetro definitorio con una incidencia destacada sobre el resto. La anisocariosis leve y núcleo pequeño son parámetros excluyentes comunes a los tres sistemas de graduación en el GHIII. Los sistemas de Robinson y Jayaram modificado añaden la ausencia de agrupamiento y el borde nuclear liso y la de cromatina fina en los sistemas que consideran este parámetro (Fisher y Robinson).

Estos resultados son superponibles a los obtenidos cuando la correlación cito-histológica ha sido correcta.

La correlación entre los parámetros citológicos y el GCH ofrece resultados coincidentes con los expuestos anteriormente.

El GC muestra adecuada correlación con el GCH en todos los grados independientemente del sistema de graduación utilizado. Cuando la correlación se establece con el IMH, esta es adecuada en los grupos con IMH bajo y alto pero no con IMH2, asimismo en cualquiera de los sistemas de graduación.

El número de mitosis citológico se correlaciona adecuadamente con el IMH1. La correlación con el IMH2 tiene menor significación estadística y las diferencias observadas entre IMH2 e IMH3 no son estadísticamente significativas. La correlación entre el número de mitosis citológicas y el índice de proliferación celular histológico (Ki-67) corrobora estos resultados.

## DISCUSIÓN

La graduación preoperatoria del cáncer de mama es necesaria para poder aplicar con seguridad terapias neoadyuvantes que puedan beneficiar, complementando a la cirugía, a subgrupos de pacientes con características particulares (25,31-33). Recientemente, la PAAF ha sido reconocida como el método diagnóstico morfológico preoperatorio fiable más barato (34). La aplicación de técnicas inmunohistoquímicas a los extendidos citológicos con resultados fiables (35-41) complementa la información que permite al clínico sustentar la elección o no de terapias neoadyuvantes preoperatoriamente, en las mejores condiciones para aplicarlas (33,42,43). La revisión de la supervivencia a largo plazo de las pacientes con cáncer de mama, previamente seleccionadas con el índice pronóstico de Nottingham (una combinación de tamaño tumoral, GH y EG) (15,44) y sometidas a terapia hormonal, citotóxica e inmune, ha demostrado un evidente beneficio para estas pacientes (45). La PAAF podría permitir, con el menor coste, aplicar el índice pronóstico de Nottingham a pacientes tributarias de dicho tratamiento ya que aporta el GH y la expresión inmunohistoquímica, pudiéndose determinar el tamaño tumoral de forma bastante aproximada con la mamografía y ecografía y el EG mediante el estudio de ganglio centinela. El índice pronóstico morfométrico que combina IM, EG y TT (46) podría aplicarse con menor fiabilidad debido a la discrepancia entre los recuentos de mitosis citológicos e histológicos (12,19).

Numerosos trabajos han tratado de obtener una valoración pronóstica en los extendidos citológicos de PAAF utilizando parámetros morfológicos de forma singular (10,12,47-53) o más frecuentemente, combinados (4,5,7-9,13,14,25). El grado nuclear y el índice mitótico en extendidos citológicos han mostrado un valor pronóstico similar al grado nuclear en los cortes histológicos (21,54); sin embargo el grado nuclear se correlaciona mejor con la histología (12,19,20) que el número de mitosis (12,19). La catalogación del grado nuclear depende sin embargo de diversos parámetros morfológicos que han sido combinados de una forma heterogénea, siendo el resultado una definición aceptable de los grados alto y bajo (24,25,30) pero no del grado intermedio (7,9,10,12,13,20,23,25,27). Las discrepancias en la correlación cito-histológica con trascendencia oscilan entre el 5 y el 17 % según las series (12,25,55). En un intento de evitar los solapamientos de grado, especialmente entre el grado 1 y 2 y entre el 2 y el 3, algunos autores prefieren graduar el cáncer mamario en dos categorías: alto y bajo grado (14,47-49). Este sistema de graduación es difícil de correlacionar con un sistema de graduación histológica de tres grados aceptado universalmente (25,30).

La correlación cito-histológica global en los sistemas que utilizan tres grados oscila entre el 97% y 75%

(9,12,18,56,30). Cuando se correlaciona el GC con el GH utilizando los mismos parámetros que integran el GH (formación tubular, atipia nuclear y n.º de mitosis) el grado de coincidencia entre ambos es sensiblemente menor (57%) que cuando se utilizan otros parámetros, debido al difícil reconocimiento de estructuras tubulares y de las mitosis en la citología (12,17).

En nuestro estudio hemos obtenido una correlación cito-histológica global del 86,7% con el sistema de graduación de Fisher (23), 84,96% con el sistema de graduación de Robinson (25) y 86,31% con el sistema de graduación de Jayaram modificado (30). En este último hemos suprimido la formación de túbulos como parámetro ya que en nuestra experiencia y en la de otros autores (12,17) su reconocimiento en el material citológico es muy dificultoso por no decir imposible. La coincidencia cito-histológica queda reflejada en la tabla 1, correspondiendo la mejor correlación al GC1 y GC 3. Estos resultados se encuadran dentro del rango obtenido por otros autores por lo que consideramos que cualquiera de los métodos de graduación utilizados muestra alta sensibilidad y especificidad en cada uno de los grados cito-histológicos, no apreciándose diferencias estadísticamente significativas entre la capacidad discriminante del GH entre los mismos. En nuestro estudio no se han catalogado indebidamente casos GC1 como GC3 ni a la inversa en ninguno de los sistemas de graduación utilizados. La catalogación errónea de casos GC2 como GC1 ha oscilado entre el 1,79% (Jayaram modificado) y 10,71% (Robinson) y la de GC2 como GC3 entre 11,63% (Fisher) y 19,38% (Jayaram modificado).

Hemos obtenido una correlación global entre el GC y el GCH del 74,26%. Cuando se compara la correlación obtenida en cada uno de los sistemas de graduación utilizados, el de Robinson se muestra superior, con una tasa de coincidencia del 86,24%.

Los parámetros morfológicos utilizados para definir el GC en el carcinoma mamario no están bien establecidos y los escasos estudios retrospectivos en este sentido aportan conclusiones dispares (5,13,21,57). La disociación y agrupamiento celular es un parámetro válido para unos (4,25,30,57) pero no para otros (13). La disposición celular refleja el grado de diferenciación tumoral, pudiéndose equiparar el agrupamiento con la formación tubular (4). En nuestro trabajo el agrupamiento es definitorio del GC1 y excluyente del GC3; a la inversa la disociación es definitoria del GC3 y excluyente del GC1.

El nucleolo es un parámetro utilizado para definir el GC (4,48,57), pero que a nivel histológico no es utilizado para definir el GH a menos que sea múltiple (15). Hablamos de nucleolo evidente cuando se reconoce fácilmente a 100x (14). El macronucleolo no es un parámetro definitorio en nuestro estudio; sin embargo su presencia y eosinofilia apoyan un GC elevado (4,5,7,57). Para algunos autores el nucleolo ha sido un parámetro

definitorio (25). El tamaño nuclear es un parámetro fácilmente modificable por aspectos técnicos (21). Para algunos autores la atipia nuclear queda determinada por tres parámetros que, de manera independiente, se correlacionan significativamente con el GH: anisocariosis, borde nuclear y patrón cromatínico (25); estos parámetros quedan mejor definidos con la técnica de Papanicolaou o Hematoxilina Eosina que con técnicas panópticas (21). Otros sin embargo obtienen excelente correlación citohistológica con esta técnica (9). El tamaño nuclear se ha establecido subjetivamente mediante la comparación con el tamaño de un hematíe (7,13), con linfocitos (14) o con células ductales normales (4,30). Creemos que la primera opción es la adecuada, ya que ni los linfocitos ni las células ductales normales están habitualmente presentes en una PAAF de carcinoma ductal. Es importante resaltar que el grado citológico debe determinarse en los núcleos de mayor tamaño y no en la generalidad (23).

Hemos considerado que el parámetro frecuentes mitosis debe relacionarse con la presencia en la citología de más de 3 mitosis x 10 CGA. Su búsqueda en los grupos celulares obtiene buenos resultados.

Los parámetros nucleares correlacionados de forma significativa con el GCH1 cuando la correlación citohistológica es correcta han sido: anisocariosis leve, ausencia de nucleolo y, en menor grado, cromatina fina. El GCH2 se correlaciona significativamente con anisocariosis moderada, núcleo mediano, cromatina regular y grumosa y en menor medida con nucleolo evidente. La anisocariosis severa ha sido el único parámetro con significación estadística correlacionado con GCH3. Los resultados obtenidos son superponibles en los tres sistemas de graduación citológica utilizados.

En los sistemas de graduación citológica que incluyen el número de mitosis como parámetro (Fisher y Jayaram modificado) se establece una correlación adecuada entre los valores obtenidos en la citología y el IMH1. Aunque en el grupo IMH3 se observa un incremento del número de casos con mitosis frecuentes en la citología, las diferencias obtenidas en relación al grupo IMH2 no son estadísticamente significativas.

La correlación entre el GH y los parámetros morfológicos que definen el GC obtiene valores muy similares en los parámetros morfológicos que son comunes en los tres sistemas de graduación citológica.

Los parámetros que definen el GC1 son comunes en los tres sistemas: anisonucleosis leve, ausencia de nucleolo y de mitosis. Los sistemas de Robinson y Jayaram modificado añaden el agrupamiento celular marcado a los parámetros discriminantes. Cuando la correlación cito-histológica es correcta, los parámetros morfológicos determinantes con significación estadística del GC1 son coincidentes.

No existen parámetros que discriminen el GC2 con valor estadísticamente significativo.

La definición del GC3 está determinada por la anisocariosis marcada, presencia de mitosis y nucleolo evidente. La incidencia de núcleos grandes y de borde nuclear irregular es aproximadamente del 50%. En los sistemas de Robinson y de Jayaram modificado, la disociación celular se añade a los parámetros con valor discriminante significativo.

Los parámetros que en nuestro estudio definen al GC3 han sido relacionados con peor pronóstico (29). Valorando globalmente la definición de los diversos grados citológicos, son los parámetros determinantes del GC1 los más específicos ya que tanto en el GC2 como en el GC3, si bien existen algunos cuya incidencia rebasa el 60%, la mayoría restante muestra incidencias bastante importantes definitivas de una graduación superior o inferior al GC determinado.

La determinación del GC es pues el resultado de la combinación de múltiples parámetros morfológicos celulares y de disposición celular, de los que el grado de anisocariosis, el grado de agrupamiento celular, el grado de irregularidad de la membrana nuclear y la ausencia o presencia de mitosis son los parámetros que se correlacionan con el grado histológico con mayor significación estadística. Los parámetros excluyentes tienen un valor importante para definir el grado citológico.

La correlación citohistológica global obtenida es de alta sensibilidad y especificidad, independientemente del sistema de graduación citológica utilizado y ha resultado más fiable en los tumores de bajo y alto grado, con tasas de coincidencia entre 98,21%-91,07% y 88,37%-80,62% respectivamente. No se han realizado catalogaciones indebidas de tumores de bajo grado como de alto grado y viceversa. Las catalogaciones erróneas entre el grado bajo e intermedio y entre grado intermedio y alto se sitúan en el rango referido en la literatura.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Wallgren A, Zajicek J. The prognostic value of aspiration biopsy in mammary carcinoma. *Acta Cytol* 1976; 20: 479-85.
2. Mouriquand J, Bodin JP, Sage JC, et al. Cyto-pronostic pretherapeutique du cancer du sein; 192 observations. *Nouv Presse Med* 1979; 8: 2877-90.
3. Davey D, Banks ER, Jennings D, et al. Comparison of nuclear grade and DNA cytometry in breast carcinoma aspirates to histologic grade in excised cancers. *Am J Clin Pathol* 1993; 99: 708-13.
4. Mouriquand J, Gozlan-Fior M, Villamain D, et al. Value of cytoprognostic classification in breast carcinomas. *J Clin Pathol* 1986; 39: 489-96.
5. Ciatto S, Bonardi R, Herd-Smith A. Prognostic value of breast cancer cytologic grading: a retrospective study of 213 cases. *Diagn Cytopathol* 1993; 9: 160-3.
6. Robinson I, McKee G. Cytologic grading of breast carcinoma. *Acta Cytol* 1995; 39: 1257.

7. Martinez-Giron R, Garcia-Miralles MT, Sampedro-Nuño A. Grado nuclear en punciones de carcinoma de mama: características ópticas y análisis de imagen. *Rev Esp Patol* 2000; 32; 139-45.
8. Skrbine B, Babic A, Cfer T, et al. Cytological grading of breast cancer 2001 in Giemsa-stained fine needle aspiration smears. *Cytology* 2001; 12: 15-25.
9. Khan MZ, Haleem A, Al Hassani H, et al. Cytopathological grading, as a predictor of histopathological grade, in ductal carcinoma (NOS) of breast, on air-dried Diff-Quik smears. *Diagn Cytopathol* 2003; 29: 185-93.
10. Thor A. Prognostic factors in breast cancer: Integrating the cytology laboratory. *Diagn Cytopathol* 1992; 8: 319-21.
11. Fisher E. The impact of pathology on the biologic, diagnostic, prognostic and therapeutic considerations in breast cancer. *Surg Clin North Am* 1984; 64:3 61-6.
12. Dabbs D Silverman JF. Prognostic factors from the fine-needle aspirate: breast carcinoma nuclear grade. *Diagn Cytopathol*. 1994; 10: 203-8.
13. Hunt C, Ellis F, Elston C, et al. Cytological grading of breast carcinoma a feasible proposition? *Cytology* 1992; 3: 61.
14. Cajulis R, Hessel R, Hwang S, et al. Simplified nuclear grading of needle aspirate of breast carcinoma: concordance with corresponding histologic nuclear grading and flow cytometric data. *Diagn Cytopathol* 1994; 11: 124-30.
15. Elston C, Ellis I. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long- term follow-up. *Histopathology* 1991; 19: 403-10.
16. Bloom H, Richardson W. Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1409 cases of which 359 had been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957; 9: 359-77.
17. Leach C, Howell LP. Cyodiagnosis of classic lobular carcinoma and its variants. *Acta Cytol* 1992; 36 199-202.
18. Thalan A, Nijhawan R, Joshi K: Grading of ductal breast cancer by cytomorphometry and image morphometry with histologic correlation. *Analyt Quant Cytol Histol* 2000; 22: 193-8.
19. Howell L, Edwards R, O'Sullivan D. Application of the Scarff-Bloom Richardson tumor grading system to fine needle aspirates of breast. *Am J Clin Pathol* 1994; 101: 262-5.
20. Massod S. Prognostic Factors in breast cancer: Use of cytologic preparations. *Diagn Cytopathol* 1995; 13: 388-95.
21. Schulte E, Wittekind C. The Influence of the wet-fixed Papanicolaou and the air-dried Giemsa technique on nuclear parameters in breast cancer cytology: a cytomorphometric analysis. *Diagn Cytopathol* 1987; 3: 256-61.
22. Ciatto S, Cechini S, Grazzinig, et al. Positive predictive value of needle aspiration cytology of breast lesions. *Acta Cytol* 1989; 33: 894-8.
23. Fisher E, Gregario R, Fisher B. The pathology of invasive breast cancer. A syllabus derived from findings of National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol N.º 4). *Cancer* 1975; 36: 1-85.
24. Cajulis R S, Glenn Hessel R, et al. Simplified nuclear grading of fine-needle aspirates of breast carcinoma: Concordance with corresponding histologic nuclear grading and flow cytometric data. *Diagn Cytopathol* 1993; 2: 124-30.
25. Robinson I, McKee G, Nicholson A, et al. Prognostic value of cytological grading of fine-needle aspirates from breast carcinomas *Lancet* 1994; 343: 947-9.
26. Ducatman B, Emerry S, Wang H. Correlation of histologic grade of breast carcinoma with cytologic features on fine-needle aspiration of breast. *Mod Pathol* 1993; 6: 539-43.
27. Ciatto S, Bonnard R, Herd-Smith A, et al: Prognostic value of breast cancer cytologic grading: A retrospective Study of 213 Cases. *Diagn Cytopathol* 1992; 9: 160 -3.
28. Layfield L, Robert M, Cramer H, et al. Aspiration biopsy smear pattern as a predictor of biologic behavior in adenocarcinoma of the breast. *Acta Cytol* 1992; 36: 208-14.
29. Robles-Frias A, Gonzalez-Campora R, et al. Robinson cytologic grading of invasive ductal breast carcinoma. correlation with histologic grading and regional lymph node metastasis. *Acta Cytol*. 2005; 49: 149-53.
30. Jayaram G, Elsayed EM. Cytologic evaluation of prognostic markers in breast carcinoma. *Acta Cytol*. 2005; 49: 605-10.
31. Pinder S, Murray S, Ellis I. The importance of Histological grade of invasive breast carcinoma and response to chemotherapy. *Cancer* 1998; 83: 1529 -39.
32. Scholl S, Pierga J, Asselain B, et al. Breast tumor response to primary chemotherapy predicts local and distant control as well as survival. *Eur J Cancer* 1996; 24: 85-8.
33. Smith TJ, Hillner BE. The efficacy and cost-effectiveness of adjuvant therapy of early breast cancer in premenopausal women. *J Clin Oncol* 1993; 11: 771-6.
34. Shyyan R, Masood S, Badwe RA, et al. Breast cancer in limited-resource countries: diagnosis and pathology. *Breast J* 2006; 12: 227-37.
35. Pelosi G, Bresaola E, Rodella S, et al. Expression of proliferating cell nuclear antigen, Ki-67 antigen, estrogen receptor protein, and tumor suppressor p53 gene in cytologic samples of breast cancer: an immunochemical study with clinical, pathobiological, and histologic correlations. *Diagn Cytopathol* 1994; 11: 131-40.
36. Klorin G, Keren R. Ploidy and nuclear area as a predictive factor of histologic grade in primary breast cancer. *Analyt Quant Cytol Histol* 2003; 25: 277-80.
37. Zoppi J, Rotundo A, Sundbland A. Correlation of immunocytochemical and immunohistochemical determination of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Acta Cytol* 2002; 46: 337-40.
38. Koyatsu J, Ishi K, Suzuki F, et al. Usefulness of estrogen receptor detection using archival Papanicolaou-stained smears. *Acta Cytol* 1999; 43: 825-30.
39. Gu M, Ghafari S, Zhao M. Fluorescence in situ hybridization for her-2/neu amplification of breast carcinoma in archival fine needle aspiration biopsy specimens. *Acta Cytol* 2005; 49; 5: 471-7.
40. Massod S. Estrogen and progesterone receptors in cytology: a comprehensive review. *Diagn Cytopathol* 1992; 8: 475-91.
41. Massod S. Prognostic and Diagnostic implication of estrogen and progesterone receptors assays in cytology. *Diagn Cytopathol* 1994; 10: 263-7.
42. Silverberg S, Delellis R, Frible W. The Breast. En: Silverberg S, Delellis R, Frible W, editores. Principles and practice of surgical pathology and cytopathology, third edition. New York: Churchill-Livigstone; 1997. p. 575-674.

43. Todd J, Dowie C, Williams M, et al. Confirmation of prognostic index in primary breast cancer. *Br J Cancer* 1987; 56: 489-92.
44. Morgan D, Sibbering D, Gales M, et al. Selection for adjuvant therapy using the Nottingham prognostic index. *Breast* 1993; 2: 206.
45. Van Diest PJ, Baak JP. The morphometric prognostic index is the strongest prognosticator in premenopausal lymph node-negative and lymph node-positive breast cancer patients. *Hum Pathol*. 1991; 22: 326-30.
46. Moroz K, Lipscomb J, Vial L, et al. Cytologic nuclear grade of malignant breast aspirate as a predictor of histologic grade: Light microscopy and image analysis characteristic. *Acta Cytol* 1997; 41: 1107-11.
47. New N, Howat A. Nuclear grading of breast carcinoma. *Acta Cytol* 1994; 38: 969-70.
48. Bozzetti C, Nizzoli R, Naldi N, et al. Nuclear grading and flow cytometric DNA pattern in FNA of primary breast cancer. *Diagn Cytopathol* 1996; 15: 116-20.
49. Komitowski D, Janson C. Quantative features of chromatin structure in the prognosis types. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 334-9.
50. Dabbs D. Role of nuclear grading of breast carcinomas in fine needle aspiration specimens. *Acta Cytol* 1993; 37: 361-6.
51. Zoppi J, Pellicer E, Sundbland A. Cytohistologic correlation of nuclear grade in breast carcinoma. *Acta Cytol* 1997; 41: 701-4.
52. Doussal V, Tubiana M, Friedman S, et al. Prognostic value of histologic grade nuclear component of Scarf-Bloom-Richardson. *Cancer* 1989; 64: 1914-21.
53. Fitzgibbons P, Page D, Weaver D, et al. Prognostic Factors in Breast Cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 966-78.
54. Taniguchi E, Tang W, Nakamura Y et al. Cytologic grading of invasive carcinoma: Correlation with clinicopathologic variables and predictive value of nodal metastasis. *Acta Cytol* 2000; 44: 1107-11.
55. Wolberg W, Street W, Mangasarian O. Importance of nuclear morphology in breast cancer prognosis. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 3542-8.
56. Khan MZ, Haleem A, Al Hassani H, et al. Cytopathological grading, as a predictor of histopathological grade, in ductal carcinoma (NOS) of breast, on air-dried Diff-Quik smears. *Diagn Cytopathol*. 2003; 29: 185-93.
57. Thomas J, Mallon E, George W. Semiquantitative analysis of fine needle aspirates from benign and malignant breast lesions. *J Clin Pathol* 1989; 42: 28-34.