



ABRIR CAPÍTULO II

III.- RESULTADOS

III.- RESULTADOS

A.- PATOLOGÍA PROBABLEMENTE BENIGNA :

La relación por diagnósticos viene expresada en la tabla V.

PATOLOGÍA PROBABLEMENTE BENIGNA (P.B.B.)	
DIAGNOSTICO	CUANTIFICACIONES
MAFIMO:	11 = 13,75%
MAFMOD:	1 = 1,25%
MAFMAR:	2 = 2,50%
ADFIMO:	1 = 1,25%
ADFIMA:	1 = 1,25%
MAFERM:	63 = 78,75%
MAREMA:	1 = 1,25%
TOTAL:	80

Tabla V: Patología probablemente benigna.

En la tabla VI podemos ver la relación entre el tipo de histograma y su ploidía dominante, el valor de 5cer y el valor de la entropía

Tabla VI: CARACTERISTICAS P. P. B.				
Nº CASO		CCER	ENTROPIA	HISTOGRAMA
1	BFN		1.794	2.02 DIPLOIDE
1A	BFN		2.333	4.38 TETRAPLOIDE
3	LGE	1	2.408	2.28 DIPLOIDE
3A	LGE	9	2.689	4.25 TETRAPLOIDE
4	MHF		2.205	2.90 TRIPLOIDE
4A	MHF		2.100	3.56 TETRAPLOIDE
5	SRS		1.460	2.43 DIPLOIDE
5A	SRS	71	2.143	5.97 SEXAPLOIDE
6	OGI		2.230	2.41 DIPLOIDE
6A	OGI	5	2.281	4.12 TETRAPLOIDE
8	AGM		1.692	2.38 DIPLOIDE
9	STP		1.807	2.26 DIPLOIDE
10	TCC		1.960	2.37 DIPLOIDE
10A	TCC	31	2.328	4.75 TETRAPLOIDE
11	CMT		1.978	2.98 TRIPLOIDE
11A	CMT	30	2.433	5.39 PENTAPLOIDE
12	HVP		1.726	2.71 C.DIPLOIDE
13	PBI		1.976	2.62 DIPLOIDE
14	FBT		1.526	2.28 DIPLOIDE
14A	FBT	3	2.277	3.97 TETRAPLOIDE
15	MRP		1.854	2.04 DIPLOIDE
15A	MRP		2.230	4.07 TETRAPLOIDE
16	OLL		1.659	2.70 C. DIPLOIDE
17	HEA		1.607	2.34 DIPLOIDE
17A	HEA		2.080	4.00 TETRAPLOIDE

Tabla VI: CARACTERISTICAS P. P. B.

Nº CASO		CCER	ENTROPIA	HISTOGRAMA
18	SRS		1.646	2.03 DIPLOIDE
19	FBP		1.804	2.60 C.DIPLOIDE
20	SMM		1.769	2.28 DIPLOIDE
20A	SMM	1	2.298	4.25 TETRAPLOIDE
21	LBM		1.549	2.31 DIPLOIDE
21A	LBM	3	2.340	3.99 TETRAPLOIDE
22	LSO		1.892	2.33 DIPLOIDE
23	NSN		1.748	2.02 DIPLOIDE
23A	NSN	2	2.380	4.10 TETRAPLOIDE
24	GCA		1.861	2.36 DIPLOIDE
24A	GCA	1	2.313	3.98 TETRAPLOIDE
25	LME		2.035	2.79 C.DIPLOIDE
26	DGJ		1.890	2.32 DIPLOIDE
26A	DGJ	2	2.082	4.95 TETRAPLOIDE
27	NNA		1.912	2.38 DIPLOIDE
27A	NNA	1	2.190	4.11 TETRAPLOIDE
28	SRM		1.799	2.59 DIPLOIDE
28A	SRM	1	2.089	4.20 TETRAPLOIDE
29	HTM		1.745	2.62 C.DIPLOIDE
30	MGM		1.745	2.33 DIPLOIDE
30A	MGM		1.968	3.96 TETRAPLOIDE
31	GGI		2.071	2.38 DIPLOIDE
31A	GGI	1	1.999	4.42 TETRAPLOIDE
32	CSM		1.955	3.20 TRIPLOIDE
33	BFM		2.164	2.73 C.DIPLOIDE
33A	BFM	35	2.145	4.34 TETRAPLOIDE

Tabla VI: CARACTERISTICAS P. P. B.				
Nº CASO		CCER	ENTROPIA	HISTOGRAMA
34	CMT		1.614	2.35 DIPLOIDE
34A	CMT	40	2.189	4.30 TETRAPLOIDE
35	JMM		1.873	2.07 DIPLOIDE
36	SPP		1.694	1.72 DIPLOIDE
36A	SPP		2.312	3.71 TETRAPLOIDE
37	GCM		1.878	2.69 C.DIPLOIDE
37A	GCM	2	2.298	3.37 TRIPLOIDE
38	RQL		1.806	2.64 DIPLOIDE
38A	RQL		2.141	3.66 TETRAPLOIDE
39	ISE		1.811	2.32 DIPLOIDE
39A	ISE	1	2.073	4.02 TETRAPLOIDE
40	CCR		1.730	2.34 DIPLOIDE
40A	CCR	1	2.282	4.03 TETRAPLOIDE
41	RUM		2.024	3.21 TRIPLOIDE
41A	RUM	47	2.036	4.86 PENTAPLOIDE
42	LCP		1.830	2.67 DIPLOIDE
42A	LCP	1	2.108	4.64 TETRAPLOIDE
43	LMP		1.746	2.27 DIPLOIDE
44	BMM		1.844	2.31 DIPLOIDE
44A	BMM		2.159	4.28 TETRAPLOIDE
45	SPA		1.929	2.63 DIPLOIDE
46	BMA		1.997	2.31 DIPLOIDE
47	GAM		1.830	2.63 DIPLOIDE
48	SOV		1.865	2.36 DIPLOIDE
48A	SOV		2.174	4.40 TETRAPLOIDE
49	MRM		1.814	2.34 DIPLOIDE

Tabla VI: CARACTERISTICAS P. P. B.				
Nº CASO		CCER	ENTROPIA	HISTOGRAMA
49A	MRM		1.840	3.94 TETRAPLOIDE
50	AAN		1.871	2.33 DIPLOIDE
50A	AAN		2.146	4.03 TETRAPLOIDE

Tabla VI: Características de P.P.B.

En el número de caso observamos que existe una repetición de algunos números que van seguidos de la letra "A". Hemos utilizado esta señalización para indicar que esos casos, correspondientes a mastopatías fibroquísticas con transformación apocrina, comprendían dos cuantificaciones, una para las células ductales y otra, marcada con la letra "A" para las apocrinas. Junto al número del caso aparecen las iniciales de los apellidos y nombre de cada paciente. En la siguiente columna se refleja el valor de 5cer. En la columna posterior aparece el valor de la entropía. En la columna correspondiente al histograma asignamos al mismo su valoración de acuerdo a la ploidía obtenida. De una forma estricta la denominación de diploide, triploide, ...etc... debería aplicarse exclusivamente a los casos cuyos valores de ploidía estuvieran comprendidos entre 0,25 anterior y 0,25 posterior, llamando "ceranos" (C) a la ploidía al resto de los casos. Nosotros hemos sido algo más flexibles al considerar no sólo el pico máximo de ploidía, sino la disposición total de las

células en el histograma para la valoración definitiva del mismo. Así podemos encontrar casos considerados diploides con un valor de 2.62 (caso N°13), mientras que llamamos “cercano” diploide al caso n° 19, con un valor de 2.60.

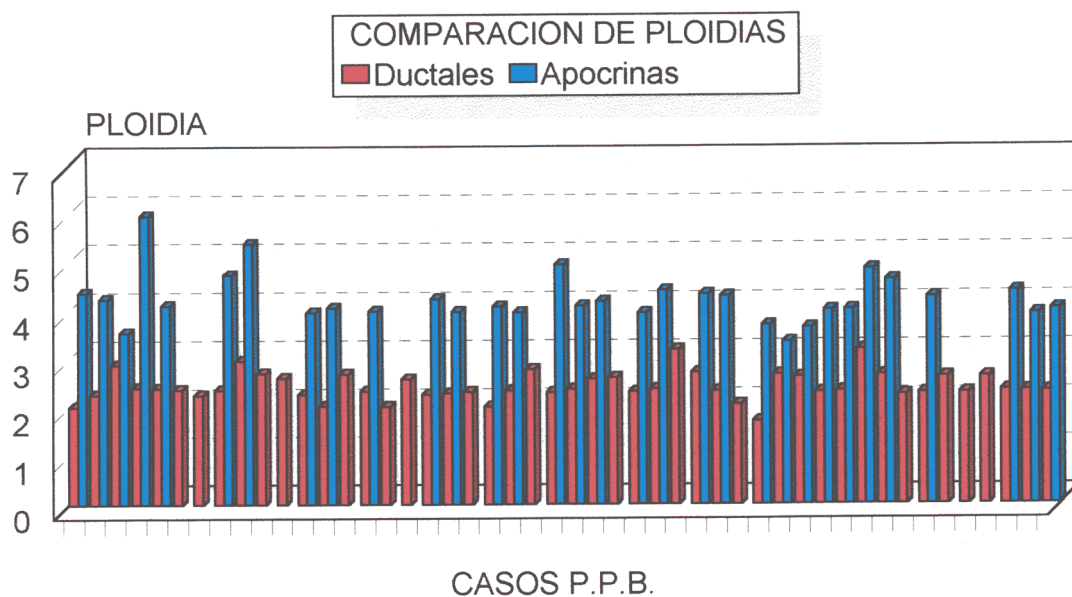
Es necesario hacer constar que en esta tabla deberían aparecer los valores de las fases celulares, especialmente la fase “S”. Si no aparecen es porque en todos los casos nos hemos encontrado una fase “G0-G1” igual al 100%, es decir no ha habido ningún caso con células en fase “S”.

En la Tabla VII podemos ver los valores medios de ploidía y entropía.

Tabla VII: TABLA DE VALORES DE P.P.B.			
		Ploidia	ENTROPIA
DUCTAL (48 casos)	Suma total	117,18	88,32
	Mínimo	1,72	1,46
	Máximo	3,21	2,408
	Media	2,44 (Diploide)	1,84
	Mediana	2,36	1,83
	D.E.	0,29	0,18
APOCRINA (32 casos)	Suma total	136	70,4
	Mínimo	3,37	1,84
	Máximo	5,97	2,68
	Media	4,25 (Tetraploide)	2,20
	Mediana	4,11	2,18
	D.E.	0,51	0,15

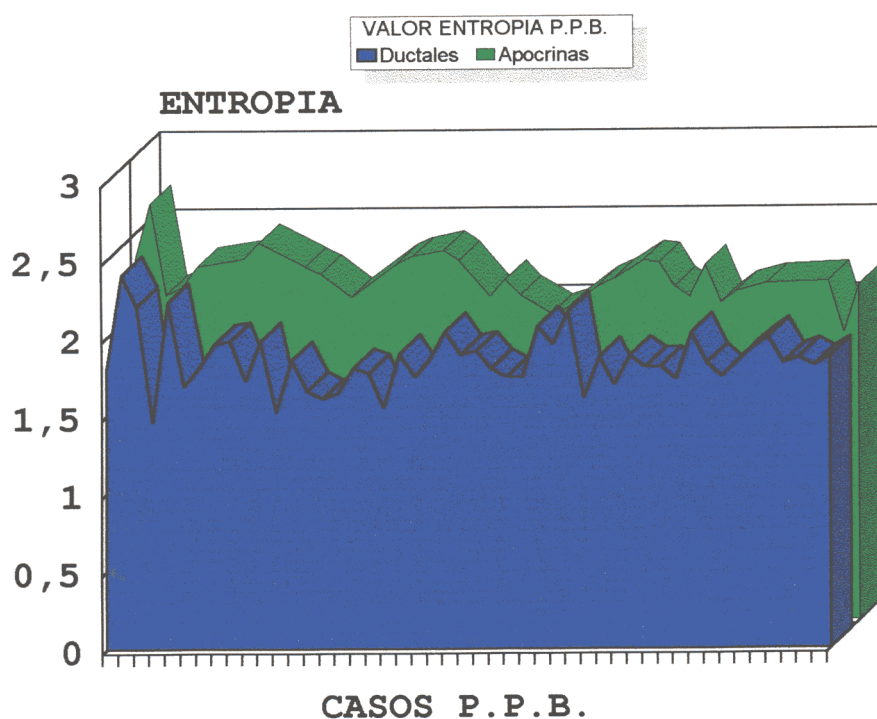
Tabla VII: Pacientes Patología Asociada.

En la Tabla VII se reflejan los valores de la ploidía diferenciando células ductales y apocrinas, si observamos el valor de la media vemos que no difiere significativamente de la mediana en ambos casos, y por tanto podemos clasificar a las células ductales como diploides y a las apocrinas como tetraploides. En la gráfica 6 se muestran los valores de las ploidías comparando cuando se trata de MFQR las dos poblaciones celulares, y se puede por tanto apreciar mejor la relación entre ambas.



Gráfica 6: Comparación de ploidías P.P.B.

En la gráfica 7 se representan las entropías correspondientes a los casos P.P.B., y cuyos valores concretos aparecen en la tabla VII. Se observa que existe una diferencia entre ambas poblaciones celulares, que será estudiada por medio de los correspondientes test estadísticos y detallada más adelante, en el capítulo dedicado a la valoración estadística. De cualquier modo destaca la similitud entre los casos P.P.B. y los de Patología Asociada (ver Tabla X).



Gráfica 7: Valor de entropía P.P.B.

B.- PACIENTES CON PATOLOGIA ASOCIADA :

Todas las pacientes las hemos expuesto en la Tabla VIII, haciendo un exhaustivo desglose de sus patologías refiriendo diagnósticos, fechas, etc.

Tabla VII : A. S. C.					
	FECHA	Nº CITOL.	LOCALIZ.	DIAGNOST.	Nº CASO
SUGCAR	25/04/97	M7041(2)	M.D.C.S.E.	(+MFQ) BG	202
PREVIA	09/03/94	M5746	M.D.C.S.E.	ADENFE NA	
HOMO	10/03/95	M6103	M.D.C.S.E.	MAFIMO NA	
	10/04/96	M6675	M.D.C.S.E.	MAFIMO NA	
PREVIA	19/02/93	M5216	M.I.C.S.E.	MAFIRM OK	59 Y 59A
CONTRA	09/03/94	M5745	M.I.C.S.E.	MAFIRM OK	2 Y 2A
	10/03/95	M6102	M.I.C.S.E.	MAFIRM OK	60 Y 60A
	10/04/95	M6674	M.I.C.S.E.	MAFIMO OK	61
CONCO	25/04/95	M7401(1)	M.I.C.S.E.	ADENF2 OK	62
CONTRA					

Tabla VIII: A. T. P.					
	FECHA	Nº CITOL.	LOCALIZ.	DIAGNOST.	Nº CASO
CADUMI	17/03/92	M4772	M.D.C.S.I.	A.G.	86
PREVIA	11/09/91	M4541	M.D.L.M.CC.INT.	ADENF2 OK	54
HOMO					

Tabla VII: G. C. I.					
	FECHA	Nº CITOL.	LOCALIZ.	DIAGNOST.	Nº CASO
CADUPO	02/04/90	M4082	M.I.C.I.E.	NO ADN	
PREVIA	28/02/85	M1840	M.I.C.I.E.	MAFIMO OK	53
HOMO					

Tabla VIII: G. F. E.					
	FECHA	Nº CITOL.	LOCALIZ.	DIAGNOST.	Nº CASO
CADUPO	23/01/92	M4668	M.I.C.S.I.	A.G. (en el límite)	76
POSTER	14/01/93	M5156	M.I.CC.INT.	ADENFE NA	
HOMO					
POSTER	14/01/93	M5155	M.D.C.S.E.	ADENFE NA	
CONTRA	06/04/94	M5777	M.D.C.S.E.	MAFMOD OK	55

Tabla VIII: M. G. P.					
	FECHA	Nº CITOL	LOCALIZ.	DIAGNOST.	Nº CASO
CADUMI	27/04/95	M6147	M.D.RETRO.	A.G.	163
PREVIA	15/02/95	M6078	M.D.RETRO.	MAFIMO OK	56
HOMO					

Tabla VIII: P. R. I.					
	FECHA	Nº CITOL	LOCALIZ.	DIAGNOST.	Nº CASO
CADUMI	13/11/90	M4380	M.D.C.S.E.	A.G.	18
PREVIA	06/06/90	M4183	M.D.C.S.E.	ADENF2 OK	51
HOMO					
PREVIA	06/06/90	M4184	M.I.L.M.CC.SS.	ADENF2 OK	52
CONTRA					

Tabla VIII: P. A. A.					
	FECHA	Nº CITOL	LOCALIZ.	DIAGNOST.	Nº CASO
CADUPO	23/02/96	M6617	M.D.C.S.E.	B.G.	179
PREVIA	18/11/94	M5991	M.I.C.I.E.	ADENF2 OK	57
CONTRA	14/11/95	M6324	M.I.C.I.E.	ADENF2 NA	
POSTER	28/11/96	M6902	M.I.C.I.E.	ADENFE NA	
CONTRA	02/12/97	M7266	M.I.C.I.E.	ADENF2 OK	58

Tabla VIII: Z. F. T					
	FECHA	Nº CITOL.	LOCALIZ.	DIAGNOST.	Nº CASO
CADUPO	07/02/95	M6066	M.D.C.S.E.	B.G.	161
PREVIA	07/02/94	M5705	M.D.C.S.E.	ADENF2 NA	
HOMO					
PREVIA	07/02/94	M5704	M.I.C.S.E.	MAFMOD OK	7
CONTRA					

Tabla VIII: Pacientes Patología Asociada.

Debajo del nombre de la paciente encontramos las siglas “cadupo” que nos indican un diagnóstico citológico de cáncer con escasas atipias celulares; más abajo encontramos “cadumi”, corresponde a los casos de marcadas atipias y finalmente “sugcar” en el que incluimos aquellos casos que citológicamente eran sugestivos de malignidad. A continuación los grupos en los que consideramos la cronología de la patología benigna asociada y que ya hemos referido previamente en el capítulo de material y métodos.

En estos campos referimos la fecha en la cual se diagnosticó el carcinoma o la patología benigna asociada, la referencia de la citología correspondiente, la mama afectada y la localización por cuadrantes dentro de la misma. Las siglas utilizadas son: M.I. y M.D. para mama izquierda o derecha; C.S.E. para cuadrante superior externo; C.I.E. para cuadrante inferior externo; C.I.I. para

cuadrante inferior interno; C.S.I. para cuadrante superior interno; L.M. de CC. INTERNOS, EXTERNOS, INFERIORES Y SS, para las líneas medias de los respectivos cuadrantes.

En los casos correspondientes a carcinomas aparecen después las siglas A.G. y B.G. que corresponden a **“alto y bajo grado de malignidad por ADN”** previamente estudiado y la referencia numérica del caso tal como consta en nuestro archivo.

A continuación se expresan en siglas codificadas los diagnósticos de la patología benigna asociada:

ADENFE = Adenofibroma de escasa actividad.

ADENF2 = Adenofibroma con moderada cantidad de elementos celulares.

ADFIMO = Adenofibroma con moderada actividad celular.

MAFIMO = Mastopatía fibroquística con moderada cantidad de elementos celulares.

MAFIRM = Mastopatía fibroquística de tipo Reclús con moderada cantidad de elementos celulares.

MAFMOD= Mastopatía fibroquística con moderada actividad celular.

Finalmente las siglas N.A. nos indican que el caso correspondiente no ha sido considerado apto para su cuantificación a causa de las razones ya

comentadas (capítulo de Material y Métodos), mientras que el O.K. significa que han podido ser cuantificados. En algunos casos se han efectuado dos cuantificaciones, una para las ductales y otra para las apocrinas. Los números posteriores se refieren a nuestra numeración del caso.

En la siguiente Tabla IX encontramos los casos que nos ocupan con los resultados correspondientes al índice de 5cER, es decir porcentaje de células por encima de 5c, el valor de la entropía, el tipo de histograma y la agresividad considerada.

Tabla IX: CARACTERISTICAS DE PATOLOGIA ASOCIADA					
NºCASO		CCER	ENTROPIA	HISTOGRAMA	AGRESIVIDAD
2	A S C		1.409	2.24 DIPLOIDE	BENIGNO
2A	A S C	26	2.522	4.51 TETRAPLOIDE	BENIGNO
7	T Z F		1.696	2.30 DIPLOIDE	BENIGNO
51	P R I		3.037	2.45 DIPLOIDE	ACTIVO
52	P R I		2.508	2.68 DIPLOIDE	BENIGNO
53	G C I		2.581	1.81 DIPLOIDE	BENIGNO
54	A T P		2.477	1.99 DIPLOIDE	ACTIVO
55	G F E		2.000	2.03 DIPLOIDE	ACTIVO
56	M G P		2.118	1.97 DIPLOIDE	BENIGNO
57	P A A		2.198	2.72 DIPLOIDE	BENIGNO
58	P A A		2.053	2.69 DIPLOIDE	BENIGNO
59	A S C		1.138	2.05 DIPLOIDE	BENIGNO
59A	A S C	18	2.130	4.26 TETRAPLOIDE	ACTIVO
60	A S C		1.619	1.97 DIPLOIDE	BENIGNO
60A	A S C	14	2.494	3.61 TETRAPLOIDE	ACTIVO
61	A S C		1.941	2.34 DIPLOIDE	BENIGNO
62	A S C		1.695	2.29 DIPLOIDE	BENIGNO

Tabla IX: Características de Patología Asociada.

La primera columna nos muestra el número del caso y las iniciales de la paciente, apellidos y nombre.

En la columna correspondiente al “CCER” (Cinco C ER) observamos que en la mayoría está vacía; se debe a que no existen células en ésta

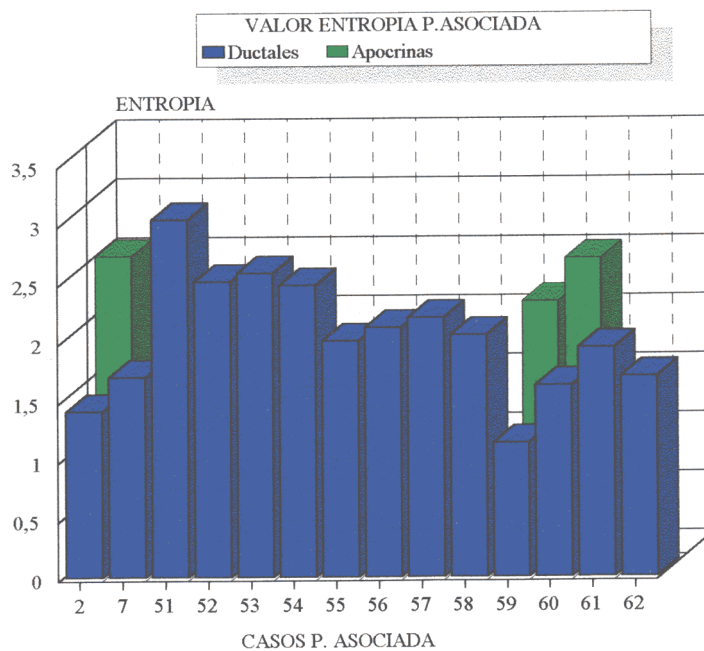
localización. Aquellos casos que presentan un porcentaje positivo estan referidos con su valor correspondiente.

En la columna referida a entropía vemos los valores asignados a cada caso.

En la columna de histograma está reflejado el valor de la ploidía y su denominación.

Finalmente, el apartado de agresividad nos refiere la actividad del tumor en base a los parámetros de ploidía, histograma y entropía.

En la gráfica 8 se reflejan los valores de la entropía.



Gráfica 8: Valor de entropía en P. Asociada.

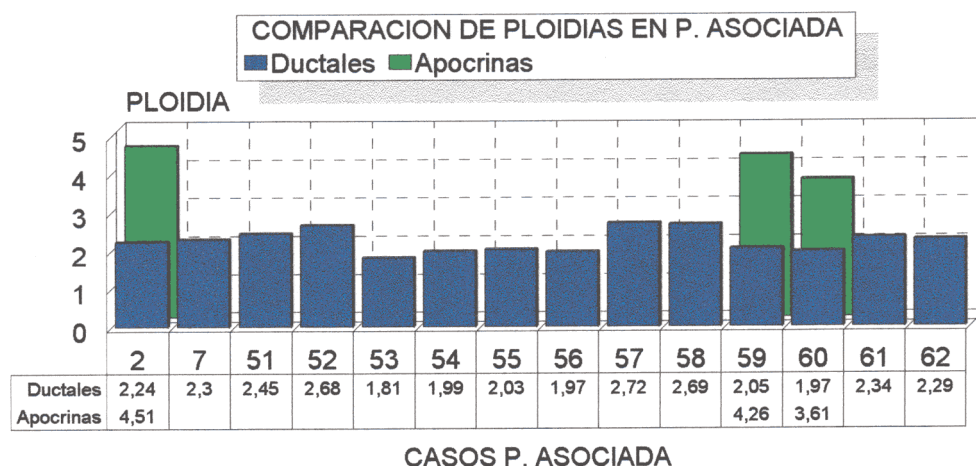
En el estudio de los casos con patología asociada hemos desglosado sus entropías con el fin de compararlas independientemente de los casos P.P.B., así pues se ha obtenido la gráfica 8 además de la tabla X, que muestran cómo la media y la mediana nuevamente coinciden en el caso de las células ductales (media = 2,03 ; mediana = 2,02) y la desviación estandar es de 0,509 indicando que los valores se agrupan significativamente alrededor del valor 2, sin embargo, para las células apocrinas dado que sólo hay tres casos no es significativo su estudio, no obstante mostramos sus valores apreciando que son ligeramente superiores, como ocurría en la P.P.B.

VALORACION DE LA ENTROPIA EN P. ASOCIADA		
	DUCTALES	APOCRINAS
SUMA TOTAL	28,47	7,14
MINIMO	1,138	2,13
MAXIMO	3,037	2,52
MEDIA	2,03	2,38
MEDIANA	2,02	2,49
D.E.	0,509	0,22

Tabla X: Valoración de entropía en P. Asociada.

Una vez comparada la entropía no se puede hacer menos con la ploidía

y, al igual que sucedió con los casos de P.P.B. se comprueba que los valores tienen muy poca dispersión y se agrupan en torno a la diploidía y tetraploidía, como se puede observar en la gráfica 9 y Tabla XI correspondientes.



Gráfica 9: Comparación de ploidías en P. Asociada.

VALORACION DE LA PLOIDIA EN P. ASOCIADA		
	DUCTALES	APOCRINAS
MINIMO	1,81	3,61
MAXIMO	2,72	4,51
MEDIA	2,25	4,12
MEDIANA	2,26	4,26
D.E.	0,29	0,46

Tabla XI: Valoración de ploidía en P. Asociada.

C.- VALORACION ESTADISTICA DE LOS RESULTADOS

1) ESTADISTICA DESCRIPTIVA:

La realización de una estadística descriptiva debe tener inicialmente en cuenta el tipo de variables a considerar que son , en definitiva, las distintas características de la muestra a estudio.

Hay que valorar dos tipos de variables: las cuantitativas, medibles y expresables numéricamente, y las cualitativas, indicativas de algún atributo.

En nuestro estudio la ploidía y entropía corresponden a las variables cuantitativas; los diferentes diagnósticos considerados corresponden a las variables cualitativas.

Una vez recogidos los datos pasamos a realizar una distribución según su frecuencia en los correspondientes histogramas de barras, hallando a continuación las siguientes medidas:

-Medidas de tendencia central:

Media aritmética

Moda

Mediana

- Medidas de dispersión:

Rango

Desviación típica o estándar

Varianza

Error estandar de la media

- Medidas sin dimensión:

Coefficiente de variación

Según los valores de esta última medida, seleccionamos la variable cuantitativa más significativa, que en nuestro caso será la ploidía y/o entropía, la cual nos servirá para realizar con posterioridad el estudio comparativo de los diferentes diagnósticos de cada grupo entre sí (P.P.B. y P.Asociada).

Una vez se han hallado la media aritmética y la desviación típica o estándar, realizamos el diagrama de barras, que corresponde a la distribución gráfica de los datos en función de ambas medidas.

Uno de los estudios estadísticos fundamental en casi todas las aplicaciones de la estadística a la biología es el análisis de la varianza: ANOVA. Mediante dicho análisis podemos comprobar si dos o más medias muestrales pueden haberse obtenido de poblaciones con la misma media

aritmética respecto de una variable dada o, expresado más claramente, si existen diferencias significativas entre las medias de la variable considerada. Ello nos conducirá a afirmar o negar la existencia de similitudes o diferencias entre los distintos grupos muestrales en función de la variable patrón; es decir, en este estudio, si existen diferencias entre los distintos diagnósticos según los valores obtenidos del parámetro ploídia y/o entropía.

Para la utilización del análisis de la varianza se requiere el cumplimiento de una serie de condiciones en la muestra: homogeneidad de la varianza, distribución normal e independencia.

Con el fin de observar si la distribución es normal pasamos a la obtención de dos medidas de forma:

Coeficiente de simetría o Skweness

Coeficiente de aplastamiento o Kurtosis

que determinarán si la muestra sigue o no una distribución normal; para ello se requerirá que ambos coeficientes tengan valores que estén comprendidos entre ± 1 , condición que ha de verificarse en todos los casos de la variable estudiada, ya que si el muestro no es muy amplio, nos induciría a error.

En nuestro trabajo sobre la mastopatía fibroquística, observamos que el muestreo varía su condición de normalidad dependiendo de los parámetros que

comparemos, y así viene expresado en las Tablas (XII a XIX) y gráficas (10 a 19) al final del capítulo. Conviene recordar, no obstante, que debido al escaso número de casos de P. Asociada con M.F.Q.R., se dispone tan sólo de tres casos cuantificados con células apocrinas, y por tanto los valores que de ellos se deriven serán irremediablemente no significativos.

Cuando no se verifican las condiciones necesarias para la utilización del análisis de la varianza, se recurre a otros tipos de test, denominados no paramétricos, que sirven, así mismo, para comparar distribuciones de variables pertenecientes a una población cuya forma no está especificada.

El siguiente paso consiste en comparar de dos en dos las poblaciones celulares de cada grupo. Para ello realizamos el test de Mann-Whitney, diseño no paramétrico que indica si existe diferencias significativas entre dos muestras de igual o diferente tamaño. El test determina el valor del estadístico U y la hipótesis nula se rechaza cuando el valor del U calculado es igual o menor al valor crítico teórico hallado en las correspondientes tablas, en función de los tamaños de las muestras que estamos comparando y para un nivel determinado del nivel de significación; el rechazo indica la existencia de diferencia significativa entre los distintos diagnósticos comparados.

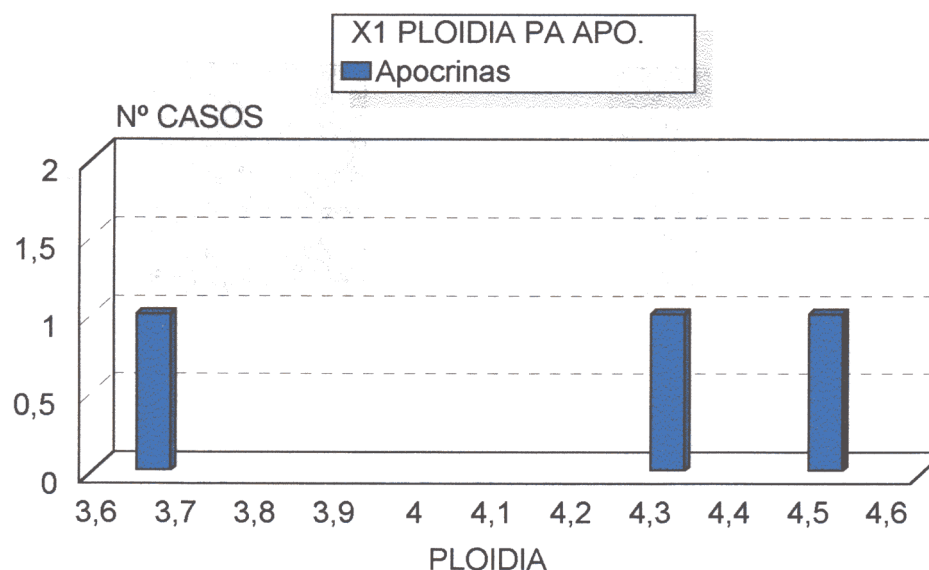
En nuestro trabajo al analizar los resultados del test de Mann-Whitney, nos basamos en el valor de la “p”, para indicar la significación estadística

encontrada, siendo que para una $p < 0,05$ se asume por convención que el resultado es estadísticamente significativo.

A continuación se exponen en diferentes tablas y gráficas los valores hallados en los respectivos estudios comparativos:

X₁: PLOIDIA P.A. APOCRINAS					
Media	D.Estándar	E.Estándar	Varianza	C.Variación	Nº Casos
4,127	0,465	0,268	0,216	1,258	3
Mínimo	Máximo	Rango	Suma	S.Cuadrado	
3,61	4,51	0,9	12,38	51,52	
Moda	Kurtosis	Skewness			
-----	-1,5	-0,484			

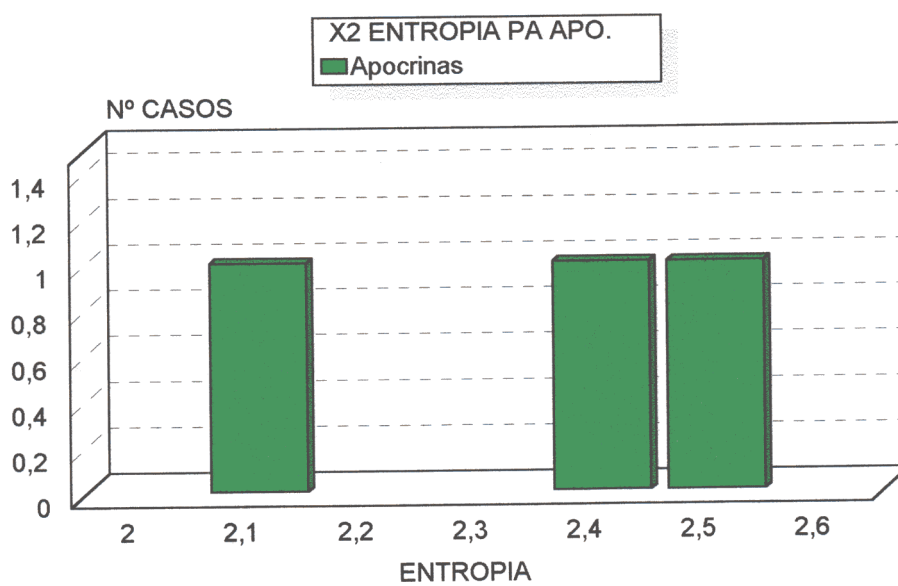
Tabla XII



Gráfica 10

X ₂ : ENTROPIA P.A. APOCRINAS					
Media	D.Estándar	E.Estándar	Varianza	C.Variación	Nº Casos
2,382	0,219	0,126	0,48	9,181	3
Mínimo	Máximo	Rango	Suma	S.Cuadrado	
2,13	2,522	0,39 2	7,146	17,117	
Moda	Kurtosis	Skewness			
-----	-1,5	-0,694			

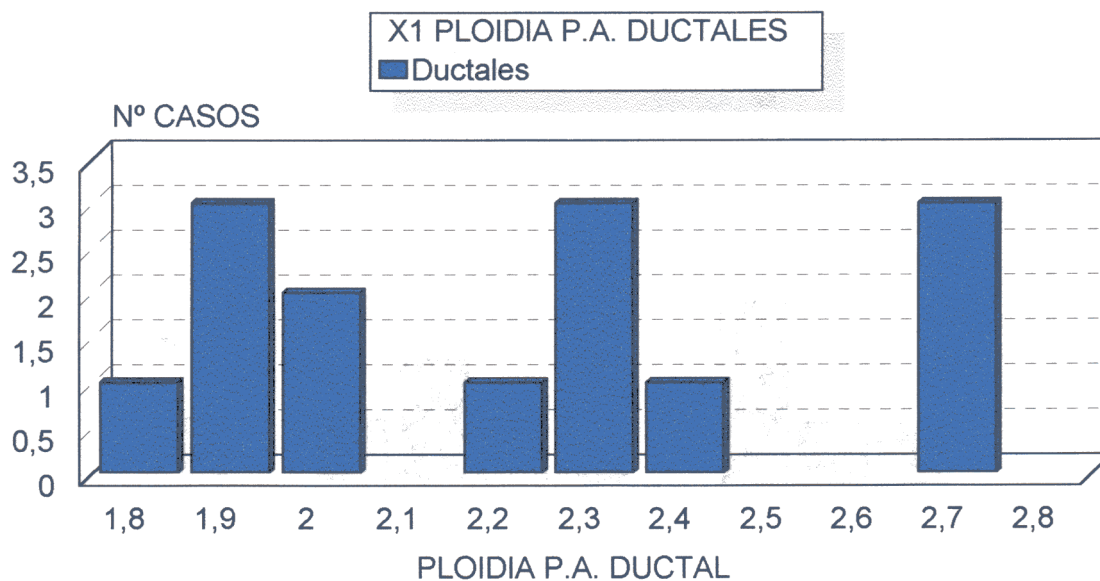
Tabla XIII.



Gráfica 11.

X ₁ : PLOIDIA P.A. DUCTALES					
Media	D.Estándar	E.Estándar	Varianza	C.Variación	Nº Casos
2,252	0,298	0,08	0,089	13,252	14
Mínimo	Máximo	Rango	Suma	S.Cuadrado	
1,81	2,72	0,91	31,53	72,168	
Moda	Kurtosis	Skewness			
1,97	-1,126	0,314			

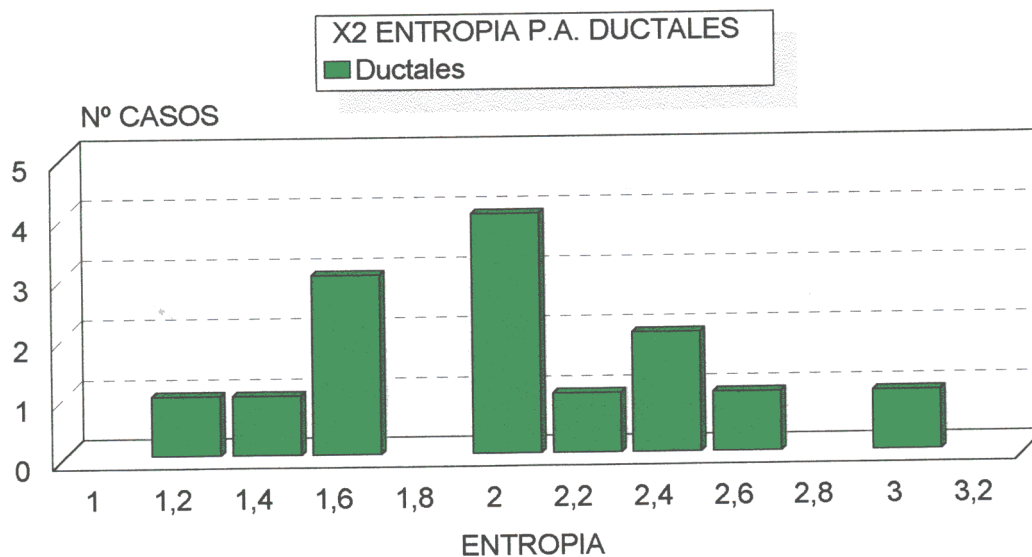
Tabla XIV.



Gráfica 12.

X ₂ : ENTROPIA P.A. DUCTALES					
Media	D.Estándar	E.Estándar	Varianza	C.Variación	Nº Casos
2,034	0.509	0,136	0,259	25,019	14
Mínimo	Máximo	Rango	Suma	S.Cuadrado	
1,138	3,037	1,899	28,47	61,261	
Moda	Kurtosis	Skewness			
-----	-0,472	0,159			

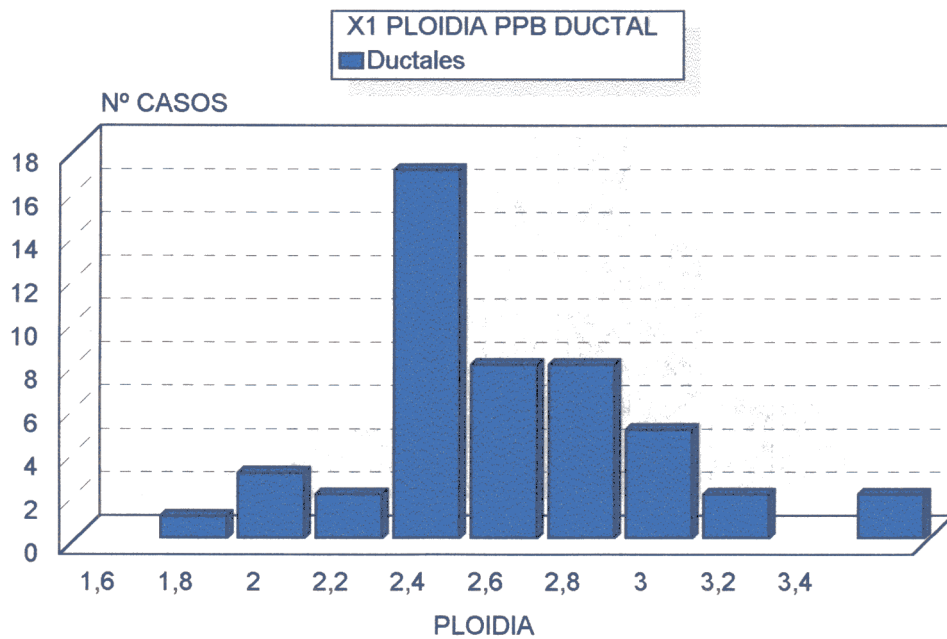
Tabla XV.



Gráfica 13.

X ₁ : PLOIDIA P.P.B. DUCTALES					
Media	D.Estándar	E.Estándar	Varianza	C.Variación	Nº Casos
2,441	0.292	0,042	0,086	11,978	48
Mínimo	Máximo	Rango	Suma	S.Cuadrado	
1,72	3,21	1,49	117,18	290,085	
Moda	Kurtosis	Skewness			
-----	0,768	0,482			

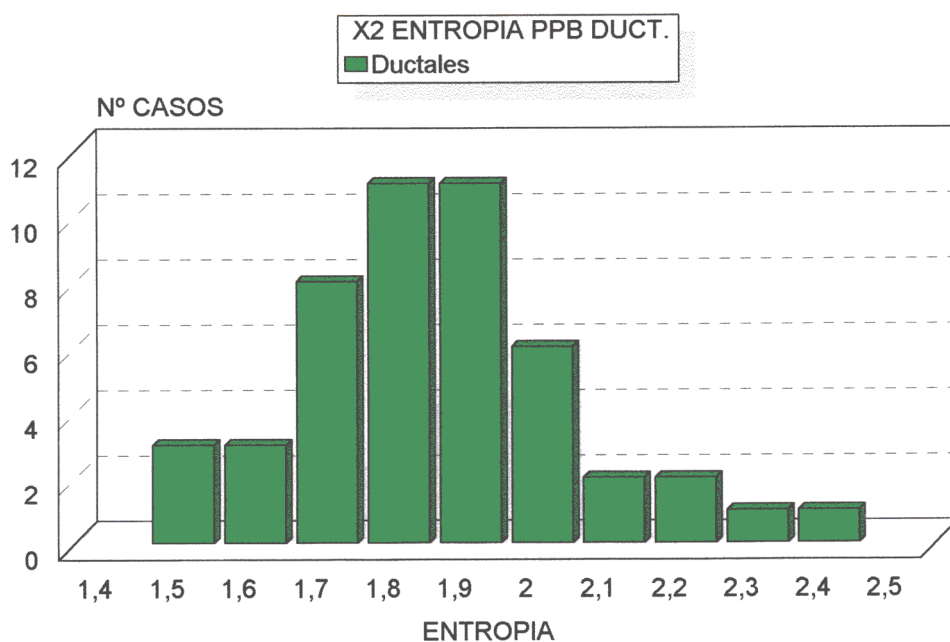
Tabla XVI.



Gráfica 14.

X ₂ : ENTROPIA P.P.B. DUCTALES					
Media	D.Estándar	E.Estándar	Varianza	C.Variación	Nº Casos
1,846	0,183	0,026	0,033	9,9	48
Mínimo	Máximo	Rango	Suma	S.Cuadrado	
1,46	2,408	0,948	88,623	165,196	
Moda	Kurtosis	Skewness			
-----	1,007	0,613			

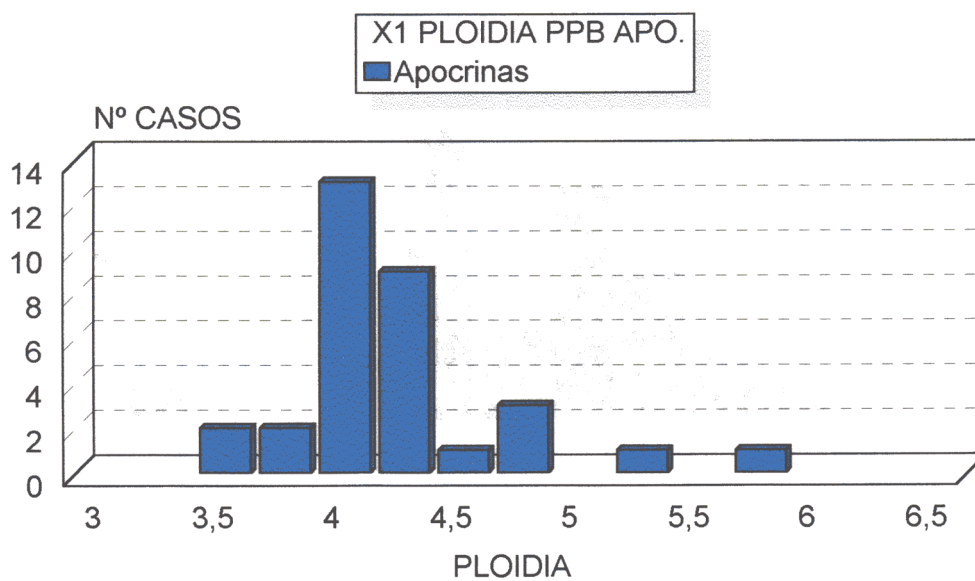
Tabla XVII.



Gráfica 15.

X1 : PLOIDIA P.P.B. APOCRINAS					
Media	D.Estándar	E.Estándar	Varianza	C.Variación	Nº Casos
4,25	0,514	0,091	0,264	12,1	32
Mínimo	Máximo	Rango	Suma	S.Cuadrado	
3,37	5,978	2,6	136	586,197	
Moda	Kurtosis	Skewness			
-----	2,708	1,395			

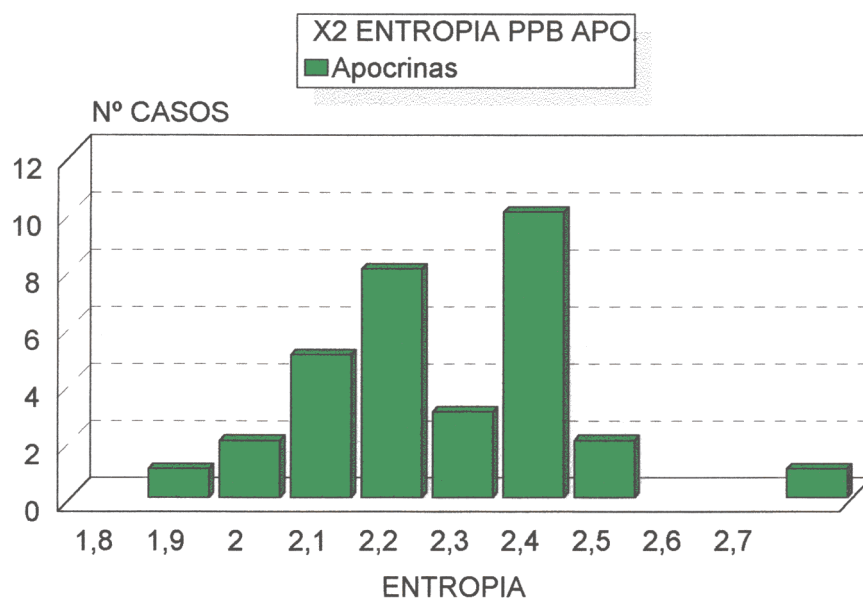
Tabla XVIII



Gráfica 16

X ₂ : ENTROPIA P.P.B. APOCRINAS					
Media	D.Estándar	E.Estándar	Varianza	C.Variación	Nº Casos
2,202	0,159	0,028	0,025	7,229	32
Mínimo	Máximo	Rango	Suma	S.Cuadrado	
1,84	2,689	0,849	70,456	155,912	
Moda	Kurtosis	Skewness			
2,298	1,432	0,518			

Tabla XIX



Gráfica 17

Se comprueba por tanto que sólo siguen una distribución normal las siguientes medidas:

- Entropía P.A. Ductales (tabla XV)
- Ploidía P.P.B. Ductales (tabla XVI)

así pues todas las restantes variables seguirán una distribución diferente de la normal, aunque hay que señalar que la Entropía P.P.B. Ductales (tabla XVIII), se encuentra muy cercana a ella.

Ahora pasamos a comparar los grupos de diagnóstico entre sí (PPB/PA), así como las poblaciones celulares entre ellas (ductales/apocrinas), usando para ello el test no paramétrico de Mann-Whitney y hallando por tanto el estadístico U y el valor de “p” para así poder discriminar sobre su significación:

Ploidía: PA Duct./ PA Apo.
Nº= 14duct / 3apo.
U = 0
p = 0,0082

Tabla XX.

SI SIGNIFICATIVO.

ENTROPIA: PA Duct./ PA Apo.
Nº= 14duct / 3apo.
U = 0
p = 0,1658

Tabla XXI

NO SIGNIFICATIVO.

Ploidía: PPB Duct./ PPB Apo.
Nº= 48duct / 32apo.
U = 0
p = 0,0001

Tabla XXII

SI SIGNIFICATIVO.

ENTROPIA: PPB Duct./ PPB Apo.
Nº= 48duct / 32apo.
U = 110,5
p = 0,0001

Tabla XXIII

SI SIGNIFICATIVO.

Ploidía APO. PPB/ PA
Nº= 32 PPB / 3PA.
U = 48
p = 1

Tabla XXIV

NO SIGNIFICATIVO.

ENTROPIA APO. PPB/ PA
Nº= 32 PPB / 3PA.
U = 24
p = 0,1573

Tabla XXV

NO SIGNIFICATIVO.

Ploidía DUCT. PPB/ PA
Nº= 48 PPB / 14PA
U = 212,5
p = 0,0376

Tabla XXVI

SI SIGNIFICATIVO.

ENTROPIA DUCT. PPB/ PA
Nº= 48 PPB / 14PA
U = 248
p = 0,1385

Tabla XXVII

NO SIGNIFICATIVO.

Las tablas que indican “ SI SIGNIFICATIVO ” implican que en función de los valores de la variable considerada, ploidía o entropía, podríamos diferenciar las poblaciones celulares entre sí. Por ejemplo en la tabla XX el valor de la ploidía nos serviría para diferenciar las células ductales de las apocrinas.

Así pues, atendiendo a la ploidía podemos decir que es significativa (tablas XX, XXII, XXVI), excepto en la tabla XXIV, por ser el número de casos más diferente. Mientras que la entropía solo es significativa para la tabla XXIII dado que el número de casos es más próximo entre sí.

2) EPIDEMIOLOGIA:

Antes de explicar el tipo de estudio que hemos llevado a cabo es fundamental apuntar que el interés de ésta sección es simplemente el de proporcionar un punto de vista diferente respecto a la relación entre mastopatía y cáncer de mama, realizando un estudio epidemiológico independiente del análisis de la cuantificación de ADN por citometría de imagen, y poder así comparar los valores obtenidos por técnicas tan distintas. Es pues este apartado un apoyo a nuestra investigación, y no una parte fundamental de la misma, por lo que deberá ser breve y no profundizaremos más que lo estrictamente necesario para establecer las cuestiones más importantes, pero sin dejar ninguna laguna. No obstante, esperamos que los resultados puedan afianzar lo que ya vislumbramos con la cuantificación de ADN, y así podamos exponerlo en las conclusiones.

La duda está en si nos encontramos ante un posible estudio de cohortes retrospectivo o uno de casos y controles, ya que en éste trabajo y debido a las particulares características de su realización es especialmente difícil encontrar el enfoque más adecuado. En cualquier caso el valor del riesgo relativo (que es lo que realmente nos interesa) es muy similar con ambos estudios, siendo mínimas las variaciones encontradas. La única diferencia importante es la

imposibilidad para el cálculo de la incidencia con el estudio de casos y controles. De cualquier modo y dado que se parte de una exposición a un factor de riesgo conocido -mastopatía- y se busca un efecto concreto -cáncer- es más correcto realizar el estudio de cohortes.

Por lo tanto, hemos seleccionado una muestra de individuos sujetos a un factor de riesgo (patología mamaria benigna: MFQ y MFQR) y lo comparamos con otro grupo similar en todas sus características excepto para el factor de riesgo estudiado. De tal modo que tenemos una **cohorte expuesta** y una **cohorte no expuesta**, y estudiamos la incidencia de la enfermedad (desarrollo de cáncer) en ambas cohortes. Esta selección se ha realizado sobre historias clínicas donde la secuencia cronológica aparece perfectamente detallada (tabla VIII), se trata pues de un estudio retrospectivo = **Cohortes Históricas**. Estamos ante un estudio longitudinal, de seguimiento, que va de la **causa** (MFQ y MFQR) al **efecto** (cáncer).

La ventaja de este tipo de estudio es que es el mejor para comprobar hipótesis previas de causalidad, también es el mejor para estudiar la multiefectividad del factor de riesgo y nos permite valorar la incidencia. *(Piédrola G., 1994)*

Se podría pensar que al realizar el estudio sobre una muestra hospitalaria estaríamos incurriendo en el *Sesgo de Berkson*, pero esto no es así

ya que no pretendemos extrapolar nuestros resultados a la población general sino únicamente a la parte de la población que padezca una MFQ o MFQR.

Después de comprobar nuestros datos nos encontramos con que de 595 casos con diagnóstico de algún tipo de mastopatía **sólo 19 desarrollaron un carcinoma** (aquí excluimos los 12 casos de adenofibroma que aun estando incluidos dentro de P. Asociada, por no ser estrictamente competencia de este estudio no los vamos a reflejar en la valoración matemática), y de éstos sólo hubo 8 pacientes con carcinoma homolateral posteriormente, teniendo en cuenta que representaron 11 casos estudiados (4 de ellos adenofibromas), y 4 fueron cuantificados (ver tabla IV).

Por todo ello sólo quedan 7 casos en los que realmente después de una MFQ o MFQR, apareció un cáncer homolateral , lo que arroja un porcentaje mínimo de 1,17%. Incluso asumiendo los casos de Adenofibroma tendríamos que sólo 31 casos han desarrollado un cáncer en algún momento de su vida, es decir un 5,21%. Estudiando la bibliografía (*Cotran R., Kumar V., Robbins C.S., 1990; Piédrola G., 1994*) veremos que la incidencia de cáncer de mama en el mundo oscila entre un 7 % y 9% según las series, con lo que todavía está muy alejado ése 1,17% más aún pensando que nuestra propia estadística muestra un 6,82% de cánceres de mama (254 casos sobre un total de 3724 PAAF, ver tabla III), es decir, el porcentaje de mujeres que habiendo padecido

una mastopatía tiene un cancer asociado en algún momento (tabla IV) es muy inferior al que cabría esperar si realmente hubiera un riesgo asociado, o al menos debería ser igual al de la población general, siendo que según hemos comprobado llega a ser incluso inferior a ésta. Como veremos en las tablas que se exponen a continuación no se puede decir, al menos estadísticamente, que haya una relación causa-efecto entre mastopatía y cáncer de mama. Para ello usaremos las **medidas de asociación**, que miden la diferencia de aparición de una enfermedad entre los expuestos y los no expuestos al factor de riesgo:

- *Riesgo Relativo*: mide la fuerza de asociación entre un factor de riesgo y la enfermedad.

$$RR = \text{incidencia expuestos} / \text{incidencia no expuestos}$$

y las **medidas de impacto**:

- *Riesgo Atribuible*: informa sobre el exceso de riesgo en los expuestos frente a los no expuestos .

$$RA = \text{incidencia expuestos} - \text{incidencia no expuestos}$$

- *Fracción Etiológica del Riesgo*: indica la proporción de la enfermedad que se debe al factor de riesgo.

$$FER = \text{I. expuestos} - \text{I. no expuestos} / \text{I. expuestos}$$

	CANCER	NO CANCER	
MFQ	7	588	595
NO MFQ	247	2882	3129
Totales:	254	3470	3724

Tabla XXVIII: P. Asociada Homolateral Previa.

En esta primera tabla estudiamos la relación entre los 7 casos que tuvieron una mastopatía y posteriormente un cáncer en la misma localización.

$$RR = 0,012 / 0,078 = 0,15$$

$$RA = 0,012 - 0,078 = -0,066$$

$$FER = 0,012 - 0,078 / 0,012 = -5,5$$

Con éstos valores sólo resulta útil el riesgo relativo (0,15) que indica la imposibilidad de afirmar la existencia de una relación causa-efecto entre la mastopatía y el cáncer, para una $p < 0,01$, mientras que el RA y la FER indican con sus valores negativos que tampoco se puede atribuir una proporción de riesgo a la mastopatía en la aparición del cáncer.

	CANCER	NO CANCER	
MFQ	19	576	595
NO MFQ	235	2894	3129
<i>Totales:</i>	254	3470	3724

Tabla XXIX : P. Asociada todas las localizaciones.

$$RR = 0,032 / 0,075 = \mathbf{0,42}$$

$$RA = 0,032 - 0,075 = \mathbf{-0,043}$$

$$FER = 0,032 - 0,075 / 0,032 = \mathbf{-1.34}$$

Estamos ante una situación similar a la anterior, pero al hallar los datos con los 19 casos de patología asociada el resultado es algo mayor sobre todo en lo que se refiere al riesgo relativo, aunque aun así al ser inferior a 1 **no se puede decir que exista tal riesgo**, para una $p < 0,01$.

IV.- DISCUSSION

IV.- DISCUSION

A.- PATOLOGIA PROBABLEMENTE BENIGNA :

Para la discusión de los resultados nos vamos a referir a las tablas correspondientes.

La tabla VI (capítulo de Resultados pág.126) refleja los valores de ploidía, histograma , 5cER, y entropía que vamos a analizar a continuación.

1) PLOIDÍA :

Inicialmente pensamos que puesto que las células ductales e hidrosadenoides eran benignas nos encontraríamos un histograma diploide con mayor o menor desviación. Sin embargo lo que más llama la atención desde el primer momento es la poliploidía, generalmente tetraploidía, que corresponde a las células hidrosadenoides. Sabemos que en el organismo existen ciertamente células poliploides, uno de los ejemplos más conocidos es el de los hepatocitos, pero no teníamos conocimiento de que esto ocurriera en las

células apocrinas de la mama, de hecho no hemos encontrado referencias bibliográficas a este respecto.

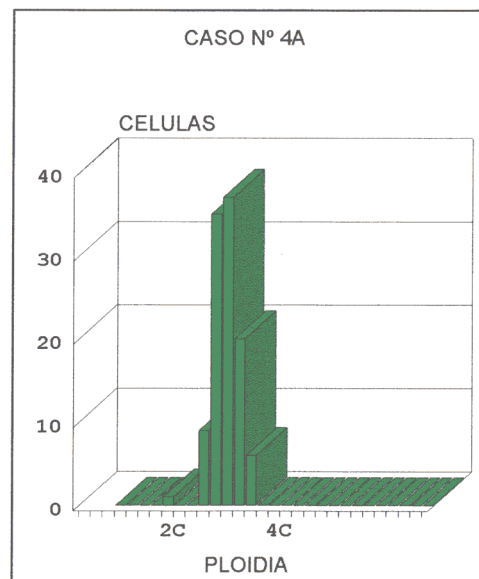
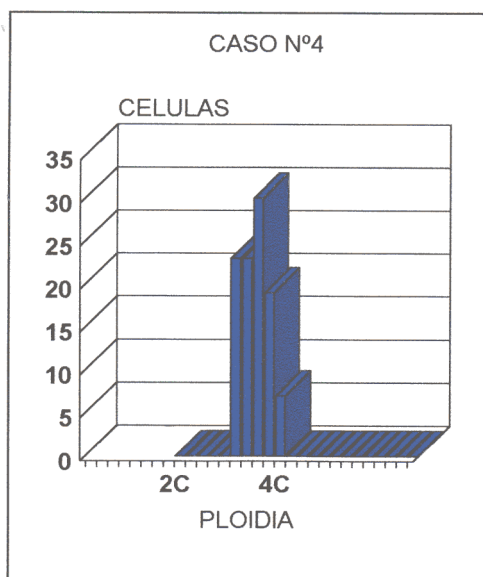
En segundo lugar vemos como las cifras de ploidía son muy variables, casi siempre en la región cercana a $2c$, pero no ha sido excepcional el encontrar casos totalmente triploides, casos 4, 11, 32 y 41, lo que representa un 5% de los casos benignos. Ya hemos comentado en el capítulo de resultados nuestra valoración del pico máximo de ploidía y de la ploidía dominante. De cualquier forma pensamos ahora que lo anómalo sería encontrar siempre una ploidía de 2.00 que es la que en realidad están marcando las células de control. Claro que en alguna ocasión ocurrirá esto, incluso vamos a encontrar casos por debajo de $2c$, caso 36, pero lo lógico es que si estamos tratando con células tumorales, aunque benignas, éstas tengan una actividad que se refleje en sus valores de ploidía y que sean estos superiores a los de las células de control.

2) HISTOGRAMAS :

Lógicamente están íntimamente relacionados con el apartado anterior. Consideramos pues totalmente normales los casos con histograma diploide y cercano a diploide.

CASO N°4 y 4A:

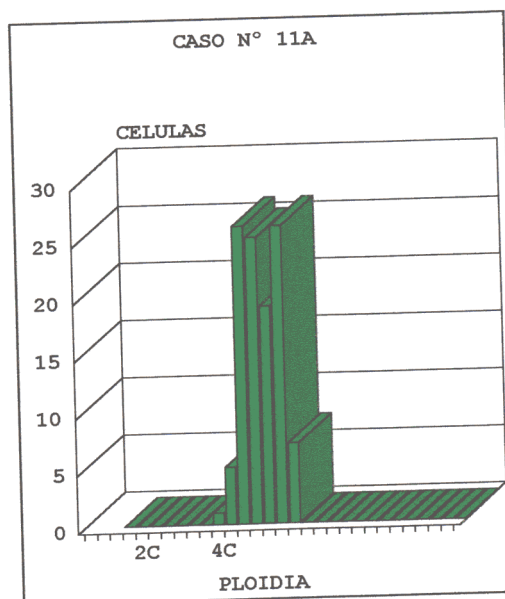
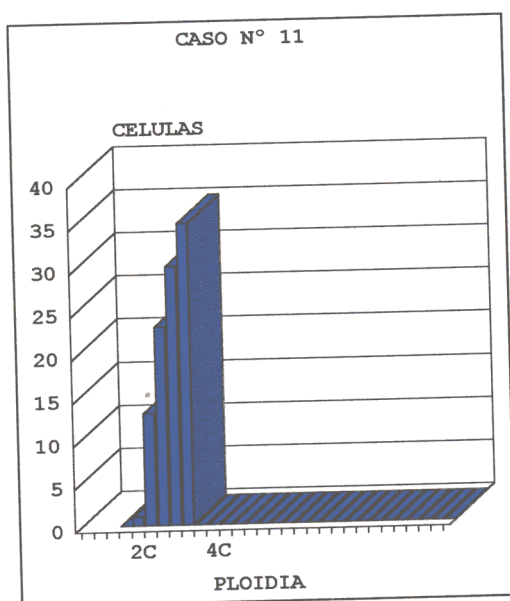
Si analizamos los casos triploides veremos que el caso N°4 lo consideramos triploide, con un valor de 2.9 y una entropía de 2.205, mientras que el N°4A muestra una ploidía de 3.56 y una entropía de 2.100.



En ambos casos el valor de la entropía es algo superior a la media sin que eso sea significativo. No encontramos una relación con el aspecto morfológico, aunque debemos pensar en que existe una actividad celular que no hemos detectado en la citología.

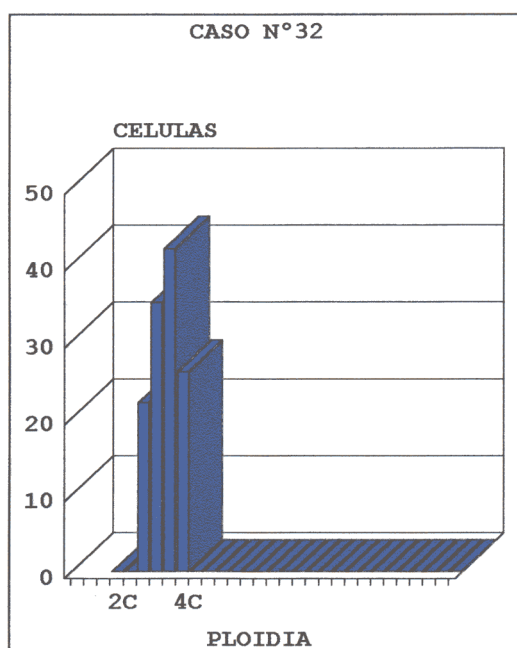
CASO N° 11 y 11A:

El caso N° 11, con un 2.98 de ploidía, muestra en el caso N°11A, es decir en las células apocrinas del mismo caso, un valor de 5.39, casi el doble del obtenido con las ductales. Además este caso con un gran número de células por encima de 5c (30 cél.) en el histograma de las apocrinas, había presentado en la citología un valor de marcada actividad. Los valores de entropía están por debajo de la media para las células ductales y muy por encima en el caso de las apocrinas. Creemos que este caso, único citológicamente en el que encontramos una marcada actividad desde el punto de vista morfológico, refleja también dicha actividad en el histograma, aún teniendo en cuenta que, como ya hemos comentado no existen células en fase "S".



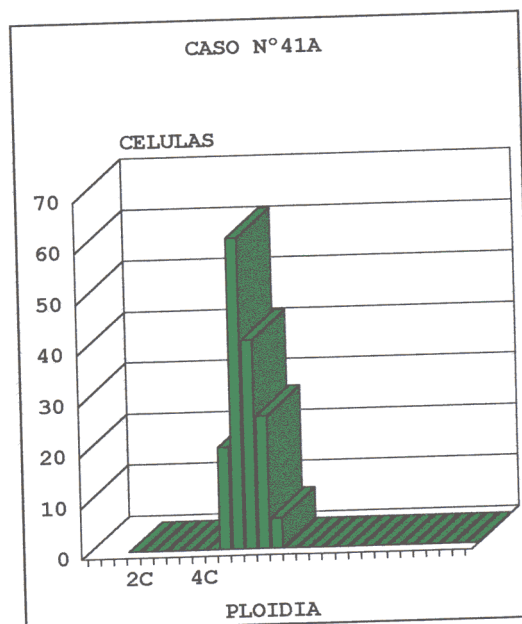
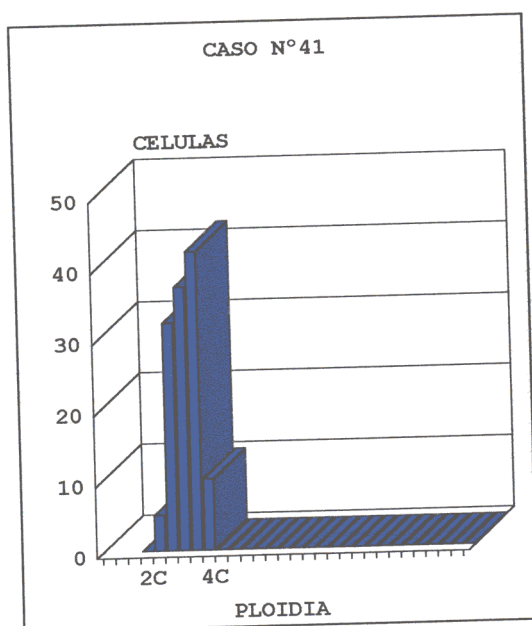
CASO N° 32:

El **caso N° 32** muestra un histograma triploide con un valor de 3.20. Corresponde a una mastopatía simple que citológicamente ha sido diagnosticada como de moderada actividad. Su entropía es de 1.95, es decir, inferior a la media. Como en el caso N° 11, volvemos a encontrar una aparente relación directa de los signos morfológicos de actividad celular con el aumento de la ploidía.



CASO N°41 y 41A:

El caso N°41 muestra una ploidía de 3.21 y una entropía de 2.024, mientras que el caso N°41A lo consideramos pentaploide, con un valor de 4.86 y una entropía de 2.036. Vemos otra vez que a una ploidía aumentada de las células ductales le corresponde también un aumento en las hidrosadenoides. Como en el caso n°4 podemos considerar un aumento de la actividad celular sin relación morfológica.



B) PACIENTES CON PATOLOGIA ASOCIADA :

En la tabla III (Material y Métodos, pág.92) vemos que se han estudiado 236 pacientes con cáncer de mama y que de estas se obtienen 254 casos de cáncer en los cuales ha existido en algún momento, previo, concomitante o posterior al cáncer, una patología benigna. En la tabla IV (Material y Métodos pág.93) reflejamos el número de pacientes, y casos que de estos se desprenden, que habiendo tenido un cáncer de mama han padecido también una patología benigna asociada. Nos vamos a referir exclusivamente a los pacientes, ya que el tratatamiento de los casos puede inducir a error, puesto que una misma paciente con un tumor asociado ha podido ser estudiada varias veces a lo largo de los años, dando lugar a varios casos, pero que en realidad son todos ellos el mismo tumor y de la misma paciente.

Vemos que en total han sido 14 pacientes, que sobre un total de 236 representan el 5,93%; de estos 14, solo 8 presentaron una patología previa homolateral, constituyendo el 3,39%. El resto de la patología asociada, si bien es interesante estudiarla con el fin de ver el estado del ADN de sus células, no es representativa en cuanto a su posible papel como precursor de un carcinoma confirmado posteriormente (ver capítulo de Epidemiología tablas XXVIII y

XXIX). El porcentaje encontrado es, tal vez, superior al esperado, en base a que clínicamente es raro encontrar carcinomas en pacientes que previamente hayan tenido patología benigna (ver el apartado epidemiología). Sin embargo, pensamos que un 3,39% no es significativo como para esperar que una mastopatía previa sea una lesión potencialmente maligna. *Borzenko B.G. (1990), Borzenko B.G. (1997), Contesso G. (1991), Fabian C.J. (1994), Guski H. (1986), Guski H. (1986), Prechtel K. (1991), Prechtel K. (1993), Prechtel K. (1994), Raju U. (1993), Schauer K. (1989), Vasiu R. (1990).*

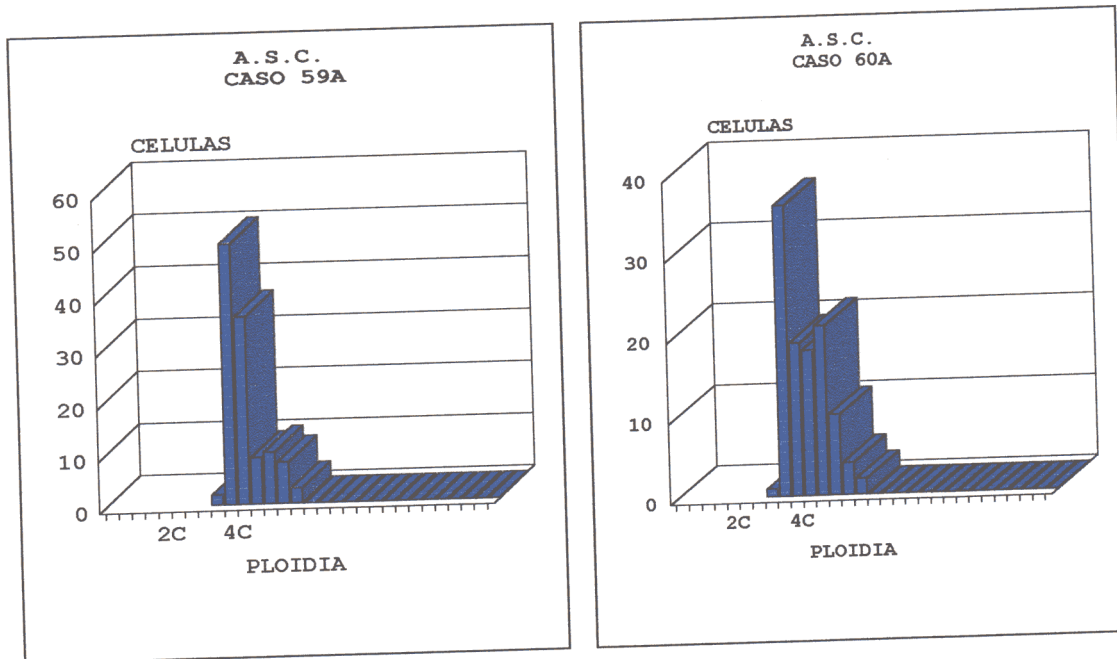
Para una mejor comprensión vamos a analizar los resultados de cada paciente siguiendo un orden alfabético referido a las siglas que corresponden a sus apellidos y nombre. Tal vez sea algo más incómodo que referir el nombre completo de la paciente, pero de esta forma preservamos su intimidad.

PACIENTE: A.S.C.**CASOS N° 2,2A,59,59A,60,60A, 61 Y 62**

Controlada clínica, radiológica y citológicamente desde 1993, en que aparece una mastopatía fibroquística de tipo Reclús en el C.S.E. de M.I., caso N°59A y posteriormente en 1995 tenemos el caso N°60A. Este diagnóstico se repite hasta 1996 en el que no se objetivan células hidrosadenoides, quedando como mastopatía fibroquística simple. La revisión citológica de todos los casos coincide con el diagnóstico original.

En 1994 aparece en el C.S.E. de M.D. un Adenofibroma de escasa actividad, que evoluciona hacia mastopatía fibroquística sin que en ningún momento haga sospechar la posibilidad de carcinoma, sin embargo, aparece éste en 1997 y en la misma localización. Por desgracia ninguno de los frotis correspondientes a estos tumores previos han sido aptos para cuantificación.

En los casos previos y el concomitante de la mama contralateral no presentan características especiales, salvo, tal vez, en los histogramas correspondientes a las células hidrosadenoides 59A y 60A, en los que manteniendo su típico aspecto tetraploide de características benignas (ploidías de 4,26 y 3,61 y entropías de 2,130 y 2,494 respectivamente), encontramos, sin embargo, una cierta actividad, representada por la existencia de una fase “S” aumentada en ambos casos, con valores de 2.542 y 5.405.



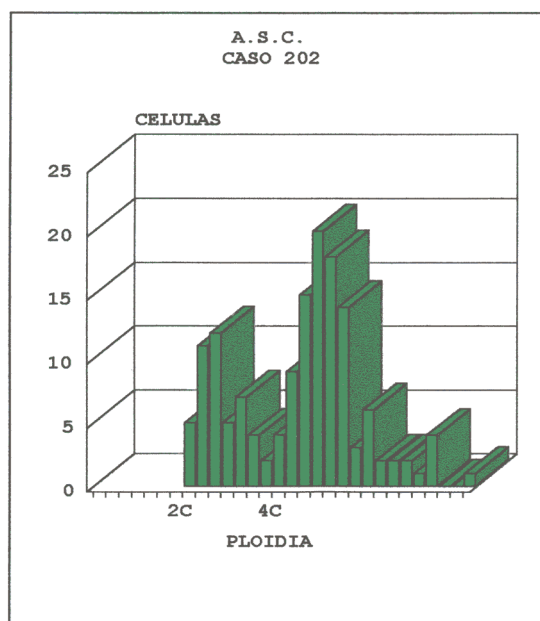
Las células ductales muestran siempre un histograma diploide sin fase “S”.

Con respecto al carcinoma fue diagnosticado citológicamente como sugestivo por las escasas atipias encontradas. El histograma es de tipo II, caso N°202, con dos poblaciones celulares y en el que no podemos valorar la entropía ni el valor de las células por encima de 5c, ni las fases celulares ya que las poblaciones descritas se superponen y enmascaran los valores. No obstante consideramos a este tipo de histogramas como de bajo grado de malignidad.

Si observamos el histograma vemos que efectivamente en el primer pico celular no podemos objetivar la fase “S”, pero en el segundo, y aún si lo

considerásemos como un solo pico, vemos como hay células que se extienden hacia la derecha, constituyendo una verdadera fase, que nos podría corresponder con histograma de tipo I. Es, de todas formas, manifiestamente diferente de los histogramas tetraploides propios de las células hidrosadenoides. Es más, en el caso que nos ocupa la ploidía máxima es de 5.17 lo que habla en favor de la malignidad.

El informe anatomopatológico de las piezas quirúrgicas es significativo y creemos conveniente reseñar al menos el resumen: “enfemedad fibroquística bilateral de la mama , con hiperplasia intraductal bilateral, ordinaria, típica y moderada en mama derecha; ordinaria, típica y leve en mama izquierda. Neoplasia epitelial lobular, de grado I, en mama derecha.”



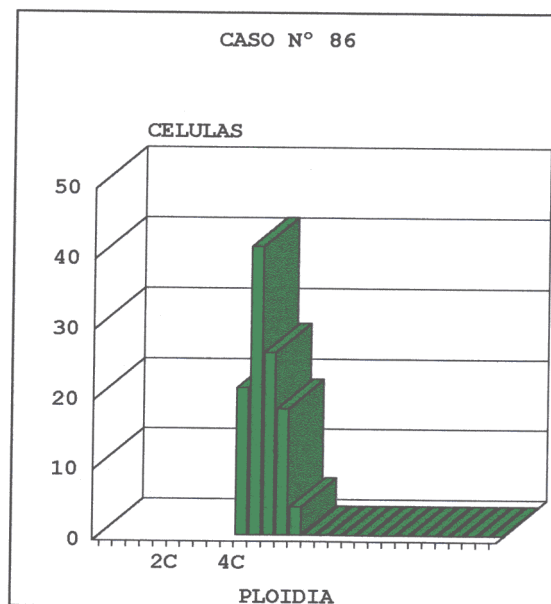
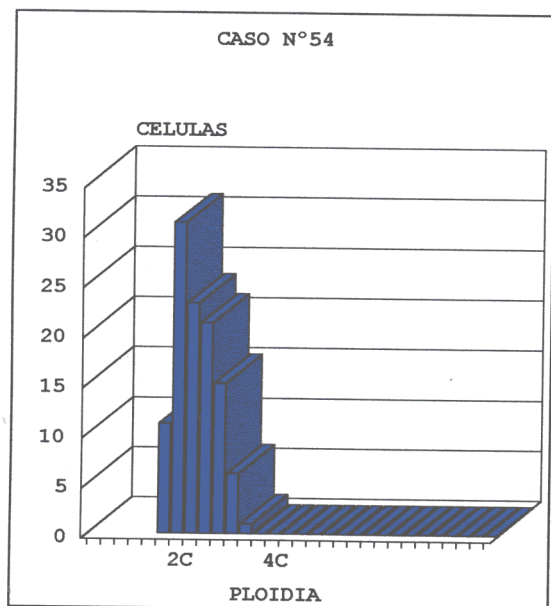
PACIENTE: A.T.P.**CASO N°54 .-**

Presenta en Septiembre de 1991 un adenofibroma con características de total normalidad y 6 meses más tarde, en Marzo de 1992 aparece en la misma localización un carcinoma de alto grado de malignidad de ADN y con la misma impresión para el frotis citológico, ver el histograma del caso N° 86.

Las características de la cuantificación del Adenofibroma previo, muestran una ploidía de 1.99 con aspecto claramente diploide y una sola célula en fase "S".

El coeficiente de variación (cv) es de 9.12 y las fases celulares muestran un 99.07 % de células en fase "G0-G1", un 0.925 en fase "S" y sin existir células en fase "G2M".

El análisis de este histograma nos muestra una cierta actividad celular, pero siempre dentro de la más absoluta normalidad, ya que la existencia de una célula en fase "S" nunca nos puede hacer pensar en actividad neoplásica, ver el histograma del caso N°54.



PACIENTE: B.E.A.

CASO N°.- No hay cuantificación de la patología benigna.

Debutó como una zona de mayor densidad, no sospechosa clínicamente, en L.M. de CC. EE. de M.I. en la que al hacer un estudio radiológico se sospechó la posible existencia de un comedo carcinoma o un ca. in situ y aconsejaba la punción. El resultado de la misma fue el hallazgo de un adenofibroma de moderada actividad, pero con frotis no apto para el estudio de ADN. Siete meses más tarde apareció un carcinoma de bajo grado de ADN en la misma localización y que citológicamente se diagnosticó como sugestivo de carcinoma en base a lo discreto de sus alteraciones celulares. Como antecedente familiar de interés consta la existencia de una madre que vive con cáncer de mama desde hace 11 años, en el momento de hacer esta historia, en 1995.

Transcribimos el diagnóstico del estudio anatomopatológico:

“Fragmento de parénquima mamario con:

Enfermedad hiperplásica:

-Fibrosis, adenosis y dilatación de conductos.

-Hiperplasia fibroadenomatoides.

-Hiperplasia epitelial de conductos terminales, pura y de patrón micropapilar.

-Numerosas microcalcificaciones intraluminales en todo el fragmento, más numerosas en un área de 1 mm. en una unidad lobulillar ductal terminal.

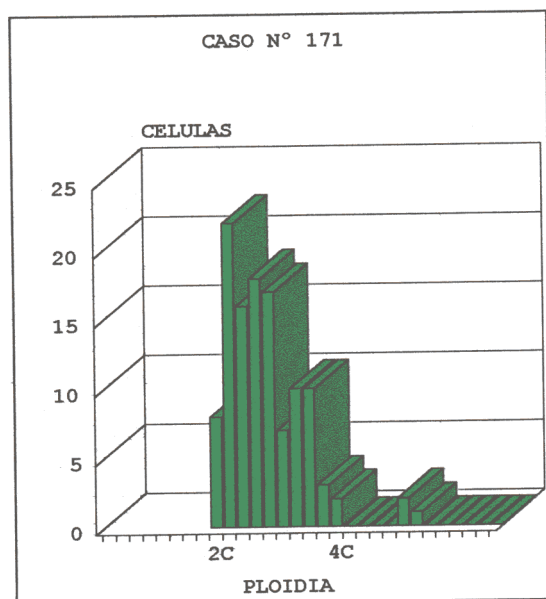
-Un foco de 400 micras de Hiperplasia epitelial atípica que no alcanza extremos quirúrgicos.

Nota.- Para algunos autores la hiperplasia epitelial atípica de patrón cribiforme observada en esta paciente sería diagnosticada como carcinoma intraductal, mientras que para otros como Tavasoli, se mantiene el término de Hiperplasia epitelial atípica hasta 2 mm., en cuyo caso se denominaría Carcinoma intraductal.

Por ello se aconseja el seguimiento de esta paciente como un Carcinoma intraductal próximo a extremos quirúrgicos pero que no los alcanza.”

El histograma del caso N°171 muestra una ploidía de 2.21, es decir, diploide, con un CV de 8.46 y los valores de las fases celulares son los siguientes: G0-G1 = 55.17; S = 42.24; G2M = 2.586. El porcentaje de células por encima de 5c es de 3 y el valor de la Entropía de 3.190.

Siguiendo nuestro parámetros estos valores clasifican el tumor como de escasa a moderada agresividad y bajo grado de malignidad.



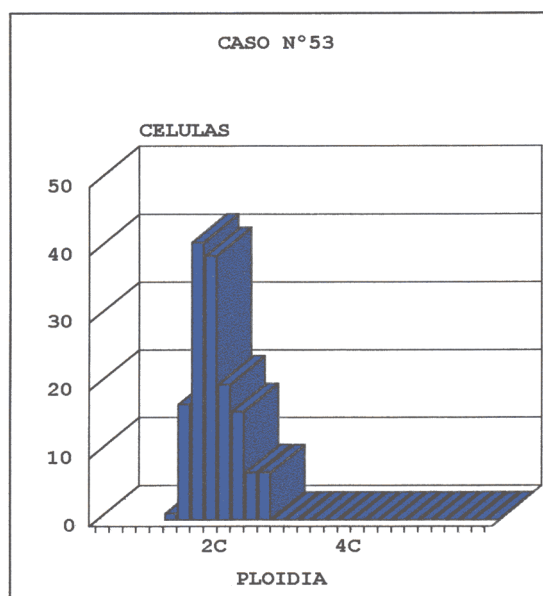
A pesar de su neta diploidía vemos, por una parte una elevación muy marcada de su fase “S” y “G2M”, con valores que no encontramos nunca en los tumores benignos y por otra, un 3% de células aneuploides que tampoco encontramos en éstos.

Consideramos que casos como este llegan al límite de nuestro concepto de diagnóstico precoz, ya que existe una sospecha citológica y radiológica, pero nos enseñan a discriminar los casos límite en los que puede existir sólo una alteración a nivel de la ploidía.

PACIENTE: G.C.I.**CASO N°.- 53**

En Febrero de 1985 aparece una mastopatía fibroquística simple en el C.I.E. de mama izquierda, **caso N°53**, y cinco años más tarde, en Abril de 1990, aparece un carcinoma de poca actividad en la citología, pero en el que no se pudo efectuar cuantificación de ADN.

La cuantificación de ADN del tumor benigno previo muestra un histograma diploide, con una ploidía de 1.81, un CV de 5.48 y todas las células en fase G0-G1.



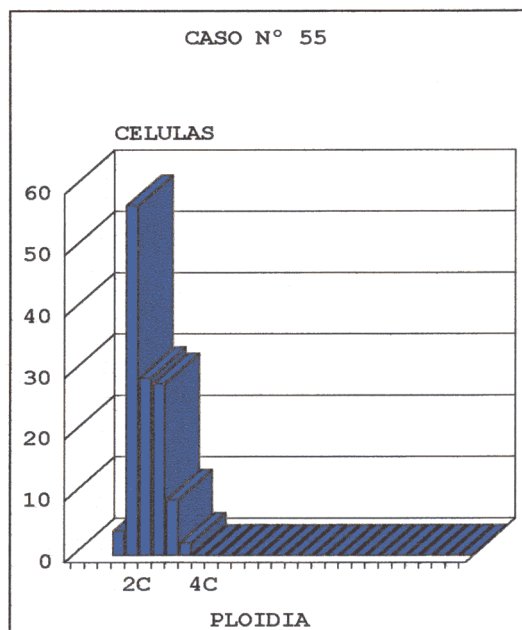
A la vista del histograma no podemos sospechar la evolución hacia un carcinoma.

PACIENTE: G.F.E.**CASO N°.- 55**

En Enero de 1992 aparece en el C.S.I. de M.I. un carcinoma de alto grado de ADN, en el límite con el bajo grado, sin patología previa. Las características de la citología muestran un carcinoma con escasas atipias.

Un año más tarde en Enero de 1993 aparece en CC. INTERNOS de M.I. un adenofibroma de escasa actividad citológica, no apto para cuantificación. En la misma fecha se observa también una tumoración con las mismas características citológicas en C.S.E. de M.D.

En Abril de 1994 aparece una nueva tumoración o una evolución de la ya conocida en C.S.E. de M.D. que presenta características de mastopatía fibroquística de moderada actividad, **caso N°55**; en este caso podemos proceder a su cuantificación y encontramos un tumor claramente diploide, con una ploidía de 2.03 y un C.V. de 8.49. El estudio de las fases celulares muestra un 91.47 % de células en fase "G0-G1", 8.527 % en fase "S" y sin existir en fase "G2M".



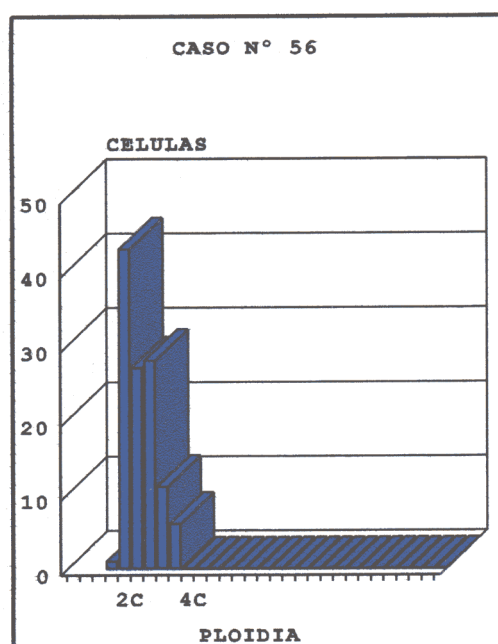
El estudio de estos datos nos sugiere que aun con un tumor claramente diploide coexiste un considerable porcentaje de células en fase de síntesis de ADN, por lo que creemos lícito pensar que debe ser controlada esta paciente, aun cuando no tengamos base para sospechar una clara evolución hacia la malignidad al no existir clones aneuploides.

El seguimiento de esta paciente nos demuestra que en Junio de 1998 vive sana, en tratamiento con Tamoxifeno y sin recidivas.

PACIENTE: M.G.P.

CASO N°.-56

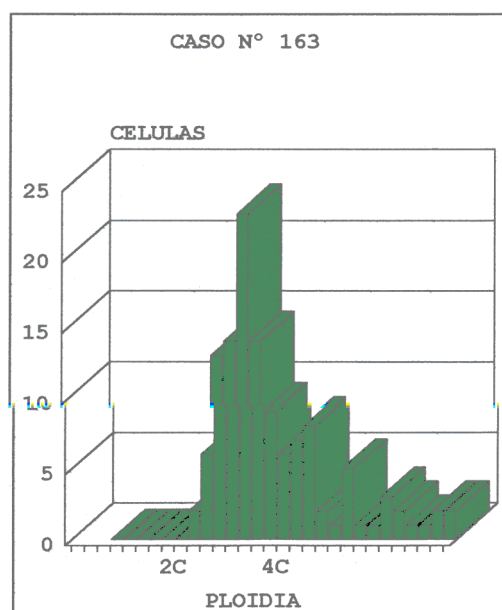
En Febrero de 1995 aparece un tumor RETROAREOLAR en M.D. El diagnóstico citológico fue de mastopatía fibroquística sin características remarcables, **caso N°56**.



El estudio de ADN nos muestra un tumor diploide, con una ploidía de 1.97 y un C.V. de 12.3. El estudio de las fases celulares muestra un 100% de células en fase “G0-G1”.

Las características descritas no pudieron hacer pensar en la aparición, 2 meses más tarde, de un carcinoma de alto grado de malignidad por ADN, como se observa en el **caso N°163**, en la misma localización y coexistiendo

con zonas de mastopatía benigna. Las características citológicas sugieren también un alto grado.

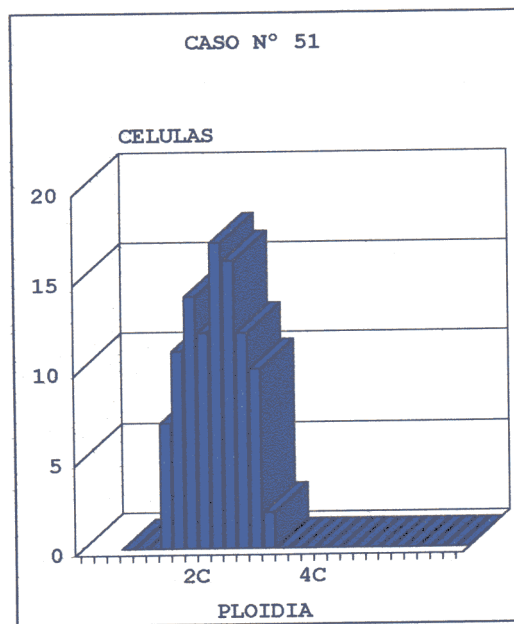


Pensamos que, o bien el carcinoma se ha desarrollado posteriormente a la primera punción y ha evolucionado rápidamente por sus características de alto grado de malignidad, dado que la radiología en este tumor fue también de benignidad, o bien ha habido un falso negativo de ambas técnicas. Pudiera haber existido una pequeña zona de carcinoma que no dio manifestaciones ni citológicas ni radiológicas. No obstante la revisión de ambas pruebas con el conocimiento de la evolución posterior no modifica la primera impresión diagnóstica.

PACIENTE: P.R.I.**CASO N°.-51 Y 52**

En Junio de 1990 aparecen simultáneamente sendas tumoraciones, una en C.S.E. de M.D. y otra en L.M. de CC.SS. de M.I. En ambos casos el diagnóstico es de adenofibroma, así como la revisión posterior.

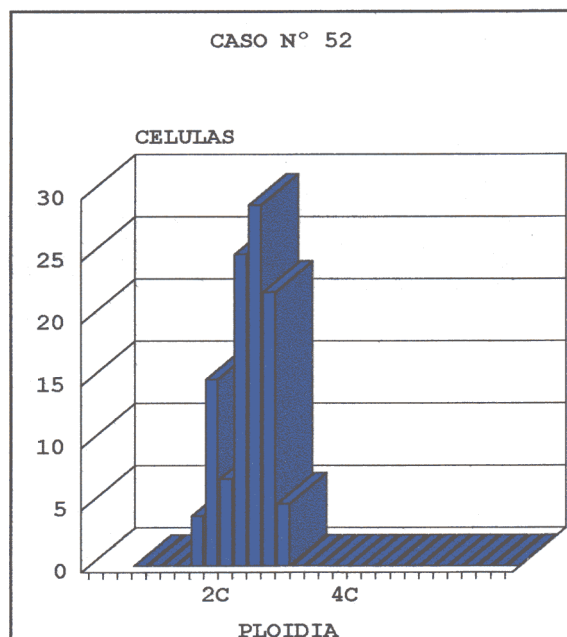
El histograma correspondiente a la M.D., caso N°51, muestra una ploidía de 2.45 con todas las células en fase "GO-G1".



La expansión del histograma es superior a lo habitualmente encontrado, así como su entropía, que alcanza un valor de 3.037, cifras que concuerdan con su ploidía ligeramente elevada. Sin embargo, vemos como también el CV es elevado, de 14.4, lo que nos indica una cierta dificultad en la selección de las

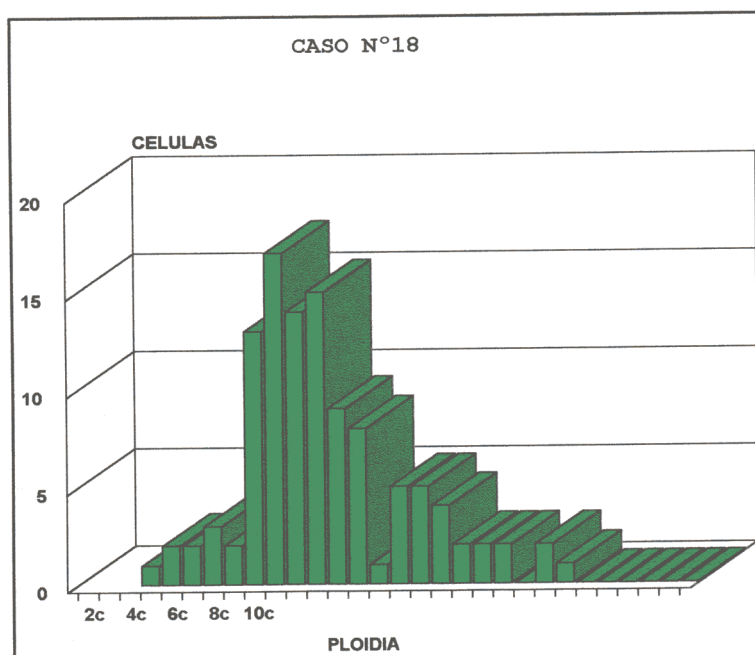
células y en general en el proceso de cuantificación. De cualquier forma el hecho de que todas las células se encuentren en reposo nos deja tranquilos en cuanto a la actividad del tumor y desde luego no se puede pensar en sospechas remotas de carcinoma.

En cuanto a la mama izquierda, **caso N°52**, encontramos una situación parecida a la anterior. Un histograma desviado del puramente diploide, pero sin poderse considerar tampoco triploide, con una ploidía de 2.68; algo expandido, pero con un valor de entropía de 2.508, menor que en el caso precedente y como en éste, todas las células en la fase “G0-G1”. El CV es de 5.76 por lo que aparentemente no han existido problemas a la hora de la captación de células.



En resumen podemos concluir en ambos casos que se trata de tumores diploides, tal vez en la llamada región “near” diploide, pero sin mayor actividad ni sospecha.

Sin embargo, cinco meses mas tarde, en Noviembre de 1990, aparece un tumor de alto grado de malignidad por ADN, **caso N°18**, con marcadas atípías celulares en la citología, en la misma localización de M.D. que el caso previamente expuesto.

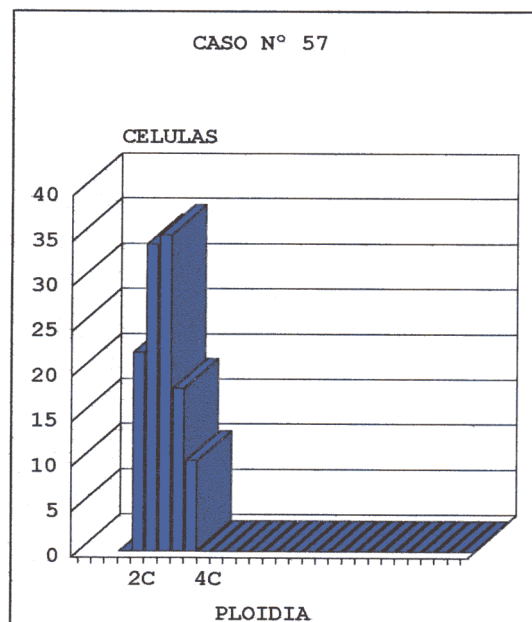


Pensamos que sin aviso previo se ha desarrollado un carcinoma.

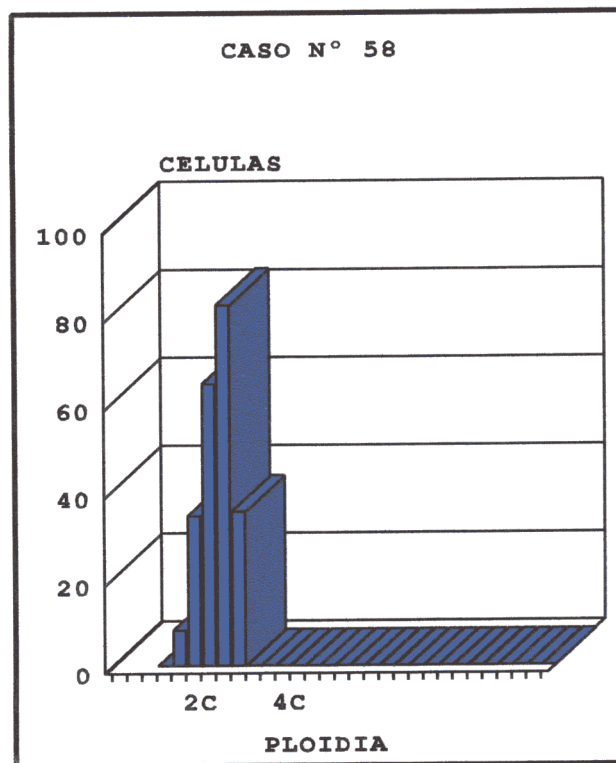
PACIENTE: P.A.A.**CASO N°.-57 Y 58**

En febrero de 1996 presenta un carcinoma con escasas atipias en la citología y de bajo grado de malignidad de ADN, se localizaba en C.S.E. de M.D. Previamente estaba siendo controlada de un tumor benigno, con diagnóstico de adenofibroma en M.I. Este mismo tumor ha sido controlado posteriormente hasta la actualidad conservando las mismas características citológicas.

Aun no habiendo existido patología previa homolateral, merece la pena comentar los histogramas del tumor contralateral siempre benigno.



El correspondiente a Noviembre de 1995, **caso N°57**, presenta una ploidía de 2.72 con un CV de 12.5 y todas sus células en fase “G0-G1”. El pico máximo de ploidía está mas cerca de la región 3c que de la 2c, en la zona del borde entre 2.25 y 2.75, con un histograma poco expandido y una entropía de 2.198. Creemos que aunque con ciertas reservas podemos considerarlo diploide. De cualquier manera di ó triploide no se afectaría su caracter de benignidad.



El histograma del mismo tumor , pero tres años más tarde, en Diciembre de 1997, **caso N°58**, que conserva el mismo aspecto citológico, muestra un aspecto prácticamente igual al anterior con una ploidía de 2.69 con un CV de

6.43 y todas sus células en fase "G0-G1". El pico máximo de ploidía está mas cerca de la región 3c que de la 2c, en la zona del borde entre 2.25 y 2.75, con un histograma poco expandido y una entropía de 2.053.

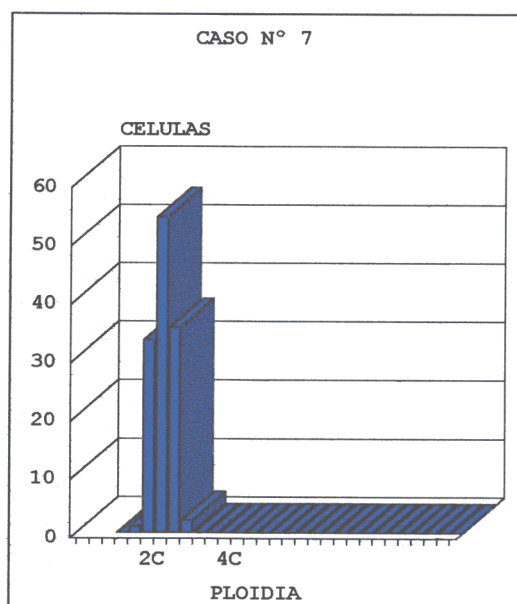
A pesar de haber pasado tres años, de tener una historia de carcinoma previo y de haber tenido un histograma que por su ploidía podía habernos inquietado, vemos que la evolución es benigna y que sus características en cuanto al ADN se mantienen igual. Estos datos nos hacen pensar que un aumento de la ploidía, sin llegar a una aneuploidía, manteniendo el resto de parámetros normales no parece tener un significado especial en cuanto a la evolución a la malignidad.

PACIENTE: Z.F.T.

CASO N°.-7

En Febrero de 1994 aparece un tumor en C.S.E. de M.D. que es diagnosticado citológicamente como adenofibroma. Los frotis no reúnen las condiciones mínimas necesarias para la cuantificación de ADN. En la misma fecha se estudia también un tumor en la misma localización de la mama contralateral, con un diagnóstico de mastopatía fibroquística de moderada actividad en el que sí podemos efectuar estudio de ADN, **caso N°7**.

Un año más tarde aparece un carcinoma en la misma región de la mama derecha, es decir en la que existía un diagnóstico de adenofibroma sin características especiales. La impresión citológica es de escasas atipias y le corresponde un bajo grado para el ADN.



El histograma muestra una ploidía de 2.30 con un 100% de células en fase "G0-G1" y un aspecto totalmente diploide, a pesar de la apariencia citológica de una cierta actividad.

V.- CONCLUSIONES

V.- CONCLUSIONES

1.- Las células benignas con transformación apocrina de las mastopatías fibroquísticas son **tetraploides**.

2.- **No creemos** que la mastopatía fibroquística pueda considerarse como precursora del carcinoma.

3.- En las pacientes que han desarrollado un carcinoma y que a su vez han presentado patología benigna asociada encontramos, en algunos de esos tumores, una **actividad celular muy superior** a la normal, con un valor elevado de sus fases “S”, pero sin existir células aneuploides, por lo que pensamos que éstos casos deben ser considerados como de **alto riesgo**.

4.- Pensamos que los posibles factores que han determinado la aparición de un carcinoma **actúan antes y después** de la extirpación de éste y son los causantes de éste aumento de fases “S”.

5.- Creemos que la cuantificación de ADN en mastopatías fibroquísticas que presentan una mayor actividad en la citología es un sistema necesario para **seleccionar** aquellos casos en los que su ploidía o fase “S” nos induzcan a pensar en una tendencia a la malignización.

6.- La existencia de **células ductales por encima de 5c** nos indicaría la existencia real de un carcinoma aun cuando el aspecto morfológico todavía no lo evidencie.

VI.- BIBLIOGRAFIA

VI.- BIBLIOGRAFIA

1. Alanen KA et al. Image cytometry of breast carcinomas that are DNA diploid by flow cytometry. Time to revise the concept of DNA diploidy? Anal Quant Cytol Histol. 1998 Jun; 20(3): 178-86.
2. Albe X., Dieterich B., Vassilakos P. et al. ICM-DNA ploidy and S-phase estimate as prognostic indicators in primary breast cancer: a prospective study. Anal. Quant. Cytol. Histol. 1996;18(1):47.
3. Albers DD MJTGJ. Carcinoma cells in prostatic secretions. J. Amer. Med. Ass. 1949;139:299-302.
4. Alderson MR, Hamlin I, Staunton MD. The relative significance of prognostic factors in breast carcinoma. Br J Cancer 1971 Dec;25(4):646-56.
5. Anderson HA MJOAM. Cytologic diagnosis of the esofagus and cardia of the stomach. Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic 1949;24(245).

6. Atkin N.B. Cytophotometric DNA determination correlated to karyotype, particularly in cancer. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1987;9(2):96-105.
7. Atkin N.B. Modal deoxyribonucleic acid value and survival in carcinoma of the breast. *Br. Med. J.* 1972;1:271-2.
8. Atkin N.B. Nuclear size in carcinoma of the cervix: its relation to DNA content and to prognosis. *Cancer* 1964;17:1391.
9. Aubele M, Auer G, Falkmer U, Voss A, Rodenacker K, Jutting U, Hofler H. Identification of a low-risk group of stage I breast cancer patients by cytometrically assessed DNA and nuclear texture parameters. *J Pathol* 1995 Dec;177(4):377-84.
10. Aubele M, Auer G, Falkmer U, Voss A, Rodenacker K, Rutquist LE, Hofler H. Improved prognostication in small (pT1) breast cancers by image cytometry. *Breast Cancer Res Treat* 1995;36(1):83-91.
11. Aubele M., Burger G., Rodenacker K. Problems concerning quality of Feulgen DNA measurements: A study on five different fixation techniques. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1994;16:226-32.

12. Auer G., Askensten U., Erhardt K., Fallenius A., Zetterberg A. Comparison between slide and flow cytophotometric DNA measurements in breast tumors. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1987;9(2):138-46.
13. Auer G., Backdahl M., Forsslund G.M., Askensten U.G. Ploidy levels in nonneoplastic and neoplastic thyroid cells. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1985;7(2):97-105.
14. Auer G., Caspersson T., Gustafsson S., et al. Relationship between nuclear DNA distribution and estrogen receptors in human mammary carcinomas. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1980;2(4):280-5.
15. Auer G., Caspersson T., Wallgren A. DNA content and survival in mammary carcinoma. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1980;2(3):161-5.
16. Auer G., Eriksson E., Azevedo E. et al. Prognostic significance of nuclear DNA content in mammary adenocarcinomas in humans. *Cancer Res.* 1984;44:394-6.
17. Auer G., Falkmer., Zetterberg A. Image cytometric nuclear DNA analysis in clinical tumour material. En: Baak, J.P.A. *Quantitative Pathology in*

Cancer Diagnosis and Prognosis. Berlín: Heidelberg, Springer-Verlag
Ed. 1991:213-31.

18. Auer G., Fallenius A., Erhardt K., Sundelin B. Progression off mammary adenocarcinomas as reflected by nuclear DNA content. *Cytometry* 1984;5:420-5.
19. Auer G., Zetterberg A. The prognostic significance of nuclear DNA content in malignant tumors of breast, prostate and cartilage. En *Advances in Clinical Cytology*. Edited by LG Koss, DV Coleman. Second Volume. New York, Masson Publishing USA 1984;2:123-34.
20. Auffermann W., Repges R., Böcking A. Rapid diagnostic DNA cytometry with an automatic microscope and TV image-analisis system. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1984;6:179-88.
21. Ayre JE. Diagnosis of the carcinoma of the rectum by cytology. *Amer. J. Surg.* 1950;80:316-7.
22. Azúa J. *Citología por punción aspiración con aguja fina*. Salvat Editores 1987.

-
23. Azúa J. Diagnóstico citológico en patología mamaria. Ed. Expaxs 1976.
 24. Azúa J. Valoración de la Espermatogénesis mediante Punción Citológica con Aguja Fina. Actas. Urol. Esp. 1980;4(6):321-24.
 25. Azua J et al. DNA quantification as a prognostic factor in gastric adenocarcinoma. Anal Quant Cytol Histol. 1998 Jun; 20(3): 221-4.
 26. Azúa J., Gómez Aracil V., Elizalde A., Bayo A. Citología del Testículo por Punción-aspiración con Aguja Fina. Citología 1981;2:87-93.
 27. Azúa J., Romeo P., España R., Lostalé F., Gómez Aracil V., Romero J. Análisis morfométrico en patología mamaria obtenida por punción aspiración con aguja fina. Citología 1988;10(1):21-8.
 28. Azúa J., Romeo P., España R., Rubio Aranda E. Análisis morfométrico cuantitativo de patología tiroidea obtenida por punción aspiración con aguja fina. Citología 1989;11(1):7-15.
 29. Azúa J., Romeo P., Serrano M. Estudio comparativo entre el área nuclear media y cuantificación de ADN en el cáncer de mama. Patología

1995;28:141-5.

30. Azúa J., Romeo P., Serrano M., Martínez Tello D. Cuantificación de ADN como factor pronóstico en el cáncer de mama. *Patología* 1995;28:133-40.
31. Azua J, Romeo P, Serrano M, Martinez Tello D, Azua J Jr. Prognostic value from DNA quantification by static cytometry in breast cancer. *Anal Quant Cytol Histol* 1997 Feb;19(1):80-6.
32. Azúa J., Romeo P., Valle J. Relación entre la cuantificación de ADN y área nuclear media en el adenocarcinoma de próstata. *Patología* 1996;29:99-103.
33. Azúa J., Valle J., Romeo P. Grado de diferenciación citológica e índice de malignidad por ADN en el adenocarcinoma de próstata. *Patología* 1996;29(1):21-6.
34. Baak J. *Manual of Quantitative Pathology in Cancer Diagnosis and Prognosis*. Ed. Springer-Verlag 1991.

-
35. Baak J. The principles and advantages of quantitative pathology. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1987;9(2):86-96.
 36. Baak J., Chin D., van Diest P., Ortiz R., Matze Cok P., Bacus S. Comparative long-term prognostic value of quantitative HER-2/neu protein expression, DNA ploidy, and morphometric and clinical features. *Lab. Invest.* 1991;64(2):215-23.
 37. Baak J., Makkink S., Tekola P., Bergers E., Belien J., Van Ginkel A. Quantitative microscopical and confocal laser scanning microscopy for intermediate endpoint biomarkers in breast cancer: potential and reproducibility. *J. Cell. Biochem. Suppl.* 1993;17G:98-106.
 38. Baak J., Van Dop H., Kurver P., Hermans J. The value of morphometry to classic prognosticators in breast cancer. *Cancer* 1985;56:374-82.
 39. Bach BA, Knape WA, Edinger MG, Tubbs RR. Improved sensitivity and resolution in the flow cytometric DNA analysis of human solid tumor specimens. Use of in vitro fine-needle aspiration and uniform staining reagents. *Am J Clin Pathol* 1991 Nov;96(5):615-27.

40. Baldetorp B, Ferno M, Bendahl PO, Fallenius G, Idvall I, Akerman M, Killander D. Proliferative index obtained by DNA image cytometry. Does it add prognostic information in Auer IV breast cancer? *Anal Quant Cytol Histol* 1998 Apr;20(2):144-52.

41. Baldetorp B, Ferno M, Fallenius A, Fallenius Vecchi G, Idvall I, Olsson H, Sigurdsson H, Akerman M, Killander D. Image cytometric DNA analysis in human breast cancer analysis may add prognostic information in diploid cases with low S-phase fraction by flow cytometry. *Cytometry* 1992;13(6):577-85.

42. Bartels PH BGWGL. Cell recognition from line scan transition probability profiles. *Acta Cytol.* 1969;13:210-7.

43. Bauer K.D., Lincoln S.T., Vera Roman J.M. et al. Prognostic implications of proliferative activity and ADN aneuploidy in colonic adenocarcinomas. *Lab. Invest.* 1987;57:329-35.

44. Bauer TW, Tubbs RR, Edinger MG, Suit PF, Gephardt GN, Levin HS. A prospective comparison of DNA quantitation by image and flow cytometry. *Am J Clin Pathol* 1990 Mar;93(3):322-6.

-
45. Bengtsson E. The measuring of cell features. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1987;9(3):212-8.
 46. Betschardt E. Ueber die diagnose maligner lungentumoren aus dem sputum. *Virchows Arch. F. Pat. Anat.* 1895;142:86-100.
 47. Bibbo M. Ploidy levels in nonneoplastic and neoplastic cells: commentary. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1985;7(2):106.
 48. Bibbo M., Bartels P.H., Dytch H.E., Wied G.L. "Cell Image Analysis" en *Comprehensive Cytopathology*; Bibbo M.. Ed. Saunders Company 1991:965-83.
 49. Bibbo M., Bartels P.H., Dytch H.E., Wied G.L. Ploidy measurements by high-resolution cytometry. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1985;7(2):81-9.
 50. Bibbo M., Dytch H.E., Alenghat E., Bartels P.H., Wied G.L. Dna ploidy profiles as prognostic indicators in CIN lesions. *Am. J. Clin. Pathol.* 1989;92:261-5.
 51. Black MM, Modan B, Lubin F, Triffleman E, Cuckle H, Rosen N, Kwon

CS, Peretz M, Alfandary E. A nationwide study of breast disease.
Cancer 1988 Jun 15;61(12):2547-51.

52. Bloom HJG RW. Histologic grading and prognosis in breast cancer.
1957;11:359-377.
53. Bloom W, Fawcett W. Tratado de Histología. 7ª ed.: Editorial Lobar; 1957.
54. Böcking A. "DNA measurements: When and Why?" en Compendium on
Quality Assurance, Proficiency testing and Workload Limitations in
clinical Cytology. Wied G.L., Keebler C.M., Rosenthal D.L., Schenck
U., Somrak T.M., Vooijs G.P. Ed. Tutorials of Cytology. Chicago,
Illinois, USA 1995:170-88.
55. Böcking A., Adler C., Commom H., Hilgarth M., Granzen B. DNA-
Cytophotometric diagnosis and grading of malignancy. Anal. Quant.
Cytol. Histol. 1984;6(1):1-8.
56. Böcking A., Auffermann W. Algorithm for DNA-cytophotometric diagnosis
and grading of malignancy. Anal. Quant. Cytol. Histol. 1986;8(4):383.

-
57. Böcking A, Chatelain R. Diagnostic and prognostic value of DNA cytometry in gynecologic cytology. *Anal Quant Cytol Histol* 1989 Jun;11(3):177-86.
58. Böcking A., Chatelain R., Biesterfeld S. et al. DNA grading of malignancy in breast cancer. Prognostic validity, reproducibility and comparison with other classifications. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1989;11(2):73-80.
59. Böcking A., Chatelain R., Homge M., Daniel R., Gillissen A., Wohltmann D. Representativity and reproducibility of DNA malignancy grading in different carcinomas. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1989;11(2):81-7.
60. Böcking A., Hardisson D., Sampedro A. Citometría de ADN y automatización en el diagnóstico clínico. *Patología* 1990;23(4):243-8.
61. Bogatyrev VN, Ermilova VD, Petrova AS. [Laser flow cytofluorometry as a supplementary method of determining the degree of tumor differentiation in breast cancer patients]: Lazernaia protochnaia tsitofliuorimetriia kak dopolnitel'nyi metod opredeleniia stepeni differentsirovki opukholi u bol'nykh rakom molochnoi zhelezy. *Arkh*

Patol 1986;48(1):44-8.

62. Bohm N, Sandritter W. DNA in human tumors: a cytophotometric study. Curr Top Pathol 1975;60:151-219.
63. Boone CW, Kelloff GJ. Biomarker end-points in cancer chemoprevention trials. IARC Sci Publ 1997;(142):273-80.
64. Borgiani L, Cogorno P, Toso F, Gallo L, Buccaran G, Rovida S, Canepa M. Comparative DNA analysis of breast cancer by flow cytometry and image analysis. Pathologica 1994 Aug;86(4):356-9.
65. Borzenko BG. [Age-dependent characteristics of metabolism of DNA precursors in healthy women, patients with mastopathy and breast cancer]. Vopr Med Khim 1990 Sep-1990 Oct 31;36(5):58-61.
Original Title: Vozrastnye osobennosti metabolizma predshestvennikov DNK v organizme zdorovykh zhenshchin, bol'nykh mastopatiei i rakom molochnoi zhelezy.
66. Borzenko BG, Pamazan BO, Gorbachev IA, Verkhova OA, Skorobogatova ZM, Shvets TA. [Age-related changes in metabolism of DNA

precursors in patients with mastopathy]. Vopr Med Khim 1997 Jul-1997 Aug 31;43(4):267-71.

Original Title: Vozrastnye osobennosti metabolizma pedshestvennikov DNK u bol'nykh mastopatiei.

67. Boveri T. Ergebnisse über die konstitution der chromatischen substanz des zellkerns. J.E.N.A. 1904.
68. Brachet J. Localization and role of RNA in cell. Ann. New York Acad. Sc. 1950;50:861-9.
69. Brower ST, Tartter PI, Ahmed S, Brusco CM, Bossolt K, Hayden C, Bleiweiss I. Proliferative indices and oncoprotein expression in benign and malignant breast biopsies. Ann Surg Oncol 1995 Sep;2(5):416-23.
70. Caspersson T.O. History of the development of cytophotometry from 1935 to the present. Anal. Quant. Cytol. Histol. 1987;9:2-6.
71. Caspersson T.O. Quantitative tumor cytochemistry. Cancer Res. 1979;39:2341-55.

72. Caspersson T.O. Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkernes. Scand. Arch. Physiol. 1936;73:1-151.

73. Caspersson T.O., Auer G., Fallenius A. et al. Cytochemical changes in the nucleus during tumor development. Histochem J. 1983;15:337-62.

74. Caspersson TO. Cell growth and cell function. A cytochemical study. New York: WW Norton Company; 1950.

75. Caspersson TO S. Studies on protein metabolism in the cells of epithelial tumours. Acta Radiol. 1942;suppl. 46.

76. Castro V., García C., Salido E., Martín Herrera A.I. Factores pronósticos en el carcinoma mamario: contenido en ADN y parámetros biológicos. Patología 1993;26(1)Sup:7.

77. Claud RD 3d, Weinstein RS, Howeedy A, Straus AK, Coon JS. Comparison of image analysis of imprints with flow cytometry for DNA analysis of solid tumors. Mod Pathol 1989 Sep;2(5):463-7.

78. Cohen C. Image cytometric analysis in pathology. Hum Pathol 1996

May;27(5):482-93.

79. Cohen C., Walker B., Solomon A., DeRose P. DNA ploidy and cell cycle analysis in ear malignant melanoma by flow and image cytometry. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1992;14(2):81-8.
80. Contesso G, Bertin F, Terrier P, Petit JY, Le M. [What is "mastopathy at risk" for the anatomopathologist?]. *Rev Fr Gynecol Obstet* 1991 Jan;86(1):9-12.
Original Title: Qu'est-ce qu'une "mastopathie a risque" pour l'anatomopathologiste?
81. Cope C., Rowe D., Delbridge L., Philips J., Friedlander M. Comparison of image analysis and flow cytometric determination of cellular DNA content. *J. Clin. Pathol.* 1991;44(2):147-51.
82. Cornelisse C.J., Tanke H.J. "Flow Cytometry" en *Comprehensive Cytopathology*; Bibbo M.. Ed. Saunders Company 1991:984-1010.
83. Cornelisse C., Koning H., Moolenaar A., Van de Velde C., Ploem J. Image and flow cytometric analysis of DNA content in breast cancer.

Relation to estrogen receptor content and lymph node involvement.
Anal. Quant. Cytol. Histol. 1984;6(1):9-18.

84. Cornelisse C., Van de Velde C., Caspers R., Moolenaar A., Hermans J.
DNA ploidy and survival in breast cancer patients. Cytometry
1987;8:225-34.
85. Cornelisse C., Van Driel-Kulher A. Dna image cytometry on machine-
selected breast cancer cells and a comparison between flow cytometry
and scanning cytophotometry. Cytometry 1984;6:471-7.
86. Cottran R, Kumar V. R. SL. Patología Estructural y Funcional 4 ed.:
Interamericana Mc Graw-Hill; 1990.
87. Crissman JD, Visscher DW, Kubus J. Image cytophotometric DNA analysis
of atypical hyperplasias and intraductal carcinomas of the breast. Arch
Pathol Lab Med 1990 Dec;114(12):1249-53.
88. Charpin C., Andrac L., Lavaut M. et al. Image cytometry of aneuploidy,
growth fraction (MoAb Ki-67) and hormone receptors (ER, PR)
immunocytochemical assays in breast carcinomas. Anal. Cell. Pathol.

1990;2(6):357-71.

89. Chute R WDW. Experiences with stained smears of cells exfoliated in the urine, in the diagnosis of cancer in the genitourinary tract. A preliminary report. *J. Urol.* 1948;59:604.
90. Dahlquist B., Bengtsson E., Eriksson O., Jarkrans, Nordin B., Stenkvist B. A program for logistic prediction modelling. *Comp. Prog. Biomed.* 1985;19:235-8.
91. Davey DD, Banks ER, Jennings D, Powell DE. Comparison of nuclear grade and DNA cytometry in breast carcinoma aspirates to histologic grade in excised cancers. *Am J Clin Pathol* 1993 Jun;99(6):708-13.
92. Davidson EH AVMAE. Gene expression in differentiated cells. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 1963;49(1):53.
93. Davies HG BRDJF. Quantitative method for enzyme cytochemistry applied to alkaline phosphatase. *Nature. London* 1954;173:1234-5.
94. Dawson AE, Norton JA, Weinberg DS. Comparative assessment of

proliferation and DNA content in breast carcinoma by image analysis and flow cytometry. *Am J Pathol* 1990 May;136(5):1115-24.

95. De Agustín F yc. Diagnóstico citológico en el cáncer de pulmón. 1982;15,3: 237-241.
96. De Agustín P. LFPBAABJ. Citología por punción aspiración con aguja fina de riñón: nuestra experiencia en 105 casos. *Citología* 1987;9(1):1-9.
97. Dieterich B, Albe X, Vassilakos P, Wieser S, Friedrich R, Krauer F. The prognostic value of DNA ploidy and S-phase estimate in primary breast cancer: a prospective study. *Int J Cancer* 1995 Sep 27;63(1):49-54.
98. Donné A. *Cours de microscopie complementaire des etudes medicales*. Bailliere Et Fills. Paris 1845.
99. Dyson BC RWT. Correlation of radiosensitivity testing with therapeutic outcome in cervical carcinoma. *Amer. J. Obst. Gynec.* 1963;86(2):200.

-
100. Dytch H.E., Bibbo M., Bartels P., Puls J., Wied G. An interactive microcomputer-based system for the quantitative analysis of stratified tissue sections. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1987;9(1):69-79.
 101. Dytch H.E., Bibbo M., Bartels P., Wied G. Computer graphics in cytologic and pathologic microscopy: tools for the clinician and research. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1986;8(2):81-9.
 102. Dytch H.E., Bibbo M., Puls J., Bartels P., Wied G. Software design for an inexpensive, practical, microcomputer-based DNA cytometry system. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1986;8(1):8-19.
 103. Erhardt K., Auer G. Mammary carcinoma: Comparison of nuclear DNA content from in situ and infiltrative components. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1987;9:263-7.
 104. Erhardt K., Auer G., Fallenius A. et al. Prognostic significance of nuclear DNA analysis in histological sections in mammary carcinoma. *Am. J. Clin. Oncol.* 1986;9:117-25.
 105. Fabian CJ, Zalles C, Kamel S, Kimler BF, McKittrick R, Tranin AS, Zeiger

S, Moore WP, Hassanein RS, Simon C, et al. Prevalence of aneuploidy, overexpressed ER, and overexpressed EGFR in random breast aspirates of women at high and low risk for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1994;30(3):263-74.

106. Falkmer UG, Hagmar T, Auer G. Efficacy of combined image and flow cytometric DNA assessments in human breast cancer: a methodological study based on a routine histopathological material of 2024 excised tumour specimens. *Anal Cell Pathol* 1990 Sep;2(5):297-312.
107. Fallenius A. DNA content and prognosis in breast cancer. Thesis, Stockholm. 1986.
108. Fallenius A., Askensten U., Skoog L., Auer G. The reliability of microspectrophotometric and flow cytometric nuclear DNA measurements in adenocarcinomas of the breast. *Cytometry* 1986;8:260-6.
109. Fallenius A., Franzen S., Auer G. Predictive value of nuclear DNA content in breast cancer in relation to clinical and morphological factors.

- Cancer 1988;62:521-30.
110. Faranda A, Costa A, Canova S, Abolafio G, Silvestrini R. Image and flow cytometric analyses of DNA content in human solid tumors. A comparative study. *Anal Quant Cytol Histol* 1997 Aug;19(4):338-44.
 111. Fernandez Cid y cols. Citología cervico-vaginal, endometrial y de mama. 1976;19,5: 479-488.
 112. Ferrer O, Ballester E, Martin J.A. Morphometric, densitometric and flow cytometric criteria for the automated classification of thyroid lesions. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1990;12(1).
 113. Ferrer Roca O. Olga'scan. Software de análisis textural con aplicaciones citológicas. II. Receptores estrogénicos. *Citología* 1989;11(2):129-36.
 114. Ferrer Roca O., Fragoso R.M., Dorta J., Espejo E. Indices pronósticos en el cáncer de mama. Detección de los grupos de alto riesgo. Cátedra de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de La Laguna. Tenerife. Canarias. *Patología* 1991;24:193-9.

115. Feulgen R., Rossenbeck H. Mikroskopischchemischer nachweis einer nukleinsäure vom typus der thymonukleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen präparaten. Z. Physiol. Chem. 1924;125:203-48.
116. Fisher E., Siderits R. Value of cytometric analysis for distinction of intraductal carcinoma of the breast. Breast Cancer Res. Treat. 1992;21(3):165-72.
117. Fossa SD MPKOKOBOVS. Nuclear Feulgen DNA content and nuclear size in human breast carcinoma. Hum Pathol. 1982 Jul;13 (7): 626-630.
118. Franzen S., Giertz G., Zajicek J. Cytological diagnosis of prostatic tumors by transrectal aspiration biopsy: A preliminary report. Br J Urol 1960;32.
119. Friedrich K, Dimmer V, Haroske G, Meyer W, Theissig F, Kunze KD. Correlation between p53 status, DNA ploidy, proliferation rate and nuclear morphology in breast cancer. An image cytometric study. Anal Cell Pathol 1997;15(2):85-97.

-
120. García-Bonafe M., Albanell J., Bellmunt J., Molina I., Caragol I., Sole L.A.
Valor pronóstico de la ploidía; fase S y Her-2/neu en el cáncer de
mama sin adenopatías. *Patología* 1993;26(1)Sup:94.
 121. García Castro C., Alvarez Arguelles H., Salido E.C. Receptores de
estrógenos en carcinomas de mama. Correlación con características
histológicas y anatomodinámicas. *Patología* 1991;24(1):47-52.
 122. García Miralles M.T., Grande C. Importancia del grado de malignidad en la
práctica oncológica. Aspectos clínicos y anatomopatológicos.
Patología 1990;23(4):261-7.
 123. García Riego A. y c. Punción-biopsia aspiración pulmonar. Técnica.
Complicaciones y valor diagnóstico. 1984;81-2: 113-121.
 124. Gilchrist K.W., Gray R., Van Driel Kulker A.M. et al. High DNA content
and prognosis in lymph node positive breast cancer. A case control
study by the University of Leiden and ECOG. *Breast Cancer Res.*
Treat. 1993;28(1):1-8.
 125. Gill G.W., Frost J.K., Miller K.A. A new formula for a half-oxidized

hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. *Acta Cytol.* 1974;18(4):300-11.

126. Goldenberg VE, Goldenberg NS, Sommers SC. Comparative ultrastructure of atypical ductal hyperplasia, intraductal carcinoma, and infiltrating ductal carcinoma of the breast. *Cancer* 1969 Dec;24(6):1152-69.
127. Gonzalez Merlo J. y cols. Valor diagnóstico de punción en la patología mamaria. 1977;36, 404: 535-544.
128. Gonzalez Morales M.L., Furió Bacete V., Román Santamaría J.M., Aguilar Oliván M.A. Prognostic significance of static cytophotometric DNA analysis in invasive ductal breast cancer. *Patología* 1996;29(2):105-13.
129. Goud TM, Dwarakanath BS, Augustus M, Bhargava KM. Flow cytometry of breast tumors. Relevance to clinicopathology and survival. *Anal Quant Cytol Histol* 1995 Aug;17(4):265-71.
130. Grundmann E. Distribution of DNA in the cell nucleus. *Nature* 1961 Apr;22(4773):359-60.

-
131. Gurley A., Hidvegi D., Bacus J., Bacus S. Comparison of the Papanicolaou and Feulgen staining methods for DNA quantification by image analysis. *Cytometry* 1990;11(4):468-74.
132. Guski H, Freitag A, Hufnagl P, Voss K, Wenzelides K, Simon H. [Morphometric analysis of fibrocystic breast disease]: Morphometrische Analyse der fibrozystischen Mastopathie. *Zentralbl Allg Pathol* 1986;132(4):293-300.
133. Guski H, Hufnagl P, Freitag A, Wenzelides K, Voss K, Simon H. Automated histometry in fibrocystic breast disease. *Anal Quant Cytol Histol* 1988 Apr;10(2):101-6.
134. Guski H, Hufnagl P, Freitag A, Winzer KJ. [Automated microscopic image analysis and the prognosis of preneoplasms and carcinomas of the mammary gland]. *Gegenbaurs Morphol Jahrb* 1989;135(1):39-53.
Original Title: Automatisierte Mikroskopbildanalyse und Prognose von Praeneoplasien und Carcinomen der Brustdruse.
135. Guski H, Simon H, Freitag A, Wenzelides K, Hufnagl P, Winzer KJ, Wolff H, Buchholz J. [Clinical significance of histologic mastopathy

diagnosis using quantitative procedures]: Zur klinischen Bedeutung der histologischen Mastopathie-Diagnostik unter Anwendung quantitativer Verfahren. Zentralbl Chir 1986;111(15):907-14.

136. Haagensen CD. Disease of the Breast. 2^a ed. Philadelphia: WB Saunders; 1971.
137. Hahnel R, Woodings T, Vivian AB. Prognostic value of estrogen receptors in primary breast cancer. Cancer 1979 Aug;44(2):671-5.
138. Hammarberg C. SPTB. Early detection of malignancy in ulcerative colitis. A flow cytometric DNA study. Cancer 1984;53:291-5.
139. Hanseemann D. Über pathologische mitosen. Virchow's Arch. 1891;CXXIII:356.
140. Haroske G, Dimmer V, Meyer W, Kunze KD. DNA histogram interpretation based on statistical approaches. Anal Cell Pathol 1997;15(3):157-73.
141. Haroske G, Meyer W, Theissig F, Kunze KD. Increase of precision and accuracy of DNA cytometry by correcting diffraction and glare errors.

Anal Cell Pathol 1995 Jul;9(1):1-12.

142. Heiberg KA KT. Über die zahl der chromosomen in carcinomzellen beim menschen. Virchow's Arch. 1929;CCLXXIII:693.
143. Herbut PA LEN. Cancer cells in prostatic secretions. J. Urol. 1947;57:542.
144. Howard A., Pelc S.R. Nuclear incorporation of P32 as demonstrated by autoradiographs. Exp. Cell. Res. 1951;2:178-87.
145. Howard A., Pelc S.R. Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity 1953;6(suppl):261-73.
146. Jackson D SAO. Cytological study of nipple secretions. State J. Med. 1946;41:512-5.
147. Jensen EV, Block GE, Smith S, Kyser K, DeSombre ER. Estrogen receptors and breast cancer response to adrenalectomy. Natl Cancer Inst Monogr 1971 Dec;34:55-70.

148. Jones HW Jr, et al. The value of the assay of chromosomes in the diagnosis of cervical neoplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 1968 Nov 1; 102(5): 624-41. No abstract available.
149. Jönsson J FCM. Cancer cells in prostatic secretion. *Acta Chir. Scand.* 1950;99(6):545-59.
150. Kallenberger A, Hagmann A, Meier-Ruge W, Descoeudres C. [Relationship between sex chromatin incidence, nuclear size and DNA content in breast tumors and its significance for the survival rate]. *Schweiz Med Wochenschr* 1967 May 27;97(21):678-82.
151. Kallioniemi O.P. Comparison of fresh and paraffin embedded tissue as starting material for DNA flow cytometry and evaluation of intratumor heterogeneity. *Cytometry* 1988;9(2):164-9.
152. Kallioniemi O.P., Blanco O., Alavikko M. et al. Tumor DNA ploidy as an independent prognostic factor in breast cancer. *Br. J. Cancer* 1987;56:637-42.
153. Kallioniemi O., Blanco G., Alavikko M. et al. Improving the prognostic

value of DNA flow cytometry in breast cancer by combining DNA index and S-phase fraction. A proposed classification of DNA histograms in breast cancer. *Cancer* 1988;62:2183-90.

154. Kamentsky LA, Melamed MR, Derman H. Spectrophotometer: new instrument for ultrarapid cell analysis. *Science* 1965 Oct 29;150(696):630-1.
155. Kamentsky LA DHMMR. Ultraviolet absorption in epidermoid cancer cells. *Science* 1963;142(3599):1580.
156. Kindermann D, Mallmann P, Stark GB, Hultenschmidt D, Bischoff M, Sasse C, Schmitz C, Knapp M, Pfeifer U. [Histopathologic and image cytometric (static DNA cytometry) criteria with reference to determination of prognosis in 115 patients with breast cancer with special reference to "early recurrence risk"]. *Pathologe* 1992 Feb;13(1):25-38.

Original Title: Histopathologische und bildzytometrische (statische DNS-Zytometrie) Kriterien in Hinblick auf die prognostischen Aussagewerte bei 115 Patientinnen mit Mammakarzinom unter besonderer Berücksichtigung des "Frührezidiv-Risikos".

157. King RJ. Quality control of estradiol receptor analysis: the United Kingdom experience. *Cancer* 1980 Dec 15;46(12 Suppl):2822-4.
158. Knight WA, Livingston RB, Gregory EJ, McGuire WL. Estrogen receptor as an independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer. *Cancer Res* 1977 Dec;37(12):4669-71.
159. Koss L.G. Analytical and quantitative cytology. A historical perspective. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1982;4:251-6.
160. Koss L.G. Analytical and quantitative cytology. A historical perspective. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1987;9:369-74.
161. Koss LG. The present status of cytology in uterine cancer. *CA Cancer J Clin.* 1966 Sep; 16(5): 198-202. No abstract available.
162. Kristen P, Kaesemann H, Rempen A, Beier HJ, Caffier H. [DNA image cytometry in breast cancer: comparison with other prognostic criteria]. *Gynakol Rundsch* 1991;31 Suppl 2:302-4.
Original Title: DNA-Image-Zytometrie beim Mamma-Karzinom: Vergleich zu anderen Prognosekriterien.

-
163. Lajoie G, Zbieranowski I, Demianiuk C, Knape WA, Edinger MG, Tubbs RR, Murray D. A comparative study of DNA quantitation in breast carcinoma with image cytometric analysis and in vitro fine-needle aspiration with flow cytometric analysis. *Am J Clin Pathol* 1993 Oct;100(4):456-62.
164. Lavarino C, Corletto V, Mezzelani A, Della Torre G, Bartoli C, Riva C, Pierotti MA, Rilke F, Pilotti S. Detection of TP53 mutation, loss of heterozygosity and DNA content in fine-needle aspirates of breast carcinoma. *Br J Cancer* 1998;77(1):125-30.
165. Lee AK, Dugan J, Hamilton WM, Cook L, Heatley G, Kamat B, Silverman ML. Quantitative DNA analysis in breast carcinomas: a comparison between image analysis and flow cytometry. *Mod Pathol* 1991 Mar;4(2):178-82.
166. Lee AK, Wiley B, Dugan JM, Hamilton WH, Loda M, Heatley GJ, Cook L, Silverman ML. Quantitative DNA analysis and proliferation in breast carcinomas. A comparison between image analysis and flow cytometry. *Pathol Res Pract* 1992 Jun;188(4-5):428-32.

167. Lee A., Wiley B., Loda M. et al. DNA ploidy, proliferation, and ne-
oncogene protein overexpression in breast carcinoma. *Mod. Pathol.*
1992;5(1):61-7.
168. Lemon HM BWW. Cancer of the biliary tract and pancreas. Diagnosis from
cytology of duodenal aspiration. *J.A.M.A.* 1949;141(4):254-7.
169. Leonardi E, Cristofori A, Caffo O, Dalla Palma P. Cytometric DNA analysis
and prognostic biomarkers in breast carcinoma. Expression of P53
product in the different ploidy classes. *Anal Cell Pathol*
1997;15(1):31-45.
170. Leuchtemberger C. Cytochemical study of pycnotic-nuclear degeneration.
Chromosoma 1950;3:449-73.
171. Leuchtemberger C LRDAM. A microphotometric study of the DNA content
in cells of normal and malignant human tissues. *Am. J. Path.*
1954;30:65.
172. Linden van der JC LBJMCHCJ. The multivariate prognostic index and
nuclear DNA content are independent prognostic factors in primary

breast cancer patients. *Cytometry* 1989;10:56-61.

173. Lison L. *Histochimie et cytochimie animales.*: Gauthier Villars. Paris; 1960.
174. Lofberg R. CTTBOA. Comparative DNA analyses in long standing ulcerative colitis with aneuploidy. *GUT* 1989;30:1731-6.
175. Longin A, Fontaniere B, Pinzani V, Catimel G, Souchier C, Clavel M, Chauvin F. An image cytometric DNA-analysis in breast neoplasms. Parameters of DNA-aneuploidy and their relationship with conventional prognostic factors. *Pathol Res Pract* 1992 Jun;188(4-5):466-72.
176. Luecke A KE. Beitrag zur Ovarietomie und zur kenntniss der abdominalgeschuelste. *Arch. Path-Ant.* 1867;41:1-14.
177. Luzi P, Bruni A, Mangiavacchi P, Cevenini G, Marini D, Tosi P. Ploidy pattern and cell cycle in breast cancer as detected by image analysis and flow cytometry. *Cytometry* 1994 Jun 15;18(2):79-87.
178. Mariuzzi GM, Mambelli V, Criante P, Sisti S. Quantitative evaluation of

- morphological parameters for infiltrating ductal breast cancer prognosis. *Pathol Res Pract* 1989 Nov;185(5):698-700.
179. Martínez Telló F., Moreno Cerro A., Calderón Gómez J. Metodología para el análisis de ADN con citometría de flujo en tumores incluidos en parafina, empleando controles internos. *Patología* 1993;26(1)Sup:114.
180. Mattfeldt T, Frey H, Rose C. Second-order stereology of benign and malignant alterations of the human mammary gland. *J Microsc* 1993 Aug;171(Pt 2):143-51.
181. Maynard PV, Bird M, Basu PK, Shields R, Griffiths K. Dehydroepiandrosterone and androstenediol in human primary breast tumours. *Eur J Cancer* 1978 May;14(5):549-53.
182. McCarthy WL HE. Has the cancer cell any differential characteristics? *Am. J. Cancer* 1934;20:403.
183. McDonald JR. Exfoliative cytology in genitourinary and pulmonary diseases. *Am. J. Clin. Path.* 1954;24:684.

-
184. McFadden P.W., Clowry L.J., Daehnert K., Hause L.L., Koethe S.M. Image analysis confirmation of DNA aneuploidy in flow cytometric DNA distributions having a wide coefficient of variation of the G0/G1 peak. *Am. J. Clin. Pathol.* 1990;93(5):637-42.
 185. Mellors RC. Quantitative cytology and cytopathology I. *Cancer* 1953;6(2):372-85.
 186. Mellors RC. Quantitative cytology and cytopathology; nucleic acids and proteins in mitotic cycle of normal and neoplastic cells. *Ann. New York Acad. Sc.* 1956;63:1177-201.
 187. Mellors RC GAPNG. Microfluorometric scanning method for detection of cancer cells in smear of exfoliated cells. *Cancer* 1952;5:458-68.
 188. Mellors RC KA. Quantitative physical measurements of the growth of the individual normal and neoplastic cells. *Proc. Am. Assn. Cancer Res.* 1953;1:38.
 189. Miles CP et al. Diagnostic traits of interphase human cancer cells with known chromosome patterns. *Acta Cytol.* 1966 Jan; 10(1): 21-5. No

abstract available.

190. Mink D, Villena Heinsen C, Tossounidis I, Schmidt W. [Comparison of different methods for determination of proliferative activity of breast carcinomas]. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 1995;35 Suppl 1:53-6.

Original Title: Vergleich unterschiedlicher Methoden zur Bestimmung der proliferativen Aktivität von Mammakarzinomen.
191. Mir R., Johnson H., Margolis M., Teplitz S., Wise L. Prognostic significance of DNA measurement determined by image analysis in human breast carcinoma. *J. Surg. Oncol.* 1992;50(3):168-72.
192. Molnar B., Sapi Z., Meggyesi J., Sugar J., Bodo M., Feher J. Quantitative morpho- and densitometric parameters in the evaluation of aspiration cytology smears of the breast. *Orv. Hetil.* 1992;133(8):487-91.
193. Montironi R, Diamanti L, Santinelli A, Magi Galluzzi C, Scarpelli M, Giannulis I, Mangili F. Computed cell cycle and DNA histogram analyses in image cytometry in breast cancer. *J Clin Pathol* 1993 Sep;46(9):795-800.

-
194. Montironi R, Diamanti L, Santinelli A, Scarpelli M. Computer-aided S-phase fraction determination in DNA static cytometry in breast cancer. A preliminary methodologic study on cytologic material. *Anal Quant Cytol Histol* 1992 Oct;14(5):379-85.
 195. Müller J. *Handbuch der physiologie des menschen*. Berlin. 1833.
 196. Olszewski W., Darzynkiewicz Z., Rosen P.P., Schwartz M., Melamed M.R. Flow cytometry of breast carcinoma. I. Relation of DNA ploidy level to histology and estrogen receptor level. *Cancer* 1981;48:980-4.
 197. Olszewski W., Darzynkiewicz Z., Rosen P.P., Schwartz M., Melamed M.R. Flow cytometry of breast carcinoma. II: Relation of tumor cell cycle distribution to histology and estrogen receptor. *Cancer* 1981;48:985-8.
 198. Ottesen GL, Christensen IJ, Larsen JK, Larsen J, Christiansen J, Baldetorp B, Linden T, Hansen B, Andersen JA. DNA ploidy analysis in breast carcinoma. Comparison of unfixed and fixed tissue analyzed by image and flow cytometry. *Anal Quant Cytol Histol* 1997 Oct;19(5):413-22.
 199. Palcic B, Susnik B, Garner D, Olivotto I. Quantitative evaluation of

malignant potential of early breast cancer using high resolution image cytometry. *J Cell Biochem Suppl* 1993;17G:107-13.

200. Palmer JO, McDivitt RW, Stone KR, Rudloff MA, Gonzalez JG. Flow cytometric analysis of breast needle aspirates. *Cancer* 1988 Dec 1;62(11):2387-91.
201. Pallis L, Skoog L, Falkmer U, Wilking N, Rutquist LE, Auer G, Cedermarck B. The DNA profile of breast cancer in situ. *Eur J Surg Oncol* 1992 Apr;18(2):108-11.
202. Panico FG PGCW. Abrasive ballon for exfoliation of gastric cancer cells. *J.A.M.A.* 1950;143:1308-11.
203. Papanicolau GN. A new proccedure for staining vaginal smears. 1942;95: 438-439.
204. Papanicolau GN SGR. The existence of a typical oestrus cycle in the guinea pig with a study of its histological and phisiological changes. *Am.J.Anat.* 1917;22:225-63..

-
205. Pardee A.B. A restriction point for control of normal animal cell proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1974;71:1286-90.
206. Peiro G, Lerma E, Climent MA, Segui MA, Alonso MC, Prat J. Prognostic value of S-phase fraction in lymph-node-negative breast cancer by image and flow cytometric analysis. *Mod Pathol* 1997 Mar;10(3):216-22.
207. Perez Barrios A DAP. Estudio citológico de 700 casos de punción aspiración de órganos corporales excluida la mama. 1983;16,1: 65-70.
208. Phillips KL, Anderson L, Gahm T, Needham LB, Goldman ML, Wray BE, Macri TF. Quantitative DNA analysis: a comparison of conventional DNA ploidy analysis and teleploidy. *Arch Anat Cytol Pathol* 1995;43(4):288-95.
209. Piedrola G, Del R. C. J. D. C. M. y. c. *Medicina Preventiva y Salud Pública*. 9 ed.: Masson-Salvat; 1994.
210. Pollister AW. Nucleoprotein of nucleus. *Exper-Cell. Res.* 1952;2 Suppl.:59-74.

211. Prechtel K. [Mastopathy--a changing concept. Retrospective review of the 33rd IAP Symposium 1997 in Bonn]. *Pathologe* 1997 Sep;18(5):351-2.
Original Title: Die Mastopathie--Ein Begriff im Wandel. Ein Ruckblick zum 33. IAP-Symposium 1997 in Bonn.
212. Prechtel K. [Mastopathy. Histological forms and long-term observations]. *Zentralbl Pathol* 1991;137(3):210-9.
Original Title: Mastopathie. Histologische Formen und Langzeitbeobachtung.
213. Prechtel K. [The pathology of mastopathy and breast cancer]. *Radiologe* 1993 May;33(5):236-42.
Original Title: Pathologie der Mastopathie und des Mammakarzinoms.
214. Prechtel K, Gehm O, Geiger G, Prechtel P. [The histology of mastopathy and cumulative ipsilateral breast cancer sequence]. *Pathologe* 1994 Jun;15(3):158-64.
Original Title: Die Histologie der Mastopathie und die kumulative ipsilaterale Mammakarzinomsequenz.

-
215. Prewitt JM, Mendelsohn ML. The analysis of cell images. *Ann N Y Acad Sci* 1966 Jan 31;128(3):1035-53.
216. Puls J., Bibbo M., Dytch H., Bartels P., Wied. Microticas: the design of an inexpensive video-based microphotometer-computer system for DNA ploidy studies. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1986;8(1):1-8.
217. Raju U, Zarbo RJ, Kubus J, Schultz DS. The histologic spectrum of apocrine breast proliferations: a comparative study of morphology and DNA content by image analysis. *Hum Pathol* 1993 Feb;24(2):173-81.
218. Richards B.M., Atkin M.B. The differences between normal and cancerous tissues with respect to the ratio of DNA content to chromosome number. *Acta Un. Int. Canc.* 1960;16:124.
219. Rosen PP, Menendez-Botet CJ, Nisselbaum JS, Urban JA, Mike V, Fracchia A, Schwartz MK. Pathological review of breast lesions analyzed for estrogen receptor protein. *Cancer Res* 1975 Nov;35(11 Pt 1):3187-94.
220. Sachs H, Winzer J. [Histological diagnosis, DNA-content and chromatin pattern of breast cancer cases with positive and negative 17-beta-

oestradiol receptor binding (author's transl)]. Arch Gynakol 1976 Dec 10;221(4):323-38.

221. Sandritter W., Ritter M. Cytophotometric measurement of the DNA content of human malignant tumors by mean of the Feulgen reaction. Acta Cytol. 1966;10:26.
222. Schauer K. [Fibrocystic mastopathy as a cancer risk]. Zentralbl Chir 1989;114(1):11-7; discussion 18-9.
Original Title: Die Mastopathia cystica fibrosa als Krebsrisikoerkrankung.
223. Schleiden MJ. Beiträge zur phyto-genesis.. Jena.; 1838.
224. Schulte E. Standardization of the Feulgen reaction for absorption DNA image cytometry: A review. Anal. Cell Pathol. 1991;3:167-82.
225. Schulte E., Wittekind D. Standardization of the Feulgen reaction: the influence of chromatin condensation on the kinetics of acid hydrolysis. Anal. Cell. Pathol. 1990;2(3):149-57.

-
226. Schulte E., Wittekind D. Standardization of the Papanicolaou stain. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1990;12(3):149-56.
227. Schutte E., Reynders H., Bosman F., Blijham G. Flow cytometric determination of ploidy level in nuclei isolated from paraffin-embedded tissue. *Cytometry* 1985;6:26-30.
228. Schwann T. Mikroskopische untersuchungen ueber die uebereinstimmung in der struktur und dem wachstum der tiere und pflanzen. Berlin: Reiner; 1839.
229. Seckinger D., Sugarbaker E., Kranfurt O. DNA content in human cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1989;113:619-26.
230. Seigneurin D. [Value of image cytometry to oncologic diagnosis and prognosis]. *Bull Cancer Paris* 1995 Dec;82 Suppl 5:549s-52s.
Original Title: Apport de la cytométrie par analyse d'images au diagnostic et au pronostic oncologiques.
231. Seigneurin D, Louis J, Villoud MC. The value of DNA image cytometry for the cytological diagnosis of well-differentiated breast carcinomas and

benign lesions. *Anal Cell Pathol* 1994 Aug;7(2):115-25.

232. Siitonen SM, Kallioniemi OP, Helin HJ, Isola JJ. Prognostic value of cells with more than 5c DNA content in node-negative breast cancer as determined by image cytometry from tissue sections. *Hum Pathol* 1993 Dec;24(12):1348-53.
233. Sinn HP, Haag D, Ehemann V, Magener A, Goerttler K, Bastert G, Otto HF. [DNA cytometry in breast carcinoma. Review of method and value in assessing prognosis]. *Pathologe* 1997 Jan;18(1):19-26.
Original Title: DNA-Zytometrie beim Mammakarzinom. Übersicht zur Methode und zum Stellenwert bei der Prognoseabschätzung.
234. Smith F., Zappi M. Relationships between image cytometric DNA index, proliferation fraction and multiploidy and conventional nuclear grade in breast carcinoma. *Mod. Pathol.* 1993;6(5):606-11.
235. Sommers SC. Histologic changes in incipient carcinoma of the breast. *Cancer* 1969 Apr;23(4):822-5.
236. Spyrtos F, Briffod M. DNA ploidy and S-phase fraction by image and flow

- cytometry in breast cancer fine-needle cytopunctures. *Mod Pathol* 1997 Jun;10(6):556-63.
237. Stenkvist B., Bengtsson E., Eriksson O., Jarkrans K., Nordin B. Image cytometry in malignancy grading of breast cancer. Results in a prospective study with seven years of follow-up. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1986;8(4):293-300.
238. Stenkvist B., Johansson-Browen I. Image analysis cytology for DNA determination in breast and prostate cancer. *Acta Oncologica* 1991;30(8):911-6.
239. Stenkvist B., Strande G. Entropy as an algorithm for the statistical description of DNA cytometric data obtained by image analysis microscopy. *Anal. Cell. Pathol.* 1990;2(3):159-65.
240. Stomper PC, Budnick RM, Stewart CC. Breast stereotactic core biopsy washings: abundant cell samples from clinically occult lesions for flow cytometric DNA analysis. *Invest Radiol* 1998 Jan;33(1):51-5.
241. Sugar J. Action of chemotherapeutics on the birefringence and fluorochrome

staining of the nucleic acids.1962 Aug; Moscú.

242. Swift H. Quantitative aspects of nuclear nucleoprotein. *Int. Rev. Cytol.* 1953;2:1-76.
243. Taylor S., Zachariah S., Chakraborty S., Overstreet J., Ramzy I., Mody D. Ploidy studies by image analysis on fine needle aspirates of the breast. *Acta Cytol.* 1993;37(6):923-8.
244. Teplitz R., Butler B., Tesluk H. et al. Quantitative DNA patterns in human preneoplastic breast lesions. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1990;12(1):98-102.
245. Theissig F, Dimmer V, Haroske G, Kunze KD, Meyer W. Use of nuclear image cytometry, histopathological grading and DNA cytometry to make breast cancer prognosis more objective. *Anal Cell Pathol* 1991 Nov;3(6):351-60.
246. Theissig F., Haroske G., Dimmer V., Kunze K., Meyer W. Morphological possibilities for objectification of the prognosis for invasive ductal carcinoma of the breast. *Zentralbl. Pathol.* 1991;137(3):242-8.

-
247. Thunnissen FB, Ellis IO, Jutting U. Quality assurance in DNA image analysis on diploid cells. *Cytometry* 1997 Jan 1;27(1):21-5.
248. Tolles WE BRSHS. Application of automatic high speed measurement techniques of cytology. *Inst. Radio. Engineers Convention Rec.* 1956;4(9):17-23.
249. Tolles WE HWBRC. A study of quantitative characteristics of exfoliated cells from the female genital tract. *Cancer* 1961;14(3):437-54.
250. Tolles WE HWBRC. A study of the quantitative characteristics of exfoliated cells from the female genital tract. I: measurement methods and results. II: suitability of quantitative cytological measurement for automatic pre-screening. *Cancer* 1961;14(3):437-68.
251. Troncoso P., Dytch H., Bibbo M., Wied G., Dawson P. The significance of DNA measurements in a histologically defined subset of infiltrating ductal carcinomas of the breast with long term follow-up. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1989;11(3):166-72.
252. Uytterlinde A., Schipper N., Baak J. Comparison of extent of disease

morphometric and DNA flow cytometric prognostic factors in invasive ductal breast cancer. *J. Clin. Pathol.* 1987;40:1432-6.

253. Uytterlinde A., Schipper N., Baak J., Peterse H., Matze T. Limited prognostic value of cellular DNA content to classical and morphometrical parameters in invasive ductal breast cancer. *Am. J. Clin. Pathol.* 1988;89:301-7.
254. Uytterlinde A., Smeulders A., Baak J. Reproducibility and comparison of quantitative DNA histogram features obtained with a scanning microdensitometer and a flow cytometer in breast cancers. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1989;11(5):353-60.
255. Vasiu R, Olinici CD. DNA nuclear content of apocrine cells in fibrocystic mastopathy and breast cancer. *Morphol Embryol Bucur* 1990 Jan-1990 Mar 31;36(1):43-7.
256. Verdoodt B, Castelain P, Bourgain C, Kirsch Volders M. Improved detection of DNA aneuploidy in primary breast cancer using quantitative DNA image analysis in combination with fluorescent in situ hybridization technique. *Histochem J* 1995 Jan;27(1):79-88.

-
257. Vicioso L., González B., Luna S., Matilla A. Citometría de ADN por análisis de imagen en el carcinoma papilar de mama. *Patología* 1993;26(1)Sup:98.
258. Vicioso L., Matilla A. Aspectos patobiológicos del carcinoma ductal in situ de la mama. *Patología* 1994;27(3):209-14.
259. Vicioso L., Navarro G., Alvarez M., Rodero C., Matilla A. Valor de la citometría de ADN en el pronóstico de carcinoma de mama localmente avanzado. *Patología* 1993;26(1)Sup:97.
260. Vilaplana E GFJC. Correlaciones citohistológicas en las lesiones de mama. 1970;21: 613-633.
261. Vilaplana E JAM. La citología como método diagnóstico en la patología de la mama. 1972;3, 15-38.
262. Vilaplana E. JAMGFJc. Citodiagnóstico de las lesiones de la mama. 1972;23,2,89-115.
263. Vilaplana E yc. Diagnóstico citológico de tumores renales por punción

percutánea transperitoneal. 1980;1: 35-40.

264. Virchow H. Die cellular pathologie in ihrer begruendung auf physiologische und patholog. Berlin: Geschwuelste; 1858 Aug.
265. Visscher D.W., Shaheen C., Drozdowicz S., Crissman J.D. Image cytophotometric DNA histogram heterogeneity in adenocarcinoma of the breast. Anal. Quant. Cytol. Histol. 1993;15(3):206-12.
266. Visscher DW, Wallis T, Ritchie CA. Detection of chromosome aneuploidy in breast lesions with fluorescence in situ hybridization: comparison of whole nuclei to thin tissue sections and correlation with flow cytometric DNA analysis. Cytometry 1995.Sep 1;21(1):95-100.
267. Wagner T., Adler A., Kubista E. S-phase fraction and proportion of cells with high DNA content as prognostic factors of lymph node negative breast cancer. Wien. Klin. Wochenschr. 1993;105(24):712-4.
268. Wallgren A, Silfversward C. Clinical and histological factors of prognostic importance in breast cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1976 Jul-1976 Aug 31;1(7-8):611-7.

-
269. Wallgren A, Silfversward C, Zajicek J. Evaluation of needle aspirates and tissue sections as prognostic factors in mammary carcinoma. *Acta Cytol* 1976 Jul-1976 Aug 31;20(4):313-8.
270. Wallgren A, Zajicek J. The prognostic value of the aspiration biopsy smear in mammary carcinoma. *Acta Cytol* 1976 Sep-1976 Oct 31;20(5):479-85.
271. Wied GL, Bahr GF, Oldfield DG, Bartels PH. Computer-assisted identification of cells from uterine adenocarcinoma. A clinical feasibility study with TICAS. I. Measurements at wavelength 530 nm. *Acta Cytol* 1968 Sep-1968 Oct 31;12(5):357-70.
272. Wied G.L., Bartels P.H., Dytch H.E., Bibbo M. Rapid DNA evaluation in clinical diagnosis. *Acta Cytol.* 1983;27:33-7.
273. Wied G.L., Bartels P.H., Dytch H.E., Pishotta F., Bibbo M. Rapid high-resolution cytometry. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1982;4(4):257-63.
274. Wied GL. Técnicas para la recolección y preparación de muestras citológicas. Compendio de citología diagnóstica. 4ª ed. Chicago.

Illinois: Tutoriales de citología.; 1979.

275. Wilbur DC, Zakowski MF, Kosciol CM, Sojda DF, Pastuszak WT. DNA ploidy in breast lesions. A comparative study using two commercial image analysis systems and flow cytometry. *Anal Quant Cytol Histol* 1990 Feb;12(1):28-34.
276. Willis RA. Pathology of tumors. 3^a ed. Washington: Butterworth; 1960.
277. Wittliff JL, Durant JR, Fisher B. Methods of steroid receptor analyses and their quality control in the clinical laboratory. *Prog Clin Biol Res* 1981;74:397-411.
278. Wurz H, Citoler P, Schulz KD, Roos B, Kaiser R. Correlation of steroid hormone receptor levels with histological grading in human breast cancer. *Klin Wochenschr* 1980 Jun 16;58(12):643.
279. Yuan J, Hennessy C, Givan AL, Corbett IP, Henry JA, Sherbet GV, Lennard TW. Predicting outcome for patients with node negative breast cancer: a comparative study of the value of flow cytometry and cell image analysis for determination of DNA ploidy. *Br J Cancer* 1992

Mar;65(3):461-5.

280. Zbieranowski I., Demianiuk C., Bell V., Knape W.A., Murray D. Detection of false DNA aneuploidy and false DNA multiploidy in flow cytometric DNA analysis. *Anal. Cell. Pathol.* 1993;5(2):69-84.
281. Zuo L.F. Analysis of DNA ploidy in 3050 cases of malignant tumors. *Chung Hua Ping Li Hsueh Tsa Chih* 1992;21(3):167-70.

