iii) Metástasis que se extiende más allá de la cápsula de ganglio (de menos de 2 cm. de tamaño).

iv) Ganglio positivo de 2 cm. ó más de tamaño.

pN2..... Hay evidencia de invasión de ganglios axilares homolaterales fijos entre sí a otras estructuras.

pN3..... Hay evidencia de invasión de ganglios homolaterales supraclaviculares ó infraclaviculares.

pNx..... La extensión de la invasión no puede ser evaluada.

pM- Metástasis a distancia

Las categorías pM corresponden a las categorías M.

A su vez, de esta clasificación se realiza una estratificación por estadios que es básica para el tratamiento postquirúrgico y que agrupa las enfermas de cáncer mamario en los siguientes grupos:

Agrupación por Estadio

Estadio I	T1a, T1b	N0, N1a	M0
Estadio II	T0, T1a, T1b	N1b	M0
	T2a, T2b	N0, N1a	M0
	T2a, T2b	N1b	M0
Estadio IIIa	T3a, T3b	N0, N1	M0
	T1a,b,T2a,bT3a,b	N2	M0

pT1a, pT1b... Corresponden a T1a y T1b y se subdividen de esta manera:

i) Tumor de 0.5 cm. ó menos.

ii) Tumor de más de 0.5 cm. pero no más de 1 cm.

iii) Tumor de más de 1 cm. pero no más de 2 cm.

pT2a, pT2b... Corresponden a T2a y T2b.

pT3a, pT3b... Corresponden a T3a y T3b.

pT4a, b, c... Corresponden a T4a. T4b y T4c.

pTx..... La extensión de la invasión no puede ser evaluada.

pN- Ganglios linfáticos regionales.

pN0..... No hay evidencia de invasión.

pN1..... Hay evidencia de invasión de ganglios axilares móviles homolaterales.

pN1a- Micrometástasis de 0.2 cm. ó menos en ganglios.

pN2b- Metástasis macroscópica en ganglio.

i) Metástasis de más de 0.2 cm. en uno a tres ganglios (de menos de 2 cm. de tamaño).

ii) Metástasis de más de 0.2 cm. en cuatro ó más ganglios (de menos de 2 cm. de tamaño).

EstadioIIIb	T1a,b T2a,b T3a,b	N3	MO
	T4a,b,c	Cualquier N	MO
Estadio IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

El grupo oncológico del Hospital General de Valencia ha propuesto modificaciones en la agrupación de estadios basándose en el estudio de mil pacientes con supervivencias de cinco a diez años (GARCIA VILANOVA y cols., 1.985), pero la clasificación universalmente seguida y en la que se apoya el protocolo LUDWIG (1/9) es la reseñada anteriormente.

II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVO

Aunque las diferentes clasificaciones morfopatológicas vigentes han establecido diversos sistemas de puntuación, en orden a tipificar los diversos gradientes de malignidad en el carcinoma mamario y su correlación pronóstica, las dosis variables de subjetividad que comporta el exámen microscópico de las lesiones tisulares malignas, nos han abocado a una enorme heterogeneidad en el diagnóstico morfopatológico, problema que afecta de un modo muy especial al carcinoma ductal infiltrante con una incidencia entre el 75-80% de todos los carcinomas mamarios. El diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante supone, en mayor ó en menor medida según el rigor del observador, un enorme cajón de sastre, destacando la gran variabilidad intra e interobservadores que caracteriza a los grados de malignidad citohistológicos, relatividad que menoscaba la calidad pronóstica del informe morfopatológico e induce al escepticismo ò desconfianza de los oncólogos respecto a su valor predictivo.

La conducta biológica impredecible y heterogénea del carcinoma mamario, la controversia existente sobre su carácter regional ó sistémico y la muy probable coexistencia, dentro de cada masa tumoral, de clones celulares diversos, tanto por sus rasgos morfopatológicos como funcionales, hacen enormemente difícil la tarea de predecir el curso de la enfermedad por criterios exclusivamente morfológicos, haciéndose cada vez más acuciante la necesidad de una cooperación interdisciplinaria, con el fin de centrar el complejo problema del patrón de crecimiento y diseminación tumoral, y su relación

con el sistema inmune; en este sentido es muy sugestivo que las teorias darwinistas sobre la selección natural de las especies y su lucha por la vida, puedan extrapolarse al cambio del comportamiento biológico de las células cancerígenas. Se establecería de este modo, una pugna entre las diversas poblaciones celulares dotadas de genotipos y fenotipos diversos por su prevalencia dentro del medio ambiente que supone el sujeto huésped; interaccionando activamente, entre sí, con el sistema inmune y la terapia citostática con la finalidad de lograr la victoria en esa compleja y dramática lucha biológica que (paradójicamente y de forma análoga a lo que acontece en el contexto global de los ecosistemas) conlleva a su vez la muerte del sujeto victorioso, preso de los diversos patrones cíclicos fisicoquímicos que gobiernan ese misterioso, pero fascinante proceso que denominamos vida.

Volviendo a la cuestión central que nos ocupa, CORREA y col., (1.978) hacen notar el gran número de tipos histológicos de carcinoma mamario existentes y que los criterios en los cuales se basa su tipificación no gozan de acuerdo generalizado, constituyendo la mama uno de los órganos con mayores dificultades inherentes para su estudio y homologación internacional. En este mismo sentido, STENKVIST y col., (1.979) enfatizan la dificultad que la clasificación de los diferentes gradientes de malignidad citohistológicos comporta, y la polémica que suscitan en torno al pronóstico evolutivo de la enfermedad. En un análisis estadístico

realizado para averiguar el grado de reproducibilidad entre los gradientes morfológicos de malignidad propuestos por la O.M.S., BLACK y col., (1.957) y HARVEIT., (1.971) manifiestan su sorpresa ante la escasez de análisis de este tipo consignados en la bibliografía especializada y la necesidad urgente, de que investigaciones multidisciplinarias dentro del campo de la morfopatología, ayuden a proporcionar una mayor uniformidad en la protocolización e información diagnóstica, con el objetivo de facilitar la homogeneidad internacional de los registros de tumores malignos. Los parámetros nucleares, en las tres clasificaciones citadas, son los que guardan una más estrecha reproducibilidad mientras que los puramente histológicos como la presencia de formaciones tubulares, así como la composición y ordenamiento celulares dentro de los nidos tumorales, muestran un mayor componente de subjetividad y variabilidad interobservadores, teniendo una relación menos específica con el patrón de crecimiento y diferenciación tumoral y, por consiguiente, menos valor predictivo del curso ulterior de la enfermedad.

Una mayor reproducibilidad en el campo de la morfopatología puede alcanzarse utilizando métodos distintos de los tradicionales y que de hecho ya se vienen aplicando durante las últimas décadas; tales como la microscopía electrónica, inmunohistoquímica, citofotometría y análisis morfométricos. La morfometría permite detectar anomalías morfológicas y estructurales en muestras biológicas preparadas mediante diversos

métodos de fijación y tinción y, sin ninguna duda, brinda elementos de gran exactitud sobre los que basar la decisión diagnóstica y pronóstica (COLLAN, 1.984). Las aproximaciones morfométricas abarcan clasificaciones de parámetros y gradientes realizados por diferentes métodos con la ayuda imprescindibles de aparatos automatizados ó semiautomatizados. Los estudios estadísticos basados en parámetros morfométricos, permiten estudiar un número amplio de casos referidos a una entidad patológica determinada; mediante la información obtenida, encarecida por el seguimiento pronóstico, se obtienen criterios de gran fiabilidad para las clasificaciones de las enfermedades. Por otra parte, el diagnóstico morfométrico aporta información de gran valor en el estudio de pacientes individuales añadiendo, de este modo, datos relevantes para la decisión diagnóstica. Los métodos morfométricos permiten así mismo estimar los límites de la frontera cognoscitiva en histopatología, la capacidad humana de refinamiento en el proceso diagnóstico, así como el grado de interferencia que el factor humano ejerce en el proceso de ese diagnóstico global.

Las decisiones diagnósticas, asi como las decisiones terapeúticas, se basan en la valoración de una serie de factores que se interrelacionan mediante un cálculo de probabilidades. Obviamente los datos recabados mediante análisis morfométrico pueden relacionarse de forma probabilística, valorando así la relevancia pronóstica de los hallazgos. Enlazando con el tema BAAK, (1.984) afirma que los principales requisitos del

estudio morfométrico lo constituyen: 1º. selección del tipo de lesiones que van a ser sometidas a estudio; 2º. análisis estadístico multivariados que permitan evitar el solapamiento (overlap) originado cuando los análisis estadísticos se basan en una sola variable; 3º. determinación por patólogos avezados de los parámetros microscópicos más relevantes. La morfometría selectiva así obtenida, es de enorme utilidad en un porcentaje que oscila alrededor de un 4% del material global de un laboratorio de patología, pudiendo alcanzarse en laboratorios docentes una tasa considerablemente mayor (10-12%).

La mayoría de las aplicaciones de esta nueva disciplina morfológica inciden sobre el campo de la patología tumoral, argumentando BAAK, (1.984) que los patólogos responsables del proceso morfométrico deben ser contemplados como una parte integrada en el proceso diagnóstico, ya que la morfometría requiere un refinado control de calidad.

Numerosos autores en la bibliografía consultada conceden gran valor pronóstico y diagnóstico a parámetros morfométricos tales como el tamaño y forma de los núcleos y de forma muy concreta, al área nuclear media de las células tumorales.

El objetivo de esta tesis doctoral, a la luz de lo referido previamente, viene definido por el estudio citomorfométrico del cáncer mamario ductal infiltrante, y se ha llevado a cabo, mediante la observación microscópica de preparaciones citológicas obtenidas por impronta tumoral, inmediatamente después de su extirpación.

Los discriminantes morfométricos seleccionados para su estudio han sido: 1º. área y perímetro nucleares; 2º. área y perímetro citoplasmáticos; 3º. factor de forma nuclear; 4º. área y perímetro nucleololares; 5º. número de nucléolos por elemento celular.

Mediante métodos estadísticos pretendemos establecer criterios de valor diagnóstico y pronóstico para el carcinoma de mama, si los parámetros estudiados aportan datos estadisticamente significativos.

III.1. CASUISTICA

Se han estudiado cien casos de carcinoma invasivo mamario, tipo ductal infiltrante, procedentes del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Virgen de las Nieves de Granada, recogidos durante los años 1.986 y 1.987; de algunos de éstos se han estudiado además preparaciones de archivo de la Unidad de Citología del Servicio, que habían servido de base para el citodiagnóstico previo de la tumoración. Como control se han estudiado diez casos de tumores benignos de mama (mastopatía fibroquística y adenomas).

El estudio citológico y citomorfométrico se efectuó en improntas de muestras remitidas para diagnóstico peroperetaorio, mientras el estudio histológico precisó de fijación de fragmentos tumorales para el procesamiento. En algunos casos se efectuaron también improntas de nódulos axilares en piezas frescas de vaciamiento axilar.

Dada la orientación de este estudio, se aceptó en principio el diagnóstico y el grado de malignidad histológica asignado a cada tumor por el patólogo de turno del propio Servicio de Anatomía Patológica; esta aceptación descartaba estimaciones con apreciaciones excesivamente subjetivas, puesto que lo efectuaron alternativamente varios patólogos diferentes; posteriormente se revisó el pronóstico en base a los criterios propuestos por la O.M.S. (1.982). Para el diagnóstico y pronóstico de malignidad citoló-

III. MATERIAL Y METODOS

gica se siguió la misma pauta en las preparaciones de archivo; para las improntas confeccionadas de nuevo se adoptaron los criterios diagnósticos y pronósticos utilizados internacionalmente.

La casuística estudiada se ha codificado por dos veces. En una primera codificación se prescindió del número del archivo del Servicio y se codificaron del 1 al 100 los casos de malignidad y del 1 al 10 los tumores benignos. Un análisis no estadístico de este material, nos permitió subdividirlo en siete grupos de malignidad creciente y seleccionar los cinco casos más representativos de cada grupo, reduciendo los 100 casos originales de tumores malignos a 35 subdivididos en siete grupos de 5 elementos; los 10 casos de tumores benignos se redujeron a 5 casos representativos para homologación de las muestras. Estos 40 casos fueron analizados morfométricamente en varios de sus parámetros celulares, casos que se relacionan en las tablas adjuntas, reseñando datos clínicos que consideramos de indiscutible valor.

Los siete grupos fueron estratificados en base a los criterios de malignidad citológica; a cada uno de los diecisiete criterios seleccionados se le aplicó un número de orden (1) dandole una puntuación numérica que, según el grado de malignidad citológica, podía oscilar desde 0 hasta 5 puntos. No todos los criterios se puntuaron de modo uniforme ya que, por ejemplo, la presencia de mitosis y diátesis tumoral solo se observan, citológicamente, en los carcinomas de alto grado de malignidad. (Ver tabla 0).

(1) Criterios nucleares:

I. Alteraciones de la membrana nuclear.
II. Alteraciones del patrón cromatínico.
III. Policromatismo.
IV. Anisonucleosis.
V. Alteración del cociente N/C.
VI. Alteraciones del tamaño y número de nucléolos.
VII. Mitosis.

Criterios citoplasmáticos:

VIII. Anisocitosis.
IX. Polimorfismo.
X. Policromatismo.
XI. Degeneración micro-macrovacuolar.

Criterios globales:

XII. Amontonamiento celular (overlap).
XIII. Distorsión.
XIV. Canibalismo.
XV. Diátesis tumoral.
XVI. Pérdida de la cohesión celular.
XVII. Núcleos sueltos.

Tabla 0

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	Suma total
1	1	1	1	1	1	0.5	0	0.5	0.5	0	1	1	1	0.5	0	0.5	0.5	11
2	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1	0	1	1	0.5	1.5	1.5	1.5	1	0	0.5	0.5	17.5
3	2	2	2	2	2	1.5	0	1.5	1.5	1	2	2	2	1.14	0	1	1	22
4	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2	0.5	2	2	1.5	2.5	2.5	2.5	2	0	1.5	1.5	30
5	3	3	3	3	3	3	1	3	3	2	3	3	3	2.5	2	2	2	43.5
6	4	4	4	4	4	4	2	4	4	2.5	4	4	4	3	2	3	3	57
7	5	5	5	5	5	5	3	5	5	3	5	5	5	4	3	4	4	79

Tabla 1.

GRUPO CITOLOGICO 0

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO

	1	2	3	4	5
grado citologico	0 (0-1)	0	0	0	0
grado histológico	0 (0-1)	0	0	0	0
Tipo histológico	mastopatia broderline	fibroadenoma intracanalic.	mastopatia quistica	fibroadenoma pericanalic.	fibroadenoma pericanalic.
Edad	72	16	41	37	49
cuadrante	retroareolar	I.I.	generalizada	I.I.	S.E.
lado	Dch.	Izq.	Izq.	Izq.	Izq.

Tabla 2.

GRUPO CITOLOGICO 1

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO

	1	2	3	4	5
Grado Citologico	I	I	I	I	I
Grado Histológico	II	II	II	III	II
T N M	T4b No Mo	T2a No Mo	T2a No Mo	T4b N1b Mo	T2a No Mo
Reacción Linfocitaria	+	+	-	+	++
Edad	65	51	65	74	65
Edad Menopausia	53	38	52	44	57
Edad Menarquia	16	12	12	14	13
Cuadrante	II	UCCSS	SE	retroa-reolar.	SI
Lado	izq.	Dch.	Izq.	Dch.	Izq.
Tamaño	2.2 x 1.0	3.0 x 4.0	3.0 x 2.0	5.0 x 5.0	3.0 x 1.0
paridad	2-0-2-2-2	3-0-3-3-3	2-0-2-2-2	Ø	4-0-4-4-4
Edad 1º. Hijo	28	26	30	0	22
Lactancia	1a.	5a.	1/2 a	0	4a.
Nº.Ganglios	0	0	0	6	0
Tipo.Histol.	Ductal infiltrante en todos los casos.				

Tabla 3.

GRUPO CITOLOGICO 2

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO

	1	2	3	4	5
Grado Citológico	I-II	I-II	I-II	I-II	I-II
Grado Histológico	II	II	I	I	I
T N M	T2a No Mo	T2a N1a Mo	T2a No Mo	T1a No Mo	T3a No Mo
Reacción Linfocitaria	++	+	++	++	+
Edad	34	41	44	48	53
Edad Menopausia	-	-	-	47	51
Edad menarquia	12	12	14	12	13
Cuadrante	ME	SE	UCCSS	SE	SE
Lado	Dch.	Dch.	Izq.	Izq.	Dch.
Tamaño	1.5 x 1.5	2.0 x 2.0	3.0 x 2.0	2.0 x 2.5	5.0 x 5.5
Paridad	2-0-2-2-2	Ø	2-0-2-2-2	2-1-1-1-1	1-0-1-1-1
Edad 1º.Hijo	23	-	28	26	28
Lactancia	1a.	-	1a.	-	1a.
Nº. Ganglios	0	2	0	0	0
Tipo. Histol	Ductal infiltrante en todos los casos.				

Tabla 4.

GRUPO CITOLOGICO 3

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO

	1	2	3	4	5
Grado Citológico	II-I	II-I	II-I	II-I	II-I
Grado Histológico	III	II	II	II	III
T N M	T2a N1b Mo	T2a No Mo	T2 No Mo	T2a N1b Mo	T3a N1b Mo
Reacción Linfocitaria	-	+++	++	-	++
Edad	59	78	83	63	47
Edad Mencpausica	52	55	52	52	-
Edad Menarquia	15	12	15	14	11
Cuadrante	ME	IE	UCCSS	SI	SE
Lado	Dch.	Dch.	Dch.	Izq.	Dch.
Tamaño	2.0 x 2.0	2.0 x 3.0	3.0 x 3.0	3.5 x 2.0	8.0 x 7.0
Paridad	5-1-4-4-3	11- - - -6	4-2-2-2-2	1-1-1-1-1	ø
Edad 1º. Hijo	26	18	23	19	-
Lactancia	4a.	12a.	1a.	1a.	-
Nº.Ganglios.	14	0	0	19	10
Tipo. Histol.	Ductal infiltrante en todos los casos.				

Tabla 5.

GRUPO CITOLOGICO 4

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO

	1	2	3	4	5
Grado Citológico	II	II	II	II	II
Grado Histologico	III	II	II	II	III
T N M	T2a N1b Mo	T2a N1b Mx	T3a N1b Mo	T3a N2 Mo	T2a No Mo
reacción Linfocitaria	-	++	++	+	+
Edad	65	40	58	45	43
Edad menopausia	50	-	47	-	-
Edad Menarquia	14	14	12	12	12
Cuadrante	SE	SE	SE	multicentrico.	SI
Lado	Dch.	Izq.	Dch.	Izq.	Izq.
tamaño	2 x 2	3 x 4	5 x 3	4 x 3	2 x 2
Paridad	ø	2-0-2-2-2	1-0-1-1-1	4-0-1-4-4	4-0-1-1-4
Eda 1º.Hijo	-	35	41	23	26
Lactancia	0	0	0	2a.	2a.
Nº.Ganglios.	8	4	13	6	0
Tipo Histol.	Ductal infiltrante en todos los casos				

Tabla 6.

GRUPO CITOLOGICO 5

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO

	1	2	3	4	5
Grado Citológico	II-III	II-III	II-III	II-III	II-III
Grado Histológico	III	III	III	III	III
T N M	T2a N2 Mx	T2a N1b Mo	T2a N1b Mo	T4b N2 Mx	T2b N1b Mo
Reacción Linfocitaria	+	++	-	+++	+
Edad	54	57	59	74	70
Edad Manopausia	52	45	52	50	40
Edad Menarquia	11	12	15	16	14
Cuadrante	SE	MI	UCCSS	retro-areolar.	SE
Lado	Dch.	Dch.	Izq.	Izq.	Dch.
Tamaño	3 x 2	3 x 2	2 x 2	10 x 10	4 x 3
Paridad	2-0-2-2-2	5-0-5-5-5	5-1-4-4-4	5-1-4-4-4	3-0-3-3-3
Edad 1º. Hijo	26	23	24	20	28
lactancia	4-5a.	5a.	5a.	2a.	5a.
Nº.Ganglios.	27	0	9	17	31
Tipo Histol.	Ductal infiltrante en todos los casos.				

Tabla 7.

GRUPO CITOLOGICO 6

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO

	1	2	3	4	5
Grado Citologico	III-II	III-II	III-II	III-II	III-II
Grado Histologico	II	III	III	II	III
T N M	T2a No Mo	T2a N1b Mo	T2a N2 Mo	T2a N1b Mo	T2b N2 Mo
reacción Linfocitaria	++	-	-	+	+
Edad	67	52	59	50	65
Edad Menopausia	49	38	52	-	52
Edad Menarquia	16	15	15	12	11
Cuadrante	UCCII	SE	SE	UCCII	SE
Lado	Dch.	Izq.	Dch.	Dch.	Izq.
Tamaño	3.0 x 2.0	2.0 x 2.0	3.0 x 2.5	2.0 x 2.0	4.0 x 4.0
Paridad	∅	~~5-0-5-5-4~~	~~5-1-4-4-3~~	0	~~6-2-4-4-4~~
Edad 1º. Hijo	-	20	26	-	32
Lactancia	0	1a.	4a.	0	8a.
Nº.Ganglios	0	1	20	1	16
Tipo Histol.	Ductal infiltrante en todos los casos.				

Tabla 8.

GRUPO CITOLOGICO 7

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO

	1	2	3	4	5
Grado Citológico	III	III	III	III	III
Grado Histológico	III	II	III	III	III
T N M	T2a No Mo	T2a N1b Mx	T2a No Mo	T2b N1b Mo	T2a No Mo
Reacción Linfocitaria	+++	++	+++	-	+++
Edad	56	74	56	73	60
Edad Menopausia	52	50	54	50	45
Edad Menarquia	14	13	13	14	14
Cuadrante	SE	SI	SE	retro-areolar	SE
Lado	Dch.	Izq.	Dch.	Dch.	Izq.
Tamaño	3.0 x 3.0	5.0 x 4.0	3.0 x 2.0	3.0 x 3.0	2.0 x 1.5
Paridad	8-3-5-5-4	2-0-2-2-2	4-0-4-4-4	4-1-3-3-3	4-1-3-3-3
Edad 1º. Hijo	27	25	23	24	23
Lactancia	4a.	2a.	?	5a.	4a.
Nº.Ganglios	0	8	0	1	0
Tipo Histol.	Ductal infiltrante en todos los casos.				

III.2. METODOS MORFOLOGICOS

III.2.1.Metodos histológicos.-

1.- Las preparaciones histológicas utilizadas para la tipificación y selección de cada caso, incluso para su pronóstico histológico, fueron las rutinarias del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Virgen de las Nieves. Bloques de diversas zonas de cada tumoración, tras fijación en formol neutro al 10%, fueron procesadas hasta su inclusión en parafina plastificada y posteriormente cortadas a 5 micras; los métodos de tinción fueron siempre la rutinaria **Hematoxilina-Eosina** y el **Tricromico de Masson**, en ambos casos posterior deshidratación, aclaramiento y montaje en medios sintéticos.

Todos los cortes histológicos se efectuaron con un microtomo tipo Minot de Leitz.

El diagnóstico citológico e histológico se efectuó con un microscopio binocular Leitz, modelo Orthlux II (ojs.: Pl. Fl.4; Pl.Fl.10; Pl.25; Pl.40; NP1.100).

Las microfotografias se efectuaron en ese microscopio con una cámara Orthomat Leitz, con película negativa vericolor kodak.

2.- Para la obtención de **cortes semifinos** se incluyeron en resina fragmentos cuboideos de no más de 1 mm. de lado. El procedimiento seguido fue

el siguiente:

1º. Fijación a 4º C. por inmersión de los fragmentos cuboideos durante 24 horas en una solución de glutaraldehido al 2.5% en tampo fosfato a un pH 7.2.

2º. Fijación en una solución de tetroxido de osmio al 1% en tampo fosfato a pH 7.22 durante 30 minutos.

3º. Deshidratación en acetonas de concentraciónes crecientes hasta absoluta, utilizando como líquido intermedio acetato de uranilo.

4º. Inclusión siguiendo el método de Spurr en estufa a 60º C., durante 16 horas (polimerizador, N.S.A.; plastificador DER-736; Acelerador DMAE S-1).

5º. Tallado de las pirámides y cortes a 0.3 micras.

6º. Tinción con azul de toluidina.

Los cortes semifinos se efectuaron siempre con un microtomo ultracut de Reichert. La talladora de pirámides fue el modelo TM60 de Reichert, mientras la cortadora de cuchillas de vidrio fue la Knifemaker de L.K.B.

III.2.2. Métodos citológicos.-

Hemos utilizado para el análisis citológico preparaciones impronta que se tomaron sobre portaobjetos desengrasados, previamente, para evitar artefactos de tinción. El hecho material de la impronta se efectuó a presiones gradualmente crecientes sobre un plano de sección ecuatorial de la muestra tumoral recibida; estas improntas se fijaron "inmediatamente", en fresco, antes de su desecación en alcohol-eter aa; de cada caso se tomaron 10 improntas, cada una a presión diferente y sin cambiar de plano.

1.- Después de 10 minutos de fijación, las preparaciones se rehidrataron gradualmente a través de alcoholes de graduación decreciente hasta agua; una vez hidratadas se tiñeron por el procedimiento de PAPANICOLAU (1.954), utilizando soluciones OG6 y EA 65 ó EA 50 comerciales Merck; posteriormente se deshidrataron en alcoholes de gradación creciente, aclaramiento en xilol y montaje con medio sintético.

En este método prestamos especial atención a la diferenciación después de la tinción con hematoxilina de Harris, y al pH en que se efectua esa tinción, puesto que nos interesaba resaltar las características nucleares con la mayor fiabilidad y uniformidad posibles, amén de destacar la presencia y caracteres de los nucléolos. El interés de este rigor en la tinción nuclear vino dada por la necesidad de demostrar objetivamente la estructura de la malla de cromatina y, al

principio, incluso de su cantidad/densidad aplicando métodos citoespectrofotométricos.

La morfología de la cromatina nuclear es muy variable, según el **"tipo de célula"** y el fijador empleado, factor este último no variable puesto que siempre hemos utilizado alcohol-eter aa. De la malla de cromatina nuclear, ciertas placas grandes que semejan nucléolos, se denominan cromocentros y están constituidas por heterocromatina parte de los cromosomas que permanece condensada en la interfase celular. También se produce condensación de cromatina sobre la membrana interna del núcleo, permitiendo distinguir al microscopio óptico la periferia nuclear, ya que la autentica membrana nuclear no es visible a esos aumentos.

La composición química del nucleo comprende:

DNA.....	9%
RNA.....	1%
Proteinas ácidas.....	65%
Proteinas básicas.....	11%
Enzimas	
Mucopolisacaridos.....	14%
Minerales	

La coloración nuclear mediante el **metodo de Papanicolau** se efectúa mediante la hematoxilina de Harris, un colorante básico que se une al grupo fosfórico de los ácidos nucleicos, al grupo carboxilico

de las proteinas y a los grupos carboxílicos de los mucopolisacáridos por un simple mecanismo de atracción elestrostática entre cargas contrarias. Por ello la hematoxilina se fijará a los ácidos nucleicos, a las proteinas ácidas y a los mucopolisacaridos, que representan el 10%, 65% y una cantidad no determinada respectivamente de la composición nuclear. Esta fijación de mayor o menor cantidad de colorante, sobre los componentes nucleares, nos proporcionará la diversidad de imágenes ópticas, "mallas" y "grumos", que nos permitirá un análisis de "densidad" y formas.

Los nucleolos por el contrario son más acidófilos, debido a su contenido proteico. Tienen estructura más homogenea, finamente granular a la visión con microscopia óptica. La inclusión de DNA en pequeñas porciones de los cromosomas acrocéntricos le confiere algunas características tintoriales afines al DNA, pero el ácido nucleico contenido en el orgánulo, es RNA con un componente proteico constituido por fosfoproteinas, componente fuertemente afin para el colorante ácido eosina y sus derivados. En la tinción de hematoxilina-eosina el nucléolo se colorea de rojo, al igual que con el método de Papanicolau, por la eosina de la solución EA 65.

2.- La demostración de organelas citoplasmáticas o de alteraciones de ese territorio celular, son moderadamente demostrables mediante el método tintorial de Papanicolau. A improntas tomadas del mismo plano

que las anteriores, pero ahora desecadas al aire, hemos aplicado la tinción policroma de **May Grümwald-Giemsa**, utilizando soluciones comerciales de ambos colorantes (Merck). Además de hacer demostrables alteraciones citoplasmáticas y resaltar los límites celulares, este proceder hace destacar el nucléolo al teñir violáceo el núcleo y rojo el nucléolo.

3.- Dado que un patrón que nos interesaba destacar era la cohesión celular de los tumores a estudiar, hemos aplicado **microscopia electrónica de barrido** en algunos de ellos. Intentando desvirtuar lo menos posible la superficie celular no procedimos nunca a un aislamiento celular mediante tripsinización de fragmentos de tejido tumoral; únicamente trozeamos reiteradamente fragmentos de masa tumoral y los lavamos enérgicamente con suero fisiológico; el botón obtenido por centrifugación lo procesamos de la forma siguiente:

1º. Fijación por resuspensión del botón celular en glutaraldehido al 2.5% en tampón fosfato a pH 7.2; la fijación se efectua a 4ºC. durante un período de una a doce horas.

2º. Después de dos lavados en tampón fosfato al mismo pH, se resuspende el botón celular en una cantidad mínima de tampon fosfato, y se sedimentan gotas de la suspensión en cubreobjetos desengrasados recubiertos de poli-L-lisina, (PLL) de peso molecular 90.000 al 0.1% en agua destilada.

3º. La deshidratación de la muestra se realiza con acetona de concentración creciente hasta anhidra, durando el proceso unos cinco minútos y utilizando como liquido intermediario acetato de amilo.

4º. Sustitución del líquido presente en las células por anhidrido carbónico liquido que, por aumento de temperatura de la cámara donde se efectúa el proceso, consigue la desecación con escasa alteración de los elementos celulares (obtención del punto crítico).

5º. Los cubreobjetos se montan sobre portamuestras de aluminio de 1/8 pulgadas de eje y 1/2 pulgadas de diámetro. Se utilizó como conductor adherente plata amoniacal.

La metalización de la muestra, ya montada, asegura la conductividad eléctrica desde la superficie de la misma al soporte, y logra una superficie que puede emitir un gran número de electrones secundarios tras el bombardeo electrónico.

Para las muestras de microscopia electrónica de barrido el punto crítico se alcanzó en un aparato Polaron E3100 Jumbo Serie II. La metalización de las mismas se realizó con un Polaron Sputtering E5000. La observación de esas muestras se practicó en un microsco-

pio electrónico de barrido Philips SEM 505 a un voltaje entre 15 y 25 KV y con una inclinación variable entre cero y sesenta grados. Las microfotografías fueron realizadas con película Polaroid 52 Agfa-pan 400.

4.- Se han aplicado **metodos citogenéticos** a células de estos tumores. El procedimiento de obtención celular fue idéntico al de microscopia electrónica de barrido; en aquellos tumores fiables, obtenemos suspensiones celulares en líquido fisiológico por troceado fino del tumor, y agitación en suero de esos pequeños fragmentos sin intervención de elementos distorsionantes como la tripsina. El botón celular, conseguido de la sedimentación de ese líquido, lo resuspendemos en líquido de Hank, lavando varias veces, hasta obtener un botón lo más "limpio" posible de detritus tisulares.

Las células obtenidas se sometieron a la variante que FORTEZA y cols., (1.963), hicieron al método de TJIO y LEVAN (1.956) de cultivo celular a corto plazo; el posterior hinchamiento celular y la fijación y la confección de preparaciones, nos proporcionó metafases suficientes para, una vez teñidas con giemsa, proceder a su fotografía y cariotipaje.

III.2.3. Métodos morfométricos.-

La técnica de impronta nos proporciona preparaciones homogéneas de células, dependiendo la conservación de esas células y su configuración, de factores tales como una rápida fijación y una adecuada presión del portaobjetos sobre las muestras. Temiendo que los contornos celulares y nucleares pudieran desvirtuarse de unos casos a otros, ó de unas preparaciones a otras dentro del mismo caso, hemos procurado siempre efectuar muy rápidamente la fijación, conseguir la máxima pureza en los dos componentes del fijador y realizar las improntas a presiones diferentes para obtener la más adecuada en cada caso.

El control de calidad de estas improntas se puede efectuar, a groso modo, por la morfología de los hematies pero, además hemos efectuado morfometría de esos hematies, en cada caso, para asegurarnos de la calidad de la morfometría de las células acompañantes; otros elementos, como los linfocitos, no son válidos para este control dada su versatilidad de tamaño.

Dado que conocemos el diámetro de los hematies con escasísimas variantes, en cada caso se han medido diez hematies elegidos en campos distantes del porta. Considerando, que en la impronta el hematie presenta una forma elipsoide, con un ocular micrométrico hemos medido el diámetro mayor y el menor; el ocular micrométrico utilizado para estas mediciones se correlaciona con una reglilla micrograduada de forma que cada 10

micras de la reglilla se corresponden con 4 unidades del ocular micrométrico; por tanto cada valor medido con el ocular micrométrico fue multiplicado por 0.4, obteniendo los diámetros en micras. En aquellas preparaciones en que esos diámetros se regían por la normalidad, consideramos que los parámetros morfológicos de las células tumorales acompañantes eran válidos.

Las medidas de diámetros de hematies y núcleos de células tumorales comparativas, se efectuaron en el mismo microscopio incorporándole un ocular micrométrico Leitz y adaptando una reglilla graduada.

Aún hemos utilizado otro control con aquellas preparaciones de archivo que sirvieron previamente para el diagnóstico tumoral. Hemos comparado 10 de esas células de archivo con diez de las de improntas del mismo caso, midiendo diámetros nucleares con el ocular micrométrico; cuando la correlación entre las células de ambas muestras, presentaba escasa desviación, aceptamos como válidas las preparaciones improntas.

Dichas preparaciones citológicas fueron examinados en un microscopio óptico Leitz-SM-Lux provisto de camara clara (ver esquema numero 1.). La cámara clara consiste, básicamente, en un dispositivo óptico inserto entre el objetivo y el ocular, permitiendo la observación simultánea de la preparación citológica y de una superficie plana, iluminada adecuadamente, en la que se realiza un dibujo controlado de dicha preparación. (Ver Reproducción de uno de los casos silueteados).

Mediante la utilización de objetivo inmersión en todos los casos, las imágenes celulares proyectadas por la cámara clara, fueron silueteadas cuidadosamente con un lápiz de punta fina seleccionando minuciosamente los elementos celulares, y reproduciendo solamente, aquéllos cuyos contornos citoplasmáticos, nucleares y nucleolares se ofrecían perfectamente nítidos.

Antes de comenzar la sesión de observación microscópica se procedía a fijar (en el folio donde iban a ser contorneados los elementos celulares) la escala real de medición utilizando un porta Leitz Wetzlar dotado de regilla micrograduada, siendo la unidad de medida 10 micras.

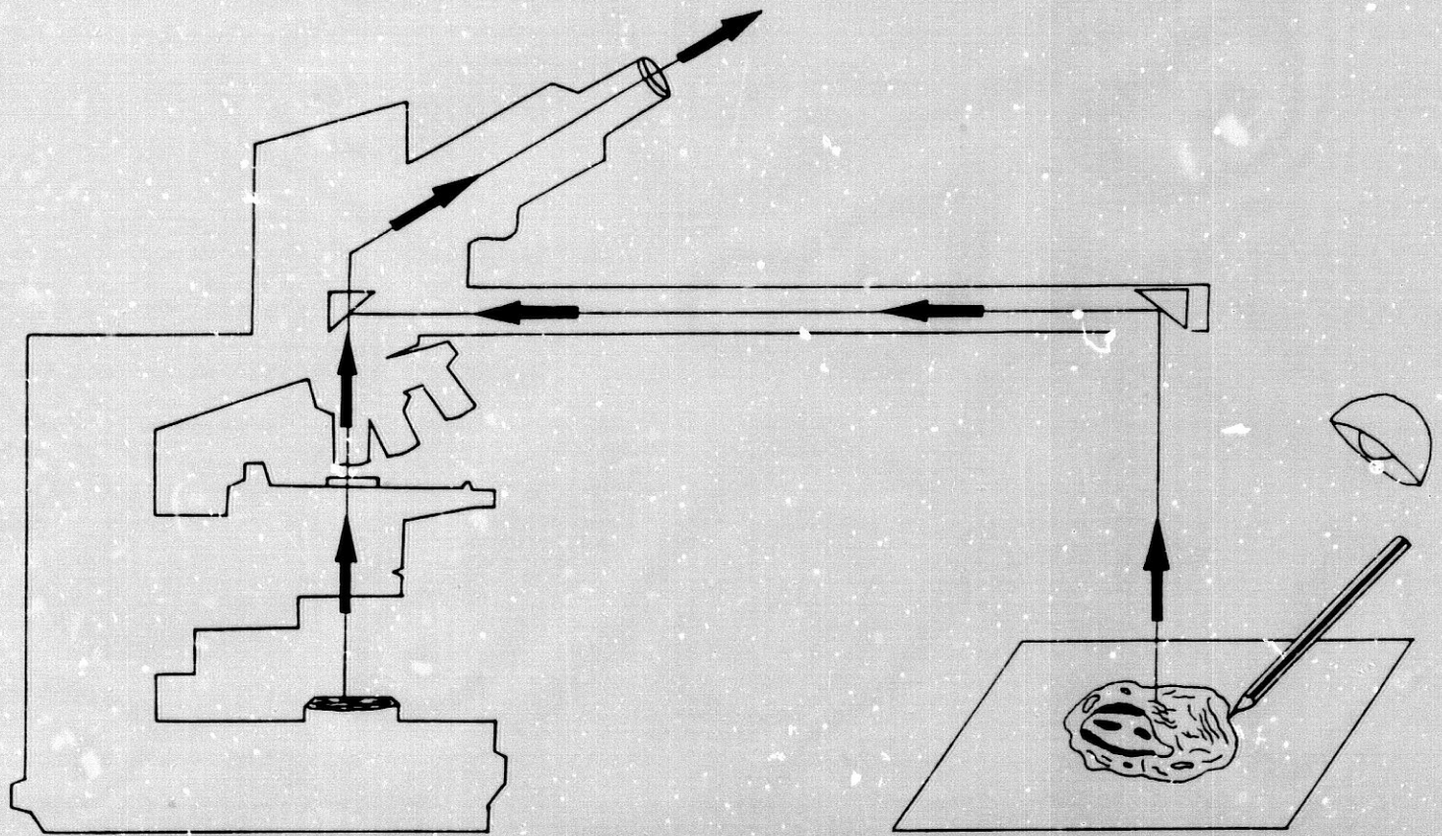
Los elementos celulares, fueron posteriormente retintados con rotulador de punta fina, quedando perfectamente delimitados los contornos citoplasmáticos, nucleares y nucleolares. Posteriormente las células (de una en una) fueron sometidas a un proceso de ampliación de imagen, mediante una ampliadora fotográfica conectada al sistema Ibas (BOSH) siendo magnificada a una distancia focal de 40cm. procediéndose posteriormente a la medición de los parámetros morfométricos seleccionados, mediante un analizador de imágenes Komtron IBAS-IPS 2000 de alto poder resolutivo, dotado de dos monitores de televisión, tableta digitalizadora, e impresora de 132 caracteres y 180 cps. para el proceso de datos. Las mediciones de los parámetros morfométricos fueron realizadas mediante la elaboración de un programa informático estructurado para la determinación de áreas y perímetros en tres

fases: 1º. citoplasmática, 2º. nuclear y 3º. nucleolar.

Proceso de análisis de imagen.- La imagen real u original (obtenida y ampliada por el método antes expuesto) fue sometida a un proceso de **digitalización ó memorización**, utilizando para ello la cámara de televisión del sistema de adquisición de imágenes.

El proceso digitalizador consiste en el almacenamiento en la memoria del Ibas de la imagen celular, una vez que ésta ha sido identificada previo proceso de cuantificación numérica (asignación de un número de orden). Seguidamente se discriminó el nivel de gris adecuado (espectro cromático) mediante la asignación de un valor numérico (al umbral de gris adecuado) que en nuestro material, según el grosor de los contornos, oscilaba de 100 a 155 pixels.

La imagen digitalizada fue sometida posteriormente a un proceso de **binarización**, siendo el criterio básico, para esta fase, la perfecta discriminación de los contornos celulares a medir mediante la asignación al azar de un color diferente a cada uno de los contornos de las estructuras a medir (citoplasma, núcleo y nucléolo); si estaban netamente delimitadas, tanto entre sí, como respecto a las células vecinas. En caso de no estarlo, los contornos que presentaban puntos de contacto ó soluciones de continuidad, mostraban, en el primer caso idéntico color, y en el segundo, el contorno afectado presentaba, a nivel de la rotura, colores distintos. Mediante un proceso de manipulación ó restaura-



(1(Esquema del sistema de cámara clara

ción, los contornos afectados fueron retocados eliminando los puntos de contacto y soluciones de continuidad, utilizando el cursor de la tableta digitalizadora. La imagen restaurada (una vez incorporada a la memoria del ordenador) fue sometida al proceso de medición de los parámetros seleccionados mediante el programa previamente confeccionado.

Finalizado el proceso de medición, los datos obtenidos fueron transferidos a la impresora conectada al sistema.

Todas las fases del proceso referido debían ser repetidas para cada célula individual (análisis semiautomatizado).

Concluida la medición de los parámetros morfométricos de los 4000 células que estructuraban nuestro material, los valores numéricos (registrados en el listado de la impresora previa medición de las correspondientes escalas presentes en cada caso (100 células) fueron transferidos a un ordenador SVI provisto de disco duro, mediante un programa en lenguaje Basic, elaborado con la finalidad de reconvertir las unidades del analizador IBAS, pixels,en micras.

Los datos numéricos reconvertidos fueron grabados en memoria de disco, obteniendo posteriormente un listado completo de los mismos, a través de la impresora conectada al ordenador.

Este listado, fué sometido a analisis estadísticos multivariados por el Dpto. de Bioestadística de la Facultad de Medicina.

III.3. METODOS ESTADISTICOS

Los métodos usados pueden verse en MARTIN ANDRES y cols., (1.986) y BROWNLEE, (1.965).

1.- TEST X^2 PARA CONTRASTAR LA HOMOGENEIDAD DE MUESTRAS CUALITATIVAS

A partir de las distribuciones de frecuencias muestrales, se basa en la comparación de las frecuencias observadas y esperadas, obtenidas estas últimas mediante la expresión:

$E_{ij} = \frac{F_i \, C_j}{T}$, donde F_i es el total de fila, C_j el total de columna y T el total general.

Las cantidades experimentales:

$$X^2_{exp} = \sum\sum \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}} = \sum\sum \frac{O^2_{ij}}{E_{ij}} - T$$

frente a la cantidad teórica que corresponde con (r-1). (S-1) grados de libertad, donde r es el nº de filas (MUESTRAS) y s el nº de columnas (MODALIDADES).

Para el caso particular 2 x 2, la expresión a considerar es:

$$X^2_{exp} = \frac{(\,|O_{11}O_{22} - O_{12}O_{21}| - T/2)^2 \times T}{F_1 F_2 C_1 C_2}$$

con 1 grado de libertad.

La significación indica diferentes proporciones en al menos una población de las que se comparan.

2.- TEST EXACTO DE FISHER PARA LA COMPARACION DE DOS PROPORCIONES

En el caso 2 x 2 (dos muestras y dos modalidades), y cuando los pequeños tamaños muestrales no permitan usar el test X^2 , se puede utilizar el test exácto de FISHER. Con la siguiente tabla de Frecuencias:

	EXITOS	FRACASOS	TOTAL
MUESTRA 1	x_1	$n_1 - x_1$	n_1
MUESTRA 2	x_2	$n_2 - x_2$	n_2
TOTAL	a_1	a_2	N

el nivel de significación se obtiene a partir de:

$$P(x_1) = \frac{n_1!\ n_2!\ a_1!\ a_2!}{x_1!\ x_2!\ (n_1-x_1)!\ (n_2-x_2)!\ N!}$$

directamente como el doble (test bilateral) de la suma de los $P(x_1)$ calculados para el x_1 obtenido y todos aquellos valores más extremos (que producen mayor diferencia de proporciones muestrales).

3.- TEST DE HOMOGENEIDAD DE VARIAS MUESTRAS DE POISSON.

La hipótesis nula es la igualdad de medias poblacionales. Hay que distinguir dos casos:

a) Tamaños muestrales iguales.

Si $X_i \rightarrow P(\lambda_i)$ son independientes, con i=1,2,.. k, se calcula $\bar{X}= \Sigma X_i /K$, y, si $\bar{X} > 5$, se compara la cantidad:

$$X^2_{exp}= \frac{\Sigma (X_i-\bar{X})^2}{\bar{X}} = K \frac{\Sigma X_i^2}{\Sigma X_i} - \sum X_i$$

con una X^2_α con (K-1) grados de libertad.

b) Tamaños muestrales distintos:

Si X_i (con i=1,2,...K) es el total de observaciones de una muestra de tamaño n_i, se calcula:

$\bar{X}= \sum X_i / \sum n_i$, y si las $E_i = n_i \bar{X}_i$ verifican las condiciones de validez (todas mayores que 1 y no más del 20% menores que 5), se compara la cantidad:

$$X^2_{exp}= \sum \frac{(X_i-n_i\bar{X})^2}{n_i.\bar{X}_i} = \frac{\Sigma n_i}{\Sigma X_i} . \sum \frac{X_i^2}{n_i} - \sum X_i$$

con una X^2_α con (K-1) grados de libertad.

En ambos casos, la correción por continuidad debe hacerse si $K \leq 4$ y $\Sigma X_i < 200$. Para ello se utilizan las primeras expresiones restando 0.5 a cada término (en valor absoluto) antes de elevar al cuadrado.

4.- ANALISIS DE LA VARIANZA DE UNA VIA (ANOVA I)

a) Datos y cálculos intermedios.

Dadas r muestras aleatorias e independientes, de tamaños cualesquiera, obtenidas de r poblaciones Normales, de medias, μ_1, μ_2,... μ_r y varianzas σ^2 iguales. Notemos por n_i, $\bar{X}_i$ y S_i^2 a los tamaños, medias y varianzas muestrales respectivas. La hipótesis a contrastar en el test global es la igualdad de las medias poblacionales.

Los datos se analizan en el formato de la tabla siguiente:

Datos X	n_i	F_i	$\bar{X}_i$	
Muestra nº1	n_1	F_1	$\bar{X}_1$	F=suma de las observaciones de la muestra.
Muestra nº2	n_2	F_2	$\bar{X}_2$	
.....	...	...	...	$\bar{X}_i = F_i/n_i$
.....	...	...	...	
Muestra nº r	n_r	F_r	$\bar{X}_r$	$N = \Sigma n_i$
Totales	N	T	$R=\frac{T^2}{N}$	$T=\Sigma F_i$= suma de todas las observaciones.

b) Tabla de Análisis de la Varianza.

Notemos por (s.c.) a la suma de cuadrados; en la columna (m.c.) se alude a las medias cuadradas, refiriendose a las estimaciones de la varianza obtenidas por división de cada s.c. por sus correspondientes grados de libertad.

La tabla es:

Fuente	g.l.	s.c.	m.c.	Test
Entre tratamientos	r-1	$s.c.E=\sum\frac{F_i^2}{n_i}-R$	$S_E^2=\frac{s.c.E}{r-1}$	$F_{exp}=\frac{S_E^2}{S_D^2}$
Dentro de tratamientos ó Error.	N-r	s.c.D=s.c.T-s.c.E	$S_D^2=\frac{s.c.D}{N-r}$	con(r-1; N-r)grados de libertad
Total	N-1	$s.c.T=(\Sigma x^2)-R$		

en donde Σx^2 es la suma de los cuadrados de todas las observaciones.

La significación indica que al menos una de las medias poblacionales, ha de considerarse diferente.

5.- TEST DE COMPARACION DE TODAS LAS MEDIAS POR PAREJAS (Método de Newman y Keuls).

Denominemos s^2 a la varianza "dentro", por f a sus grados de libertad y por r, al número de medias que van a compararse:

Se ordenan las r medias, $\bar{X}_i$, de menor a mayor, comparando la más grande con la más pequeña (primera etapa).

Después se toman los dos grupos de K=r-1 medias consecutivas (primera y penúltima: segunda y última), comparando los dos extremos de cada una de ellas (segunda etapa). Dentro de cada uno de los dos grupos anteriores hay otros dos grupos con K=r-2 medias y se comparan sus extremos, etc (tercera etapa).

Cuando dos medias no son significativas, todo su grupo es declarado igual, no interviniendo en los pasos posteriores y sí en caso contrario.

El proceso finaliza cuando en una etapa todos los test resultan no significativos, ó se llega a la comparación de medias contiguas como última etapa. Se utiliza:

$$t_{exp} = \frac{|\bar{X}_i - \bar{X}_j|}{\sqrt{s^2_D(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j})}}$$

como cantidad experimental. Esta se compara, cuando los ta-

maños n_i no son todos iguales, frente a la t_α $(f_i\ K)$ de Bonferroni.

Cuando los tamaños son todos iguales, digamos a n_i se compara:

$$t_{exp} = \frac{|\bar{X}_i - \bar{X}_j|}{\sqrt{2\ s^2/n}}$$

con un t_α (f,k) en la distribución de Tukey.

6.- ANALISIS DE LA VARIANZA DE DOS VIAS TOTALMENTE JERARQUICO (ANIDADO).

Si se desea contrastar la igualdad de medias de distribuciones normales en un diseño que incluye **t** grupos, **r** subgrupos dentro de cada grupo y **n** datos dentro de cada grupo, el análisis adecuado viene dado por la tabla:

FUENTE	g.l	s.c	m.c.	F_{exp}
ENTRE GRUPOS	t-1	C-D	C-D/t-1 $=S_1^2$	S_1^2/S_2^2
ENTRE SUBGRUPOS DENTRO DEL GRUPO	t(r-1)	B-C	B-C/t(r-1) $=S_2^2$	S_2^2/S_3^2
ENTRE DATOS	(n-1)rt	A-B	A-B/(n-1)rt $=S_3^2$	
TOTAL	nrt-1	A-D		

Siendo:

$$A = \sum_{1}^{t} \sum_{1}^{r} \sum_{1}^{n} X^2$$

$$B = \frac{1}{n} \cdot \sum_{1}^{t} \sum_{1}^{r} \left(\sum_{1}^{1} X \right)^2$$

$$C = \frac{1}{n.r} \cdot \sum_{1}^{t} \left(\sum_{1}^{r} \sum_{1}^{n} X \right)^2$$

$$D = \frac{1}{n.r.t} \left(\sum_{1}^{t} \sum_{1}^{r} \sum_{1}^{n} X \right)^2$$

El primer contraste se refiere a la comparación entre grupos, con $\left(t-1;\ t(r-1) \right)$ grados de libertad, y el segundo a la homogeneidad de los subgrupos dentro de cada grupo, con $\left(t(r-1);\ (n-1)\ rt \right)$ grados de libertad, siempre frente a la distribución F de Snedecor.

En nuestro caso, los grupos son las categorías de malignidad, los subgrupos son los casos, y los datos corresponden a cada célula.

Si el primer contraste es significativo, las comparaciones entre todas las parejas de grupos se realizan como en el caso del ANOVA I (ver apartado 5), con la salvedad de que la varianza dentro S_D^2 es sustituida ahora por S_2^2 .

IV. RESULTADOS

IV.1. RESULTADOS CLINICO-PATOLOGICOS

Basándonos en la casuística de esta tesis doctoral, se ha tratado de evaluar la posible significación pronóstica de factores tales como el número de ganglios implicados y el tamaño tumoral, no siendo posible la valoración de los receptores hormonales debido a que en nuestra serie de pacientes, se da la circunstancia de que un número considerable (13 casos) carecen de la determinación de este marcador pronóstico.

Factores de riesgo reseñados en la literatura especializada, tales como mastopatía, fibroquistica previa, antecedentes familiares, carcinoma mamario previo, multicentricidad, no han podido ser evaluados, debido a la escasa proporción de pacientes que mostraban los mencionados parámetros de riesgo.

Pasamos a exponer brevemente las tablas de las frecuencias obtenidas para cada categoría de malignidad de los citados factores, no figurando los datos del subgrupo control 0, dado que éste está constituido por casos benignos sin interés pronóstico.

Tabla 9. TAMAÑO TUMORAL

GRUPOS

	1	2	3	4	5	6	7
2 cm.	1	-	1	2	1	2	1
2- 5 cm.	4	2	3	3	3	3	4
5-10 cm.	-	1	1	-	1	-	-
10 cm.	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 10. NUMERO DE GANGLIOS IMPLICADOS

GRUPOS

	1	2	3	4	5	6	7
0	4	5	2	1	1	1	3
1- 3	-	-	-	-	-	2	1
4-10	1	-	1	3	1	-	1
10	-	-	2	1	3	2	-

Tabla 11.

LOCALIZACION

GRUPOS

	1	2	3	4	5	6	7
SE	1	3	1	3+1	2	3	3
SI	1	-	1	1	-	-	1
ME	-	-	1	-	-	-	-
MI	-	-	-	-	1	-	-
IE	-	-	1	-	-	-	-
II	1	1	-	-	-	-	-
Retroar.	1	-	-	-	1	-	1
UCCSS	1	1	1	-	-	-	-
UCCII	-	-	-	-	-	2	-
UCCEE	-	-	-	-	1	-	-

* multicéntrico

Tabla 12. LADO

GRUPO

	1	2	3	4	5	6	7
Izq.	3	2	1	3	2	2	2
Dch.	2	3	4	2	3	3	3

Tabla 13. REACCION LINFOCITARIA

GRUPO

	1	2	3	4	5	6	7
-	1	-	2	1	1	2	1
+	3	2	1	2	2	2	-
+ +	1	3	1	2	1	1	1
+ + +	-	-	1	-	1	-	3

Tabla 14.

EDAD BIOLOGICA

GRUPO

	1	2	3	4	5	6	7
< 40	-	1	-	-	-	-	-
41-45	-	2	-	3	-	-	-
46-50	-	1	1	-	-	1	-
51-55	1	1	-	-	1	1	-
56-60	-	-	1	1	2	1	3
61-65	3	-	1	1	-	1	-
> 65	1	-	2	-	2	1	2

Tabla 15.

EDAD DE LA MENARQUIA

	GRUPO						
	1	2	3	4	5	6	7
11-12	2	3	2	2	2	2	-
13-14	2	2	1	3	1	-	5
15-16	1	-	2	-	2	3	-

Tabla 16.

EDAD DEL 1º. HIJO

	GRUPO						
	1	2	3	4	5	6	7
Nuliparas	1	1	1	1	-	2	-
< 20	1	-	2	-	-	-	-
21-25	1	1	1	1	3	1	4
26-30	2	3	1	1	2	1	1
> 30	-	-	-	2	-	1	-

Tabla 17.

PARIDAD

	GRUPO						
	1	2	3	4	5	6	7
0	1	1	1	1	-	2	-
1	-	2	1	1	-	-	-
2-3	3	2	1	1	2	-	3
⩾4	1	-	2	2	3	3	2

Tabla 18.

LACTANCIA

	GRUPO						
	1	2	3	4	5	6	7
0	1	2	1	3	-	2	-
1	2	3	2	-	-	1	1
2-3	-	-	-	2	1	-	1
>3	2	-	2	-	4	2	3

Tabla 19.

EDAD MENOPAUSICA

GRUPO

	1	2	3	4	5	6	7
prem.	-	3	1	3	-	1	-
40	1	-	-	-	1	1	-
41-45	1	-	-	-	1	-	1
46-50	-	1	-	2	1	1	2
51-55	2	1	4	-	2	2	2
55	1	-	-	-	-	-	-

La posible relación entre cada uno de estos factores y el nivel de malignidad se ha contrastado para cada uno de estos factores (clínico-patológicos y reproductivos) mediante el test de homogeneidad basado en la chi-cuadrado ó el test exácto de Fisher, agrupando clases en caso necesario. En ninguno de los supuestos analizados se ha detectado relación significativa, es decir diferencias entre los diversos grupos de malignidad respecto del factor analizado, siendo la localización el factor más próximo a la significación (x^2_{exp} =2.97, que con 1 grado de libertad da un resultado de $P < 0.10$) si se contrasta la localización supero-externa frente a todas las demás, entre los grupos 0, 1, 2, 3 con respecto a los grupos 4, 5, 6, 7. Una muestra mayor pudiera, tal vez, probar que el cuadrante supero-externo es la localización de peor pronóstico como se recoge en la bibliografía especializada; así mismo, algún otro factor, como la duración de la lactancia, podría igualmente dar diferencias significativas con una muestra mayor.

IV.2. RESULTADOS MORFOMETRICOS

IV.2.1. AREA Y PERIMETRO CITOPLASMATICO

Se han comparado las áreas y perímetros citoplasmáticos entre las diferentes categorías de malignidad citológica.

Se ha utilizado un análisis de la varianza de dos vías anidado que se basa en la estimación, por separado, de la varianza entre grupos, entre los casos incluidos en cada subgrupo y entre las células de cada caso (ver métodos estadísticos).

Los resultados del análisis de datos (100 células por caso) se recogen en las tablas 20, 21, 22 y 23 y en las gráficas 1 y 2.

Los resultados no significativos se expresan subrayando las medidas implicadas, de modo que sea significativa la diferencia entre cualquiera de los grupos que no tengan sus medidas en el mismo subrayado.

Pueden observarse varias categorías con diferencias significativas entre sí, como se desprende de la tabla , **encontrandose las diferencias más evidentes entre los grupos 6 y 7 con respecto a las restantes;** por otro lado se aprecian también valores sensiblemente distintos entre los grupos 0, 1, 2, 3, 4 de una parte y los 5, 6, 7 de otra. Son también destacables las divergencias entre los grupos 3, 4, 5 respecto de: a) los grupos 0, 1, 2 y 3 y b) los grupos 6 y 7.

En resumen, los resultados estadísticos parecen

definir tres compartimentos de malignidad creciente, a medida que se incrementa el grado citológico de atipias, observandose un aumento paulatino de las medias, conforme los gradientes de malignidad van ascendiendo.

El vector citoplasmático al que en patología mamaria maligna no parece concedérsele un papel relevante, desde una perspectiva diagnóstica, parece erigirse a la luz de los datos estadísticos obtenidos, como un buen marcador de diferenciación tumoral con probabilidad de que se puedan derivar -a partir de su valoración morfológica tanto cualitativa como cuantitativa- correlaciones pronósticas valiosas.

Tabla 20.

TABLA

AREA CITOPLASMATICA

Análisis de la varianza

Fuente de variación	g.L	s.c.	m.c.	F_{exp}	Signific.
ENTRE GRUPOS	7	244.4319	34.9188	33.25	P 0.001
ENTRE INDIVIDUOS	32	53.3551	1.6673	11.12	P 0.001
ENTRE CELULAS	3960	593.5239	0.1499	-	-
TOTAL	3999	891.3108	-	-	-

Tabla 21.

Comparaciones múltiples

GRUPOS	0	1	2	3	4	5	6	7
MEDIAS μ^2	0.2861	0.3311	0.3756	0.4459	0.5106	0.6129	0.8281	1.0474

Desviaciones típicas: 1. entre células: 0.387; 2. entre casos: 1.291; 3. entre grupos: 5.909.

Tabla 22.

TABLA

PERIMETRO CITOPLASMATICO

Análisis de la varianza

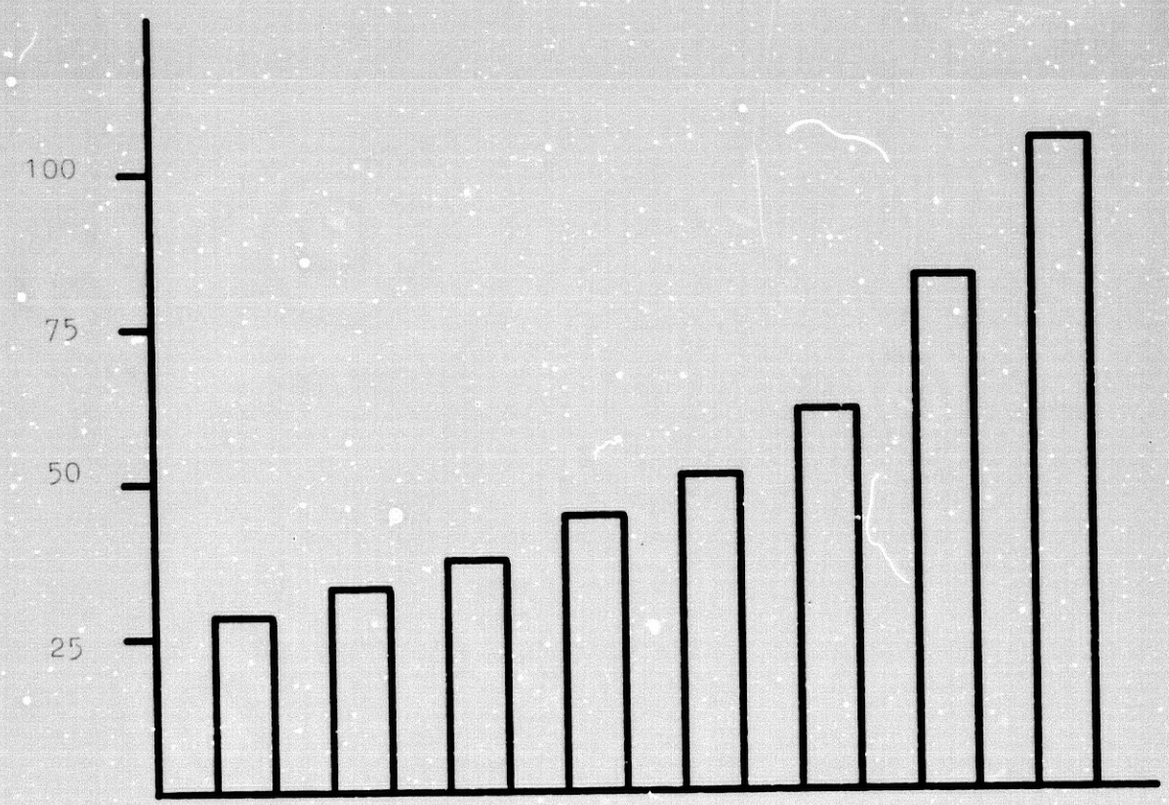
Fuente de variación	g.L	s.c.	m.c.	F_{exp}	Signific.
ENTRE GRUPOS	7	3448.7057	492.6722	29.75	P 0.001
ENTRE INDIVIDUOS	32	529.9220	16.5601	4.944	P 0.001
ENTRE CELULAS	3960	13262.8244	3.3492	-	-
TOTAL	3999	17241.4520	-	-	-

Tabla 23. Comparaciones múltiples

GRUPOS	0	1	2	3	4	5	6	7
MEDIAS	2.9287	3.2981	3.3002	3.5615	4.0670	4.3902	4.9645	5.8725

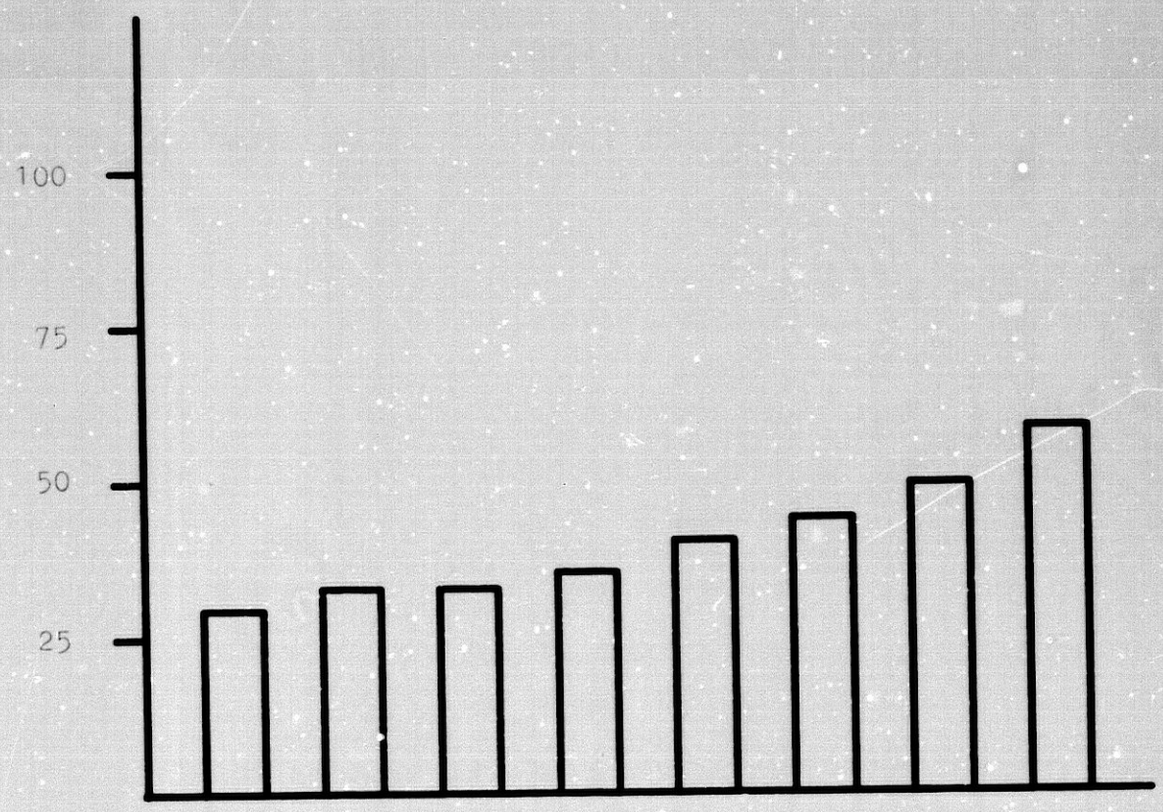
Desviaciones típicas: 1. entre células: 1.830; 2. entre casos: 4.069; 3. entre grupos: 22.196.

AREA DEL CITOPLASMA



Gráfica nº 1

PERIMETRO DEL CITOPLASMA



Gráfica nº 2

IV.2.2 AREAS, PERIMETROS Y FACTOR DE FORMA NUCLEARES

Se han comparado las tres variables (área, perímetro y factor de forma) entre las diferentes categorías de malignidad, mediante un análisis de dos vías anidado. Dado que en algunas células aparecen dos o tres núcleos se han tomado como dato único para cada célula, el promedio de área, perímetro ò factor de forma de ellos. De esta forma se tienen 100 datos por caso y 5 casos por grupo.

Los resultados aparecen en las tablas 24, 25, 26 ,27, 28 y 29 y en las gráficas 3, 4 y 5.

Por lo que respecta al área, un análisis entre todos los grupos muestra diferencias significativas (F_{exp} = 3.79; $P < 0.001$), que resultan localizadas entre el grupo 7 y los demás. Sin embargo, la gran varianza de los datos del grupo 7 (el de mayor malignidad) debida a la aparición de células anaplásicas con marcada anisocariosis, obscurece las diferencias entre el resto de las categorías. Por ello, el análisis se ha circunspcrito a los grupos 0 al 6, y es éste el que aparece en la tabla.

Aún con solapamientos en cuanto a las diferencias significativas, que no permiten establecer claramente una clasificación, los resultados del área parecen indicar un aumento de ésta relacionado con el incremento de la malignidad.

Más claros son los resultados para el perímetro. En este parámetro aparecen, como en las medidas

citoplasmáticas, las categorías que podríamos denominar "leve" (0 al 3), "moderada" (3 al 5) y "acentuada" si bien entre los grupos 6 y 7, también aparecen diferencias significativas, lo que confiere al grupo 7 un especial "status" de malignidad.

El factor forma no establece distinciones tan claras, y sólo el grupo 6 difiere significativamente de los 0, 1, 2 y 4, y el 3 del 0 y el 2. La irregularidad de los resultados no permite establecer una relación manifiesta entre malignidad y factor forma, aunque sugieren una forma algo más circular en los grupos más benignos (0, 1 y 2, sin incluir al 3 en este caso).

Tabla 24.

TABLA

AREA NUCLEAR (0 a 6)

Análisis de la varianza

Fuente de variación	g.L	s.c.	m.c.	F_{exp}	Signific.
ENTRE GRUPOS	6	40.93073	6.821788	8.73	P < 0.001
ENTRE CASOS DENTRO DE CADA GRUPO	28	21.87199	0.781143	18.12	P < 0.01
ENTRE CELULAS DE CADA CASO	3665	158.01009	0.043113	-	-
TOTAL	3449	220.81281	-	-	-

Tabla 25. Comparaciones múltiples

GRUPOS	0	2	1	3	5	4	6
MEDIAS μ^2	0.2386	0.2963	0.3147	0.3379	0.4176	0.4782	0.5744

Desviaciones típicas: 1. entre células: 0.208; entre casos: 0.884; entre grupos: 2.612.

Tabla 26.

TABLA

PERIMETRO NUCLEAR

Análisis de la varianza

Fuente de variación	g.L	s.c.	m.c.	F_{exp}	Significac.
ENTRE GRUPOS	7	1250.2063	178.6009	25.59	P < 0.001
ENTRE CASOS DE CADA GRUPO	32	223.3039	6.9782	22.56	P < 0.001
ENTRE CELULAS DE CADA GRUPO	3960	1225.10206	0.3094	-	-
TOTAL	3999	2698.6128	-	-	-

Tabla 27.

Comparaciones múltiples

GRUPOS	0	2	1	3	5	4	6	7
MEDIAS (micras)	1.9066	2.1177	2.1627	2.3160	2.5801	2.6226	3.0194	3.7621

Desviaciones típicas: 1.entre células: 0.556; 2. entre casos: 2.642; 3. entre grupos: 13.364.

Tabla 28.

TABLA

FACTOR FORMA NUCLEAR

Análisis de la varianza

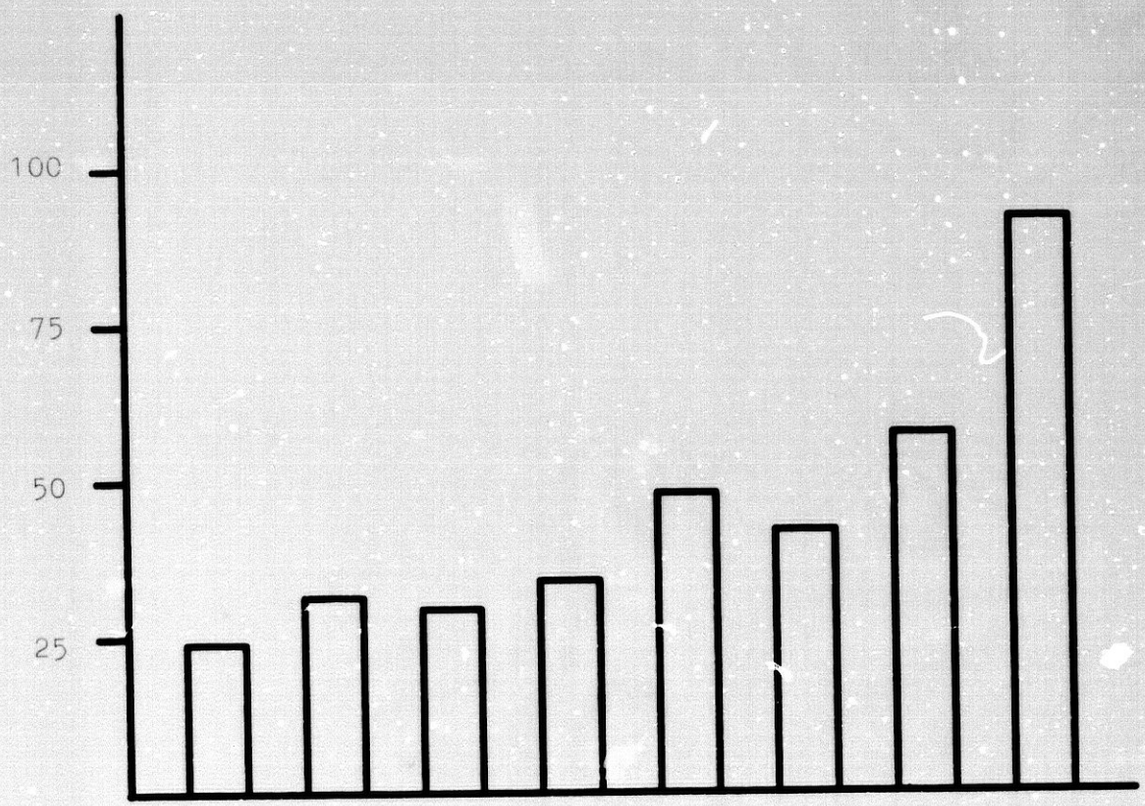
Fuente de variacion	g.L	s.c.	m.c.	F_{exp}	Signific.
ENTRE GRUPOS	7	1.1127	0.1590	5.11	P < 0.001
ENTRE CASOS DE CADA GRUPO	32	0.9967	0.03114	9.90	P < 0.001
ENTRE CELULAS DE CADA CASO	3960	12.4573	0.003146	-	-
TOTAL	3999	14.5667	-	-	-

Tabla 29.

Comparaciones múltiples

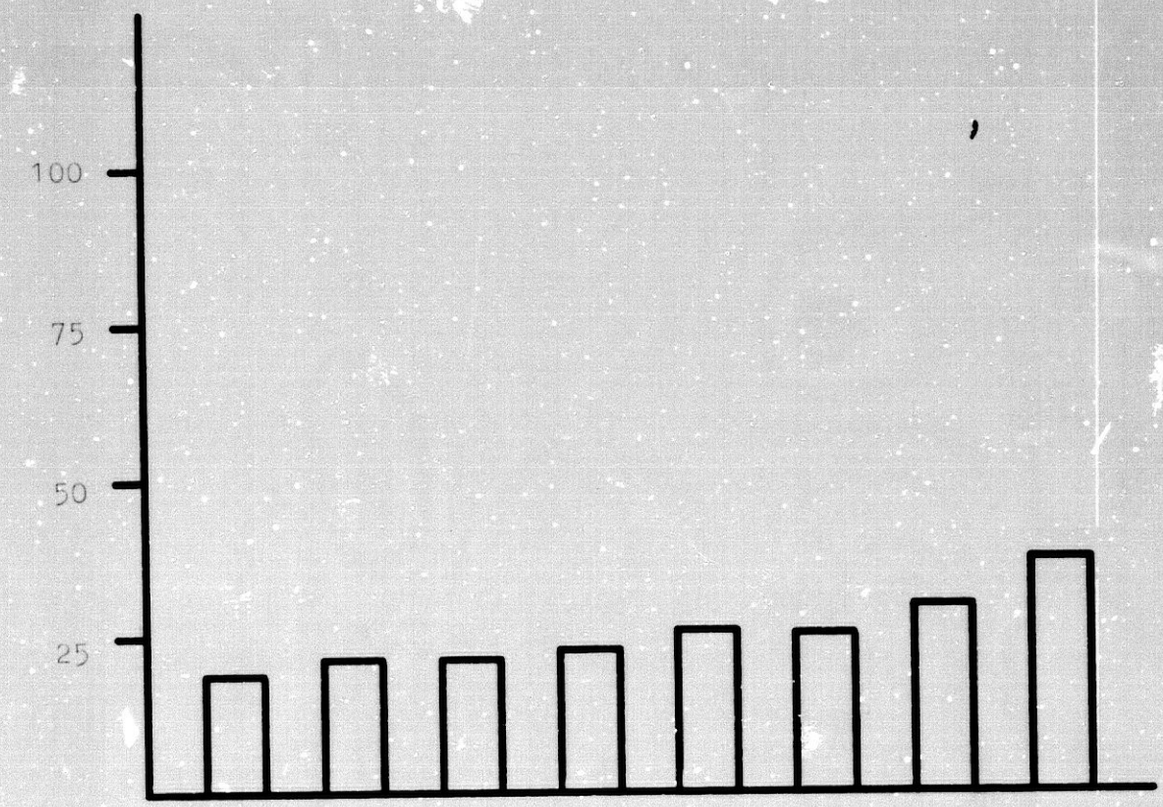
GRUPOS	6	3	7	5	4	1	0	2
MEDIAS	0.7692	0.7759	0.7845	0.7934	0.8030	0.8070	0.8157	0.8161

AREA DEL NUCLEO



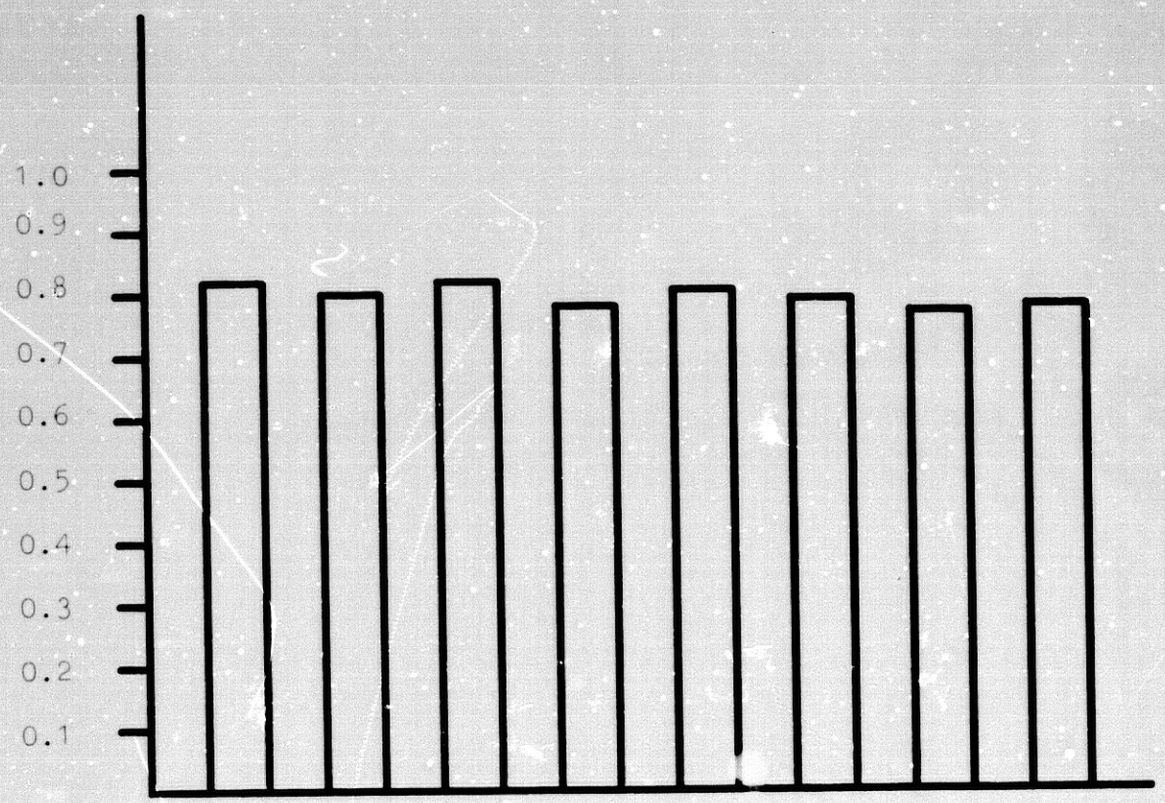
Gráfica nº 3

PERIMETRO DEL NUCLEO



Gráfica nº 4

FACTOR DE FORMA NUCLEAR



Gráfica nº 5

IV.2.3AREAS Y PERIMETROS NUCLEOLARES.

Se han comparado el área y el perímetro medios de los nucléolos correspondientes a los grupos pronósticos considerados.

La no existencia de nucléolos en ciertas células (que no debe incluirse como si de nucléolos de área ó perímetro nulos se tratara) y el muy diverso número de nucléolos por células nos impide abordar, tanto para el área como para el perímetro nucleolar, un análisis de la varianza de dos vias anidado como el utilizado para contrastar los parámetros de citoplasmas y núcleos. Obviando, en base al elevado número de nucléolos que se han medido, las posibles diferencias interindividuales, hemos optado por utilizar el modelo de analisis de la varianza de una vía entre los ocho grupos de malignidad.

Los resultados del análisis de los datos del área y perímetro nucleolar se recogen en las tablas 30,31, 32 y33 y en las gráficas nº 6 y 7.

En cuanto al área se refiere, y si se exceptúa la homogeneidad entre los grupos 2 y 3 (t_{exp} =1.506 frente a la t de Bonferroni) y 5 y 6 (t_{exp} =0.615), entre cualquier otra pareja de grupos existen diferencias claramente significativas (un $P < 0.05$ entre el 0 y el 1, con t_{exp} =2.395, un $P < 0.01$ entre el 1 y el 2, con t_{exp} =3.142, y un $P < 0.001$ para el resto de las comparaciones). **Puede afirmarse que el área de los nucléolos aumenta conforme lo hace la malignidad.**

Para el perímetro se obtienen resultados muy similares, con la única comparación no significativa entre el grupo 2 y el 3 (t_{exp} =1.406), y siendo significativas el resto de las comparaciones. **También el perímetro aumenta** (salvo la irregularidad de los grupos 5 y 6, con mayores valores para el primero de ellos), **al aumentar la malignidad.**

Tabla 30.

TABLA

AREA NUCLEOLOLAR

Fuente de variación	g.L	s.c	m.c	$F_{exp.}$	Signific.
ENTRE GRUPOS	7	0.605310	0.086473	174.37	P < 0.001
ENTRE CASOS DE CADA GRUPO	5469	2.712139	0.000496	-	
TOTAL	5476	3.317449	-	-	

Tabla 31.

Comparaciones múltiples

GRUPOS	0	1	2	3	4	6	5	7
MEDIAS μ^2	0.007664	0.011023	0.015220	0.017067	0.022007	0.028718	0.029429	0.040483
Nº. DE NUCLEOLOS	497	512	608	721	667	804	691	977

Desviaciones típicas: 1. entre células de cada grupo: 0.022;
2. entre grupos: 0.294.

Tabla 32.

TABLA

PERIMETRO NUCLEOLAR

Análisis de la varianza

Fuente de variación	g.L	s.c	m.c	F_{exp}	Signific.
ENTRE GRUPOS	7	141.26639	20.180913	439.79	P 0.001
DENTRO DE GRUPOS	5469	250.96000	0.045888	-	-
TOTAL	5476	392.22639	-	-	-

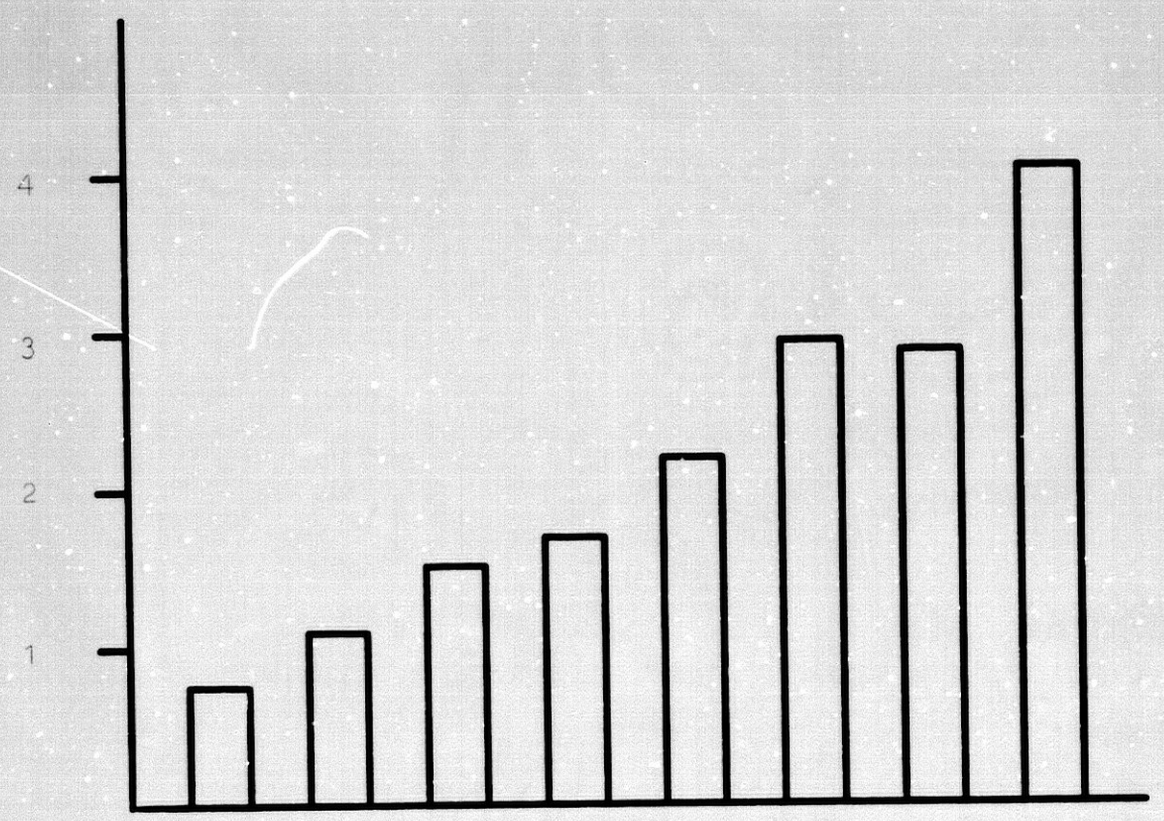
Tabla 33.

Comparaciones múltiples

GRUPOS	0	1	2	3	4	6	5	7
Nº.NUCLEOLOS	497	512	608	721	667	804	691	977
MEDIAS	0.34657	0.41278	0.49746	0.51404	0.56681	0.63859	0.73227	0.85926

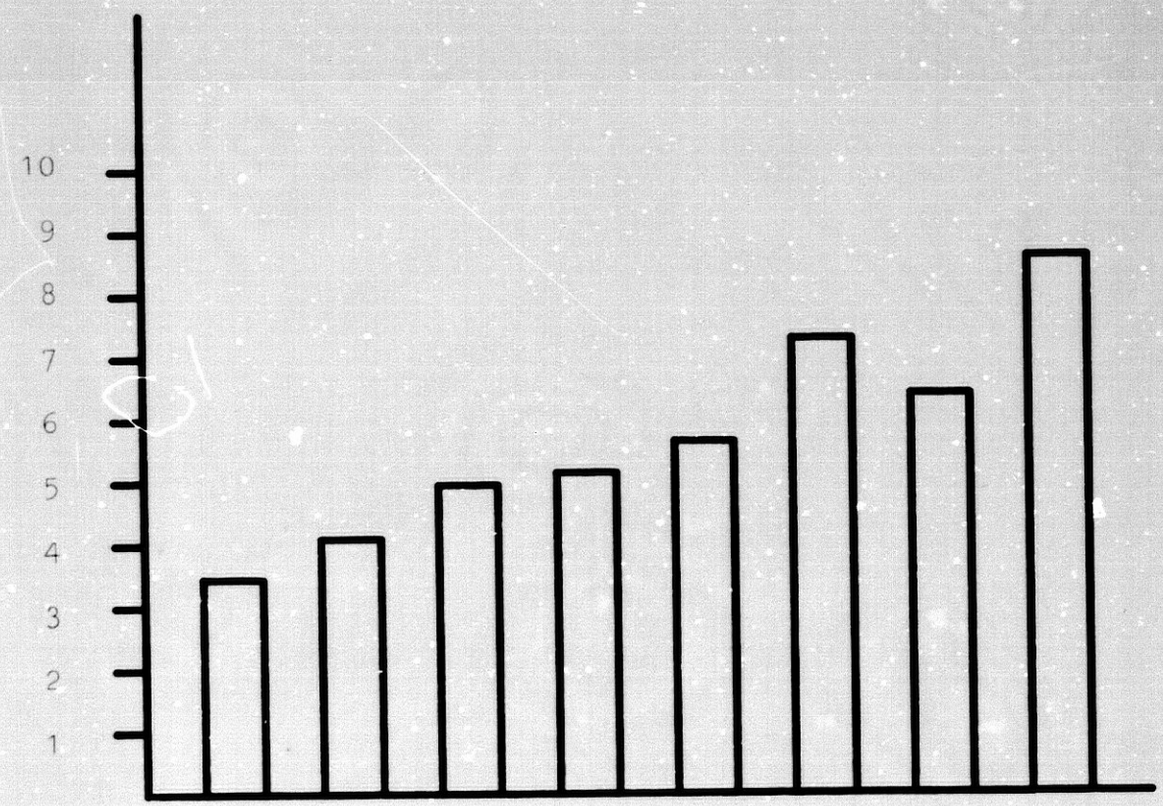
Desviaciones típicas: 1. entre células de cada grupo: 0.214; 2. entre grupo: 4.492.

AREA DEL NUCLEOLO



Gráfica nº 6

PERIMETRO DEL NUCLEOLO



Gráfica nº 7

IV.2.4. NUMERO DE NUCLEOLOS

Se ha estudiado las posibles diferencias en el número de nucléolos por célula en los diferentes grupos pronósticos fijados.

Los datos se detallan en las tablas 34, 35, 36, 37,38 39, 40 y 41.El contraste de las diferencias entre los distintos grupos se ha llevado a cabo a través del test de comparación de medias de distribuciones de Poisson basado en la chi-cuadrado. Se han obtenido los siguientes resultados.

Comparación	X^2_{exp}	g.l	Significación
ENTRE LOS 8 GRUPOS	252.45	7	$P < 0.001$
ENTRE LOS GRUPOS 0 y 1	0.22	1	N.S
ENTRE LOS GRUPOS 3, 4 y 5	2.11	1	N.S
ENTRE LOS GRUPOS: 0 + 1 2 3 + 4 + 5 6 7	250.15	4	$P < 0.001$

Como se observa, las diferencias entre todos los grupos pueden resumirse en las que existen entre las cinco categorías reseñadas en la última comparación **con resultado muy significativo** (los grupos no pueden asociarse en menor número de categorías homogéneas). Los promedios del número de nucléolos en las cinco categorías son:

Media en 100 células

GRUPOS 0 + 1	100.9	(1.009 por célula)
GRUPO 2	121.6	(1.216 por célula)
GRUPO 3 + 4 + 5	138.6	(1.368 por célula)
GRUPO 6	160.8	(1.608 por célula)
GRUPO 7	195.6	(1.956 por célula)

Aparece de este modo una graduación creciente en el número medio de nucléolos en las distintas categorías, correspondiente a un creciente grado de malignidad.

RESUMEN:

Test global (entre los 40 individuos) X^2_{exp} = 428.56 (39 g.l) $P < 0.001$

Entre los 8 grupos: X^2_{exp} = 252.45 (7g.l) $P < 0.001$

Entre 0 y 1: X^2_{exp}=0.22 (1 g.l) N.S.

Entre 3,4 y 5: X^2_{exp}=2.11 (1 g.l) N.S.

Test final: X^2_{exp}= 250.15 (4 g.l) $P < 0.001$.

Tabla 34.

GRUPO CITOLOGICO 0

NUMERO DE NUCLEOLOS

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO	0	1	2	3	4	5	6	Total
1	16	79	5	-	-	-	-	89
2	4	74	22	-	-	-	-	118
3	25	60	9	-	-	-	-	84
4	19	63	18	-	-	-	-	99
5	9	75	16	-	-	-	-	107

Tabla 35.

GRUPO CITOLOGICO 1

NUMERO DE NUCLEOLOS

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO	0	1	2	3	4	5	6	Total
1	1	88	9	2	-	-	-	112
2	50	42	6	1	1	-	-	61
3	1	66	31	2	-	-	-	134
4	25	64	10	1	-	-	-	87
5	1	82	15	2	-	-	-	118

Tabla 36

GRUPO CITOLOGICO 2

NUMERO DE NUCLEOLOS

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO	0	1	2	3	4	5	6	Total
1	2	74	20	4	-	-	-	126
2	6	77	16	1	-	-	-	112
3	5	71	24	-	-	-	-	119
4	3	73	22	2	-	-	-	123
5	7	62	27	4	-	-	-	128

Tabla 37

GRUPO CITOLOGICO 3

NUMERO DE NUCLEOLOS

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO	0	1	2	3	4	5	6	Total
1	-	71	22	6	1	-	-	138
2	4	46	31	16	2	1	-	169
3	-	73	19	6	2	-	-	137
4	-	95	5	-	-	-	-	105
5	-	51	31	13	5	-	-	172

Tabla 38

GRUPO CITOLOGICO 4

NUMERO DE NUCLEOLOS

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO	0	1	2	3	4	5	6	Total
1	-	65	33	2	-	-	-	137
2	2	60	26	7	4	2	-	159
3	-	86	14	-	-	-	-	114
4	-	55	41	4	-	-	-	149
5	1	92	5	2	-	-	-	108

Tabla 39

GRUPO CITOLOGICO 5

NUMERO DE NUCLEOLOS

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO	0	1	2	3	4	5	6	Total
1	-	72	24	4	-	-	-	132
2	-	74	26	-	-	-	-	126
3	-	59	32	8	1	-	-	151
4	-	58	35	6	-	-	-	151
5	-	74	23	2	-	1	1	131

Tabla 40

GRUPO CITOLOGICO 6

NUMERO DE NUCLEOLOS

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO	0	1	2	3	4	5	6	Total
1	-	38	35	23	4	-	-	193
2	-	27	52	12	7	2	-	205
3	-	89	9	2	-	-	-	113
4	-	69	25	6	-	-	-	137
5	-	53	39	7	1	-	-	156

Tabla 41.

GRUPO CITOLOGICO 7

NUMERO DE NUCLEOLOS

NUMERO DE ORDEN DE GRUPO	0	1	2	3	4	5	6	Total
1	-	34	36	20	9	1	-	207
2	-	21	44	26	7	3	-	230
3	-	25	41	24	8	2	-	221
4	-	85	15	-	-	-	-	115
5	-	39	36	14	9	2	1	205

V. DISCUSION

V.1. FACTORES CLINICOS

El estudio estadístico de los parámetros clínico-patológicos y reproductivos (cuyo valor quedó cumplidamente detallado en los correspondientes capítulos de la introducción) en nuestra casuística no han aportado ningún dato de significación al contrastarlos con las categorías citológicas de malignidad: no se muestran, por tanto, útiles para corroborar o rechazar las conclusiones que, respecto a la multiplicidad de factores intervinientes en la etiopatogenia del carcinoma mamario, hemos podido conocer a través de la bibliografía consultada. Unicamente, hemos detectado indicios de significación, respecto a la localización tumoral , apreciando como el cuadrante superoexterno suele ser, además de la localización preferente, la de peor pronóstico después de la axilar (ALDERSON y cols., 1.971; HUTTER, 1.980). Ninguno de los otros factores ha dado significación estadística, encontrándose sin embargo cierta tendencia a la misma por lo que a la duración de la lactancia materna se refiere. Tal vez en una casuística más amplia, pudiera confirmarse el valor protector que a éste parámetro se le concede, de forma casi unánime en la literatura especializada, como ya indicábamos en el capítulo de parámetros reproductivos.

Probablemente, como afirman FISHER y cols., (1.984) y ROSEN y cols. (1.982), son necesarias series muy amplias y bien documentadas para confirmar, ó comprobar de modo fehaciente el indudable valor pronóstico de factores tan prominentes en la clínica del cáncer mamario

como: 1º. tamaño tumoral (FISHER y cols., 1.969; SAIGO y cols., 1.981; KEMENY y cols., 1.982; HAYBITTLE y cols., 1.982; PALMER y cols., 1.982; CLARK y cols., 1.983; FISHER y cols., 1.984...), 2º. status ganglionar (BERG, 1.966; FISHER y cols., 1.975; MAMBO y cols., 1.977; FISHER y cols., 1.977-1.978; CLARK y cols., 1.983; LEE, 1.984), parámetro que, sin embargo, va perdiendo capacidad predictiva con el transcurso del tiempo (BAUM y cols., 1.980); la invasión de los vasos linfáticos eferentes es brindada, como alternativa pronóstica al número de nódulos infiltrados, por HARVEIT y cols., 1.980, MAEHLE y cols., 1.984, que a su vez lo correlacionan con el área nuclear media de las células tumorales. 3º. receptores hormonales (KNIGHT y cols., 1.977; RICH y cols., 1.978; GODOLPHIN y cols., 1.981; ADAMI y col., 1.984; BYRON y cols., 1.984; PASCUAL y cols., 1.985...) 4º. histogramas de ADN y cinética celular (AUER y cols., 1.980; STRAUS y col., 1.980; GENTILI y cols., 1.981; SILVESTRINI y cols., 1.985...) 5º. patrones de diseminación vascular y ganglionar (NIME y cols., 1.977; HARVEIT y cols., 1.980-81-83 y 84; MAEHLE y cols., 1.984...), 6º. mastopatía fibroquística (DAVIS y col., 1.964; FISHER y cols., 1.978; MAASS y col., 1.979; HAAGENSEN y col., 1.981...), 7º. historia familiar (WASSINK, 1.935; JACOBSEN, 1.946; PENROSE y cols., 1.948; ROBBINS, 1.975...) 8º. edad de la menarquia (ANDERSON, 1.972-1.974, PIKE y col., 1.984...) 9º. edad de la menopausia (ROSEN y cols., 1.982; BRINTON y cols., 1.982...), entre otros muchos factores de calificado valor pronóstico y predictivo

mencionados por diversos autores, siendo nuestra opinión de que estas investigaciones clínicas prospectivas, deben ir acompañadas por la búsqueda de parámetros inmunes y/o bioquímicos que puedan detectar precozmente, mediante determinaciones séricas, la aparición de un proceso carcinomatoso e iluminar los mecanismos íntimos de su génesis. Mientras tanto, clínicos y patólogos debemos trabajar coordinadamente, con toda la metodología tecnológica puesta a nuestro servicio (mamografía, ecografía, sonografía, TAC, microscopía electrónica, inmunocitohistoquímica, espectrofotometría, morfometría, ...) para conseguir un diagnóstico lo más temprano posible estableciendo así, precozmente, las medidas terapéuticas oportunas.

V.2. FACTORES MORFOMETRICOS

En lo que concierne a los parámetros morfométricos, seleccionados en el objetivo de nuestra tesis doctoral, hemos de afirmar suscintamente, que nuestros resultados estadísticos son similares a los detectados en la bibliografía especializada, si nos referimos al valor del tamaño nuclear; todos los autores consultados han establecido en sus series, correlaciones significativas entre este vector y la actividad mitótica, índice de celularidad, grado citohistológico, titulación de receptores hormonales, asi como indiscutible relación significativa respecto a los índices de recurrencia y supervivencia. Esta última correlación no nos ha sido posible determinarla de forma explícita en nuestra

casuística, debido al corto intervalo postmastectomía transcurrido, para las pacientes que la integran; no obstante, de forma tácita creemos que pueden inducirse de nuestros resultados las mismas conclusiones diagnósticas y pronósticas, que se han establecido en la literatura especializada respecto al poder discriminativo del tamaño nuclear.

No hemos encontrado en la bibliografía consultada ninguna valoración con idénticos propósitos, tomando como parámetros morfométricos de referencia el tamaño citoplasmático y nucleolar, a excepción de la correlación establecida por ANTONIADES y cols. (1979) entre tamaño celular y positividad a los receptores hormonales, de NEALON y cols.(1979) que lo relacionan con la actividad mitótica, y MIKUZ y cols. (1982) que relacionan el tamaño nucleolar con la tasa de actividad mitótica de la tumoración.

ZAJDELA y cols. (1979), relacionando el diámetro nuclear medio de las células tumorales, con los índices del período libre de enfermedad y supervivencia, encuentran que estos valores son, significativamente más altos, en pacientes cuyas células tumorales, presentasen un pequeño diámetro nuclear medio. Asi mismo, BOON y cols., (1982), afirman que los tumores con grandes núcleos, intensa anisocariosis y gran variación del C/N, gozan de peor pronóstico. Estos datos, apoyarían nuestros resultados por lo que al tamaño nuclear se refiere, comprobándose en nuestra casuística, (al igual que en la de STENKVIST y cols. 1981) que el tamaño

nuclear de las células tumorales se correlaciona, aparentemente, con los grados citológicos de diferenciación tumoral. Parece muy posible, a la luz de estos datos, establecer grados citohistológicos de diferenciación tumoral basándonos en métodos morfométricos, como se desprende de los resultados estadísticos de nuestra casuística; éstos corroboran, en alguna medida, los estadíos de malignidad establecidos en base a la evaluación de parámetros puramente cualitativos (densidad cromatínica, alteraciones de la membrana nuclear, macronucléolos, overlap...).

ANTONIADES y cols. (1979) los parámetros citomorfométricos de mayor valor pronóstico en estadío clínico I son: 1º tamaño celular, $p < 0.001$; 2º índice mitótico $p < 0.001$; 3º tamaño nuclear $p < 0.05$. Hemos de decir, contrastando nuestros resultados con los de los restantes autores, que efectivamente hemos observado en el examen microscópico de nuestra serie, cómo a medida que se incrementaba el grado citológico de malignidad, los parámetros referidos aumentaban ostensiblemente detectándose un elevado número de figuras mitóticas que en citología no es tan frecuente observar como en preparaciones histológicas.

El valor de la morfometría estadística selectiva, es enfatizado por BAAK y cols. (1982-1984) afirmando que constituye un excelente método de selección de pacientes para quimioterapia. En el año 1981, BAAK -ardiente defensor de la morfometría selectiva y autor prolífico en esta materia- y cols., conceden relativa

especificidad pronóstica a los estadíos clínicos (TNM) y por consiguiente, al tamaño tumoral y grado de implicación ganglionar en los que se basa dicha clasificación. Compartimos con estos autores la opinión de que el valor predictivo de dichos parámetros clínico-patológicos se encarecería probablemente, combinándolos con la evaluación conjunta de variables morfométricas. Postura que avalan, en nuestro caso concreto, los resultados estadísticos obtenidos mediante el análisis de la casuística, sustrato de nuestra investigación morfométrica.

Otros autores, que resaltan la buena correlación - de cara al diagnóstico y pronóstico - del tamaño nuclear (área nuclear media) son CORNELISSE y cols. (1981), al afirmar que el pronóstico de la enfermedad, se encarece con la evaluación de este parámetro, observándose a medida que disminuye el área nuclear media cómo el grado de implicación ganglionar también disminuye, siendo nulo en aquellos tumores cuyas áreas nucleares exhiban valores pequeños. Hipótesis, que tiene visos de verosimilitud, aunque en nuestra casuística ambos parámetros no muestran relación significativa. Tal vez en series muy amplias, como citan diversos autores, esta relación pueda establecerse de forma más clara.

MAEHLE y cols. (1982) estiman que el área nuclear media (que se correlaciona significativamente con el grado histológico de diferenciación) posee un gran valor discriminatorio por lo que se refiere a la tasa de supervivencia á los cinco años postmastecto-

mía; su valor pronóstico se encarece, cuando se estudian de forma conjunta el área nuclear media y el grado histológico, desde el punto de vista estadístico. Ambos parámetros mostraban una calidad similar durante los cinco primeros años, pero transcurrido este periodo, el área nuclear media conservaba mayor valor predictivo. Las pacientes fueron estratificadas en tres grupos -de acuerdo con el área nuclear media de sus células tumorales- observandose cómo a medida que se incrementaba ésta, disminuia la tasa de supervivencia, siendo las diferencias entre los tres grupos altamente significativas. Estudiando en ésta ocasión, la relación entre la topografía de las células metastásicas y el área nuclear de las células tumorales primarias, se observó que cuanto mayor era ésta, más notoria era la invasión de vasos linfáticos eferentes por las células metastásicas (MAEHLE y cols., 1.982). Siguiendo con su linea de investigación, en el año 1.984 MAEHLE y cols. establecen como parámetros pronósticos de gran fiabilidad, durante un período de cinco años el área nuclear media, grado histológico, "EVI status" y tamaño de la tumoración.

Una matización a todo lo reseñado previamente, es aportada por Van BOGAERT y cols., (1.980) que, aún estando de acuerdo con que el diámetro nuclear de las células tumorales, y por lo tanto su área, guarda relación con lo índices de recurrencia y supervivencia y con parámetros clínico-patológicos (tales como el grado de implicación ganglionar y estadío clínico)

añaden que, a pesar de constituir un importante rasgo pronóstico, el área nuclear media no es un indicador muy específico de la conducta temprana del carcinoma mamario: tumores de grandes nucleos, mostraron en su casuística relaciones inversas con el grado de implicación ganglionar, fenómeno que también hemos advertido en nuestra serie de pacientes. Dada la heterogeneidad del patrón de crecimiento tumoral, esta opinión nos parece sensata y a tener en cuenta.

El tamaño nuclear de las células tumorales parece guardar una buena correlación con el grado de actividad proliferativa-mitótica, tal como afirman MIKUZ y cols., 1.982; a mayor tamaño nuclear (que probablemente es una consecuencia de los valores anormales de ADN) la velocidad reproductiva de las células tumorales se incrementa, determinando un patrón agresivo y anárquico de proliferación y propagación tumoral. En este sentido se manifiestan FOSSA y cols., (1.982), al afirmar que el área nuclear media de células pertenecientes a tumores diploides es menor que la de las pertenecientes a carcinomas aneuploides, mediante la comparación de histogramas de ADN y morfometría nuclear. Relacionándolo con los estadíos clínicos, encontraron una mayor proporción de tumores aneuploides en estadíos clínicos avanzados, observación compartida por: MEYER y col., (1.977) FALLENIUS y cols., 1.983; EWERS y cols., (1.984) HEDLEY y cols., (1.984) THORUD y cols., (1.986) Por otra parte, la relación entre anaplasia y necrosis tumoral, que intuitivamente establecemos los patólogos,

es confirmada por métodos estadísticos en la comunicación de Mc DIVITT y cols., (1.986) al encontrar buena correlación entre necrosis tumoral, pobre diferenciación citológica, aneuploidia y valores intermedios de células en fase S. Observaciones coincidentes con las de OLSWZESKI y cols., (1.981). Concatenadamente, se han establecido relaciones significativas entre grado citológico de diferenciación y tasas de recurrencia y supervivencia: (BLACK y col., 1.957; FISHER y cols., 1.980; ROSE y col., 1.982; SEARS y cols., 1.982; BAUER y cols., 1.983). Siguiendo el hilo argumental en nuestros resultados hemos detectado relaciones significativas entre grado citológico de la tumoración, desde una perspectiva cualitativa, y valores morfométricos (cuantitativos) no siendo muy aventurado adelantar la hipótesis de que también pueda detectarse, con el transcurso del tiempo, en nuestra casuística una correlación similar entre parámetros morfológicos y tasas de recaida y supervivencia.

No hemos encontrado ninguna publicación que relacione los tamaños citoplasmáticos y nucleolares con las tasas de recaída y supervivencia, correlación que basándose en análogas investigaciones (como ya hemos mencionado) si se han establecido tomando el tamaño nuclear como patrón de referencia.

Excluyendo la comunicación de FOSSA y cols., (1.982) no hemos hallado ninguna publicación que relacione parámetros morfométricos con variables espectrofotométricas, aunque nos parece muy sugestiva su relación desde

un punto de vista teórico. Parece ser, que los tumores aneuploides (hiper-hipodiploides) son los que gozan de peor comportamiento biológico (AUER y cols., 1.980; EWERS y cols., 1.984).

En el primer caso, la amplia dispersión a la derecha de los valores de ADN en los histogramas correspondientes, y la ausencia de picos modales podrían traducirse, morfológicamente, en la aparición de grandes nucleos anaplásicos. Sin embargo, no podemos olvidar que en los procesos mitóticos de las células malignas, el reparto ecuacional del material cromosómico en la metafase es muy atípico; como consecuencia emigran hacia los polos bipolares ó multipolares del huso acromático, un número variable de cromosomas hijos. Este proceso anárquico determina la aparición de células de enormes núcleos (hiperdiploides, hipertetraploides), pero también surgen elementos celulares dotados de escaso material cromosómico (hipodiploides) y pequeños núcleos celulares. El estudio citogenético que hemos efectuado en alguno de los casos analizados, no han proporcionado resultados satisfactorios con vistas al pronóstico.

Insistimos en que siempre se efectuó el análisis mediante cultivo a corto plazo, para evitar desviaciones que podrían surgir por la preponderancia de un clon determinado. Los hallazgos fueron anárquicos; aneuploidías en uno u otro sentido, fracturas y delecciones cromosómicas, algún dicentrismo, pero siempre sin

constancia significativa y sin la aparición de un cromosoma marcador.

La buena correlación entre porcentaje de células en fase S e índice mitótico existente entre células normotípicas, se devalúa en el caso de células malignas encontrándose, tan solo, una moderada correlación en términos estadísticos (Mc DIVITT y cols. 1986); creemos que la anarquía reproductiva de los tumores malignos determina, que muchas células entren en actividad mitótica sin haber reduplicado su contenido de ADN, tal como ocurre en la segundo división meiótica (aneuploidia hipodiploide). A la inversa, numerosos elementos celulares entran en fase S no sufriendo posterior división mitótica (aneuploidia hiperdiploide-tetraploide); factores a tener en cuenta, y que no hemos detectado en la bibligrafía consultada.

Mc DIVITT y cols. (1986) al encontrar solo una moderada correlación entre ambos parámetros, proponen una clasificación tumoral basada en la ploidía y en el porcentaje de células en fase S, no valorando el índice mitótico; esta postura nos parece discutible porque la información codificada en la secuencia de los oncogenes, será la responsable de la conducta biológica impredecible de cada célula o clon celular; primando en unos casos la fase de síntesis (con variable o escasa actividad mitótica) mientras en otros tipos celulares la distinta información genética, puede ocasionar una preponderancia de la fase M sobre la fase S. El caos biológico que se deriva de ambos extremos,

incluyendo la amplia gama de situaciones intermedias, nos dibujan un panorama dantesco cuya comprensión a largo plazo está sin duda en el campo de la biología molecular. Estas complejas anomalías son especialmente evidentes en los tumores muy anaplásicos (**grupo siete de nuestra casuística**) determinando notables alteraciones en el tamaño, forma y apetencia cromática nuclear, a lo que va unido una evidente actividad mitótica, patente en preparaciones citológicas donde este hallazgo es mucho menos frecuente que en secciones histológicas, debido a la rápida degeneración y necrosis sufrida por las células en división al ser aisladas, bien por punción-aspiración ó por impronta. Al analizar los parámetros morfométricos de éstas células anaplásicas, es lógico obtener una enorme varianza entre los valores nucleares de los diversos elementos celulares que integran estas tumoraciones indiferenciadas, dando lugar a resultados estadísticos muy dispersos; esta varianza solapa, de forma evidente, la significación estadística que surgiría del análisis comparado múltiple de los parámetros nucleares de este grupo de carcinomas con los de otros grupos mejor diferenciados. Este fenómeno, como ya expusimos en nuestro resultado, originó la aparición de dos categorías únicas de malignidad en los análisis comparativos múltiples: 1º. la formada por los grupos 0 al 6, 2º. grupo 7, no detectándose diferencias significativas entre los casos de los 6 primeros grupos, aunque sí eran muy notables entre éstos y los del "atípico" grupo 7.

Este solapamiento fue contrarrestado excluyendo al grupo 7 del análisis logístico obteniéndose, de este modo, diferencias significativas entre los diversos grupos y observándose un incremento significativo y paulatino (con inversiones entre los grupos 1-2 y 4-5, probablemente debidas a la multiclonalidad de la población celular) de los valores promedios de superficie.

En el extremo opuesto del espectro citológico de malignidad es lógico, como afirman BRUCE y cols., (1.979) no encontrar diferencias estadisticamente significativas entre lesiones benignas (hiperplasias ductales con diferentes grados de atipia) al compararlas, entre sí, y con carcinomas ductales infiltrantes de bajo grado de malignidad citológica. La varianza en este caso, de las áreas nucleares es mínima, determinando la aparición de grupos estadísticamente homogéneos con nulas o discretas diferencias significativas, como ya vimos en nuestros resultados. En este punto del espectro, los análisis tanto citomorfométricos como espectro fotométricos no han obtenido, hasta el momento, resultados satisfactorios para poder establecer claramente categorías diagnosticas y pronósticas diferenciadas. Como consecuencia muchos autores: AUER y cols., (1.980) BEDROSIAN y cols., (1.981) DESPHANDE y cols., (1.983) entre otros autores, niegan relevancia diagnóstica y pronóstica, desde una perspectiva global, a los métodos espectrofotométricos aconsejando su utilización para la orientación diagnóstica, pronóstica y terapeútica

en pacientes individuales.

Aunque no exentos de razón, opinamos que dichas posturas pecan de excesivo radicalismo. Los avances tecnológicos en estos campos se suceden de forma rápida siendo posible en un futuro próximo, el logro de un mayor grado de refinamiento y precisión de estos métodos diagnósticos. Todo ello, combinado con el estudio de series muy amplias dotadas de controles rigurosamente seleccionados, podran alcanzar resultados más específicos y satisfactorios para el conocimiento de la historia natural del cancer de mama, y sus diferentes estadios evolutivos.

Otra cuestión controvertida, la constituye el análisis comparativo morfométrico de las areas nucleares medias de células tumorales primarias, e idénticos valores de las células componentes de los depósitos metastasicos nodales. ZAJDELA y cols., (1.985) midiendo el área nuclear media en células de carcinomas primarios y en las pertenecientes a las metástasis ganglionares afirman, como conclusión de su estudio, que los valores morfométricos de ambas localizaciones guardan gran homogeneidad, lo que les lleva a sostener la teoria del carácter monoclonal del carcinoma mamario. Es posible que en carcinomas ductales infiltrantes de bajo grado, se pueda registrar esta homogeneidad entre las células de ambas localizaciones. bien pudiera suceder que un porcentaje variable de tumores presentasen una composición monoclonal predominante en términos relati-

vos, siendo probable que, inicialmente, un carcinoma mamario pueda tener caracter monoclonal. Opinamos, sin embargo, que en su posterior evolución biológica (como consecuencia de la anarquía del patrón reproductivo, la interacción con el sistema inmune y, en su caso, con la terapia citostática) aparecerán indefectiblemente varios clones celulares que entrarán en activa competencia.

A lo largo del proceso evolutivo, y como consecuencia de los factores citados, unidos a otros no bien conocidos ó incluso desconocidos, pueden surgir mutaciones que repercutirán, a su vez, sobre el patrón reproductivo con aparición de nuevos clones celulares (HEDLEY y cols., 1.984).La opinión sobre el caracter multiclonal del carcinoma mamario es compartida por una larga serie de prestigiosos especialistas en oncología(DEVITT, 1.971; ALBANO y cols., 1.979; VORHERR, 1.981; MIKUZ y cols.,1982; POULSEN y cols., 1.982; BICHEL y cols., 1.982; ADAMI y cols., 1.984; TOSI y cols., 1.985....)Por lo que la opinión de ZAJDELA y cols.,(1.985)nos parece muy discutible. Nuestra experiencia avala la teoría multiclonal, siendo frecuente que las localizaciones secundarias de un carcinoma de mama, ofrezcan un patrón morfológico con mayor grado de anaplasia y de actividad mitótica; el patrón arquitectural (determinado por el número de formaciones tubulares) se muestra, asimismo,más indiferenciado que en la localización primaria.

El valor de la morfometría selectiva como método diagnóstico y pronóstico, en el carcinoma de mama, es defendido,una vez mas, por KUENEN-BOUMESTER y cols.,(1.982)

que resaltan el enorme valor predictivo de parámetros nucleares utilizados en combinación con factores clínico-patológicos de establecida significación pronóstica (status nodal, tamaño, grado histológico...). Esta metodología permite la estratificación de las pacientes en diversas categorías pronósticas, utilizando un sistema de puntuación basado en la evaluación conjunta de los factores mencionados. En estos grupos pudo observarse cómo, a medida que aumentaba la puntuación asignada, la tasa de supervivencia disminuía así como el período libre de enfermedad; este sistema de puntuación afirman, es relativamente fácil de realizar rutinariamente en laboratorios de patología.

La integración de métodos morfométricos -con bienes de equipos adecuados y patólogos con experiencia- en servicios anatomopatológicos creemos que encarecería, como sostienen BAAK, (1.984) y COLLAN, (1.984) entre otros autores, el rendimiento y la calidad del proceso valorativo tanto diagnóstico como pronóstico y en definitiva terapeútico y curativo, que constituye indudablemente la finalidad última de nuestra especialidad.

La relación entre parámetros morfométricos nucleares (ANM) y positividad a los receptores hormonales, ha sido también estudiada. Como ya citábamos en el capitulo correspondiente de la introducción (parámetros pronóstico) concita gran unanimidad la positividad de éstos en el sentido de que a mayor titulación, mejor pronóstico respecto al intervalo libre de enferme-

dad y supervivencia (KNIGHT y cols., 1.977; RICH y cols., 1.978; GODOLPHIN y cols., 1.981; MASON y cols., 1.983; PASCUAL y cols., 1.985), así como mejor diferenciación histológica(FISHER y cols., 1.981; COULSON y cols., 1.984; ALANKO y cols., 1.984; BUTLER y cols., 1.985)

ANTONIADES y cols., (1.979) encontraron tres caracteres citomorfológicos, significativamente correlacionados con los valores del receptor estrogénico: indice de celularidad ($P < 0.001$), tamaño celular ($P < 0.05$), tamaño nuclear ($P < 0.05$); igualmente MOSSLER y cols., (1.982) correlacionan significativamente, y en proporción inversa, el area nuclear media de las celulas tumorales con la positividad a los receptores hormonales. En idéntico sentido se manifiestan GUAZZI y cols., (1.985) encontrando relación significativa entre: 1º. valores pequeños de ANM $P=0.011$, 2º. valores pequeños de perímetro nuclear $P=0.0015$, 3º. diametro nuclear máximo $P=0.034$, 4º. diámetro nuclear mínimo $P=0.008$, 5º. volumen nuclear $P=0.01$, y elevadas titulaciones de receptor estrogénico.

La elastosis tumoral en combinación con valores morfométricos nucleares, es para BAAK y cols., (1.984) un método predictivo idóneo para la predicción del status hormonal en pacientes mayores de 50 años, siendo en pacientes menores de esta edad, el área nuclear media celular la más importante variable pronóstica. El valor de la elastosis (ya referido en el capítulo de parámetros pronósticos) parece bastante inespecífico,

según las últimas publicaciones, por lo que no nos parece plausible que goce de tal cualidad predictora. En la serie de estos autores si parece mostrarla por lo que, en cualquier caso, la cuestión queda pendiente de ulteriores investigaciones. No obstante, la importancia del área nuclear media de las células tumorales es nuevamente enfatizada, concediéndosele gran valor pronóstico, también en el campo de los receptores hormonales.

En nuestra casuística no hemos podido establecer ningún tipo de correlación ya que en un elevado número de pacientes, no se habian realizado determinaciones hormonales.

Enlazando con el tema de los receptores hormonales CODEGONE y cols., (1.982) detectaron que cuanto mayor fuera el diametro nuclear medio de las células malignas y el índice de celularidad, la positividad al receptor de prolactina se incrementaba. Los tumores receptor prolactin-positivos se correlacionan con mayor grado de anaplasia, a la inversa que los receptores de estrógeno y progesterona. Así pues vemos cómo nuevamente, parámetros morfométricos gozan de importancia predictiva también para el receptor de prolactina; como vimos en el capítulo de parámetros pronósticos, su positividad constituía un signo de mal augurio, asociado generalmente a tumores anaplásicos (CODEGONE y cols., 1.981; HOLFKAMP y cols., 1.984).

A tesis contraria a la de ZAJDELA y cols.,

(1.985) llegan TOSI y cols., (1.985 al afirmar que el ANM de los depósitos metastásicos (es decir de los elementos celulares que los integran) muestra gran variabilidad siendo, globalmente, significativamente mayor que en la localización primaria. Una vez más, el valor de la morfometría para una más correcta tipificación y gradación cito-histológica, es ensalzado. De forma similar, a otros autores ya citados, señalan la importancia del análisis estadístico simultáneo de parámetros clínico-patológicos (tamaño, status nodal) y variables morfométricas. Estratificando a sus pacientes, según la implicación ganglionar, encontraron que los tumores nódulo negativos presentaban una población celular relativamente uniforme en sus parámetros morfométricos, especialmente el ANM con un valor de 31.8 μ^2 $\pm$ 1.08; los nódulo positivos mostraron una población heterogénea con una media aritmética de 35.4 μ^2 $\pm$ 14.83. Más concretamente en un subgrupo nódulo positivo, se detectó una enorme varianza de sus áreas nucleares: 41.7 μ^2 $\pm$ 16.6. Estos hallazgos son similares a los encontrados en el grupo siete de nuestra casuística.

Así pues, creemos que, aunque en principio puedan parecerlo, las opiniones de ZAJDELA y cols., (1.985) y TOSI y cols., (1.985) no son contradictorias. La primera, pudiera ser un signo de buen pronóstico clínico al comprobarse la homogeneidad de ambas poblaciones celulares, lo que hablaría a favor de una, relativamente, mejor respuesta inmune. Utilizando un eufemismo bélico, la mencionada uniformidad , pudiera ser expresión de que el sistema linfoide,

hasta esa observación al menos, ha logrado mantener la lucha concentrada en un sólo frente (monoclonal). La segunda, conllevaría un peor pronóstico indicándonos que el "frente" tumoral se ha dividido (policlonalidad) por una insuficiente ó inadecuada respuesta inmune en los tumores nódulos positivos.

Otra aportación al tema que estamos tratando, nos es brindada por Van DER LINDEN y cols., (1.986) En un estudio morfométrico de 234 carcinomas mamarios subdivididos en dos grupos: 1) carcinomas primarios no metastásicos 2) carcinomas mamarios metastásicos, se evaluaron diversos parámetros morfométricos nucleares (áreas, perímetros, ejes mayores y menores etc.) en 25 células de cada caso, determinándose también los mismos parámetros en las células metastásicas nodales. Las mayores desviaciones standard de los rasgos nucleares se encontraron en el grupo de carcinomas metastásicos y en sus depósitos ganglionares que presentaban , no obstante, una buena correlación estadística exceptuando el índice de ejes máximos y mínimos; sólo un subgrupo de pacientes metastásicas presentó nucleos elipsoides homogéneos tanto en la localización primaria como en la secundaria. El valor pronóstico de este dato, concluyen Van DER LINDEN y cols., (1.986) queda pendiente de ulteriores investigaciones. A la luz de lo aportado por ZAJDELA y cols., (1.985) TOSI y cols., (1.985) y nuestra personal experiencia, pensamos que supone un fenómeno morfométrico de buen pronóstico.

Una vez más vemos la enorme importancia

clínica que las investigaciones morfométricas pueden tener en la evolución del cáncer mamario; en este caso concreto el área nuclear y perímetro, por lo que tal vez, no resultaría muy aventurado predecir que las enfermas de nuestra casuística con valores promedios bajos, gozarán de mejor pronóstico que las restantes. Predición que trataremos de corroborar mediante el seguimiento de su evolución clínica.

Refiriéndonos de forma específica al perímetro nuclear, nuestros resultados estadísticos se muestran también satisfactorios observándose un aumento paulatino de su valor, a medida que lo hace el grado citológico de malignidad (con una inversión en los grupos 4 y 5) apreciándose valores diferenciales significativos entre todos ellos, $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$, a excepción de los grupos 0-3, 3-4, aunque mostrando valores mayores el grupo 3 con respecto al 0 y el grupo 4 con respecto al 3.

Resultados que se muestran coherentes con los datos bibliográficos, aunque utilizado -este parámetro- en menor medida como variable pronóstica y diagnóstica que el ANM. No obstante, de forma similar a lo comentado respecto al área nuclear, insistimos que este factor goza también de connotaciones diagnósticas y pronósticas destacables, con posibilidades de aportar elementos de valor en la evaluación global de la enfermedad.

Un rasgo citológico de malignidad obvia es

el pleomorfismo nuclear que (junto a otros ya mencionados en el capítulo clasificaciones del cáncer de mama) ha sido ampliamente reconocido como criterio cualitativo específico de malignidad en cualquier neoplasia maligna, integrándose en la mayoría de los sistemas de clasificación del carcinoma de mama (Bloom y cols., 1.957; Black y col., 1.957).

El equivalente morfométrico del pleomorfismo nuclear, viene dado por una irregularidad y una variabilidad de su configuración que en principio, serían susceptibles de ser medidos cuantitativamente por métodos morfométricos; esperando que de estas determinaciones pudiera surgir alguna correlación con la biología tumoral, ó incluso con el pronóstico de la enfermedad en pacientes individuales ó grupos de ellos.

El factor forma se ha mostrado de gran utilidad en la estratificación del carcinoma prostático (DIAMOND y cols., 1.982) estableciendo diversas categorías morfométricas en carcinomas, histológicamente indistinguibles, al dividirlos en dos grupos con diferentes implicaciones pronósticas en cuanto a la supervivencia. El parámetro utilizado fue el factor redondez confirmándose en series posteriores más amplias, su valor predictivo (DIAMOND y cols., 1.982). Así mismo ha mostrado gran sensitividad y especificidad en la clasificación de linfomas no Hodgkin (Van DER VOLK y cols., 1.983).

Sin embargo, una evaluación preliminar de la redondez nuclear en el cáncer de mama no dió resulta-

dos tan prometedores como en el carcinoma prostático, ya que la elipticidad nuclear originaba valores altos para el factor redondez en todos los casos (para lesiones benignas y malignas) disminuyendo así su capacidad discriminadora.

Por otra parte, el factor redondez no parece un descriptor muy sólido (YOUNG y cols., 1.974; TEICH y cols., 1.979). GSCHWIND y col., (1.986) evaluaron junto a éste, otros parámetros de forma: Cuatro de ellos median elipticidad, dos median concavidad, midiendo el último la energía deformadora ("bending energy") de un contorno. Estos diversos descriptores de forma se estudiaron basándose en el análisis comparativo de una muestra de 1.300 nucleos celulares, a los que se les trató de determinar su contorno utilizando los parámetros mencionados.

Los resultados fueron de gran ambigüedad observándose una gran dispersión, es decir escasa relación entre los diversos descriptores de forma. El factor redondez resultó ser el más sensible, dando siempre las medidas más altas de irregularidad, incluso cuando otro parámetro permanecía relativamente bajo. Por otra parte, es también el menos específico midiendo cualquier desviación de un círculo -incluyendo formas perfectamente elípticas - sin que esas desviaciones constituyan necesariamente una expresión de pleomorfismo nuclear. Aún más, puede dar valores similares en contornos, significativamente, diferentes. Reacciona de forma inespecífica ante grados crecientes de elipticidad que no afectan

a la energía deformadora, y también a las irregularidades que sí la afectan. Su valor es de 1.00 para un circulo perfecto, aumentando su valor a medida que la circularidad sufre desviaciones ó irregularidades (como ya habíamos citado) no dando información sobre el tipo de irregularidad que se presenta. Los diversos parámetros de elipticidad se obtienen empleando algoritmos diferentes y dan estimaciones distintas de la elipticidad de un mismo contorno, incluso cuando el contorno a medir es, en sí mismo, una elipse. Los factores que determinan la concavidad (PCAF y PARIS) dan resultados a menudo muy diferentes para un mismo contorno, mientras que la energía deformadora no resulta de gran especificidad, ya que hay formas con una elevada energía deformadora que no son muy pleomórficas. (La energía deformadora viene definida por la energía necesaria para deformar un circulo).

GSCHWIND y cols., (1.986) concluyen –después de comparar los diagramas de los diferentes descriptores, y los contornos individuales– que se encontró una creciente especificidad para el pleomorfismo nuclear, es decir irregularidades del contorno, por el orden siguiente: factor redondez, factores de elipticidad, energía deformadora y factores de concavidad.

Ante estos resultados, algo desalentadores, hemos estimado oportuno elegir, como ya comentamos, entre los diversos descriptores de forma el que viene definido por el índice de circularidad. Este índice es independiente del tamaño, correspondiendo un valor

de 1.0 a circulo perfecto, disminuyendo este valor a medida que se altere la circularidad del nucleo (SIGAUX y cols., 1.984) aumentando la irregularidad.

TOSI y cols., (1.984) estudiaron en su materialel factor forma (junto a otros parámetros ya citados) no encontrando variaciones significativas que se correlacionaran con los valores del ANM de las células tumorales de su casuística; por lo que no conceden valor predictor a este parámetro en su serie de carcinomas mamarios. Similares conclusiones obtienen Van DER LINDEN y cols., (1.986) en su estudio morfométrico multivariado, no detectando diferencias significativas en lo que al factor forma concernía.

Nuestros resultados son coincidentes con los precedentes. No obstante, de forma discreta pero clara, se aprecia una ligera disminución de los valores medios con inversiones (grupos 6-7) y excepciones notables (grupo 3) al compararlo con los grados citológicos de malignidad. Los resultados del análisis morfométrico estadístico de este parámetro proporcionan una escasa variación del índice de circularidad (aunque observándose cómo éste disminuye ligeramente a medida que se incrementa el grado de malignidad) confirmándose su escasa relevancia pronóstica análogamente a lo registrado, hasta el momento, en la bibliografía de carcinoma mamario consultada. Son precisas investigaciones ulteriores en este sentido, que puedan aportar algún criterio diagnóstico y/o pronóstico para el carcinoma de mama respecto al análisis de este parámetro; tal vez mediante

el desarrollo de nuevos descriptores formales, exentos de los inconvenientes que presentan los aparecidos hasta ahora con valores de sensibilidad y especificidad divergentes, y escasamente complementarios, para la correcta tipificación de un contorno nuclear -ó grupos de ellos- determinado.

En todo proceso neoplásico maligno, la aparición de genes mutantes u oncógenes supone la pérdida del patrón de crecimiento y diferenciación normotípico, produciéndose una serie de alteraciones funcionales y estructurales, a nivel de todos los componentes celulares, con su consiguiente traducción morfológica. Estas alteraciones morfológicas afectan de forma significativa a las tres estructuras básicas de la célula: núcleo nucléolo y citoplasma.

Al núcleo ya nos hemos referido ampliamente habiendo podido contrastar, tanto en la bibliografía especializada como en nuestra casuística, que en el transcurso del proceso cancerígeno sufre relevantes cambios cualitativos y cuantitativos, que gozan de su correspondiente connotación pronóstica y diagnóstica en la clínica del cáncer mamario.

Respecto al nucleólo, hemos encontrado muy escasas citas bibliográficas que le asignen un valor diagnóstico y pronóstico desde el punto de vista morfométrico (cuantitativo); sin embargo, es notorio que en el curso de un proceso cancerígeno, esta estructura diferenciada nuclear sufre patentes alteraciones en

el tamaño forma y número, que analizadas por métodos morfométricos, podrían dar resultados significativos aplicados a la conducta bio-clínica de la enfermedad.

El nucléolo es una organela de enorme importancia biológica dado que constituye la sede de funciones biosintetizadoras, tan relevantes como la elaboración de los diversos precursores ribosómicos que, tras un proceso de compleja transformación secuencial dentro del nucléolo, dan lugar a la aparición de subunidades ribosómicas mayores y menores que atraviesan la membrana nuclear penetrando en el citoplasma; en este lugar finaliza el proceso madurativo de los ribosomas que, ensamblados ó no a la superficie externa de las cisternas y vesículas del RE, aseguran la sintesis de innumerables sustancias proteicas engarzando a los aminoácidos en un orden predeterminado (proteo-génesis). Función de gran trascendencia en el proceso de crecimiento y diferenciación celular(ALBERTS y cols., 1.986).

La sede de este complejo mecanismo radica especificamente en los llamados "organizadores nucleolares", bucles de cromatina dotados de genes con información codificada para la sintesis de ARN ribosómico, que se localizan en segmentos cromosómicos específicos de los pares 13, 14, 15, 21 y 22, así como en los genes "ARN 55" a nivel del par 1. Estos bucles de ADN mediante una peculiar disposición, configuran la estructura nucleolar que parece estar construida por la asociación específica y distintiva de los diversos precursores ribosómicos;

resultado de la transcripción por las ARN polimerasas, de la información codificada en los genes responsables de la sintesis de los diversos ARN ribosómicos: **"genes ARN r"** . Estos precursores son "almacenados" en el nucléolo -conformando su arquitectura- unidos a diversas proteinas de variada estructura provenientes del citoplasma, iniciándose el proceso transformador, antes mencionado, que culminará con la emigración de los "ribosomas inmaduros" al citoplasma donde alcanzarán como ya expusimos su máxima funcionalidad.

Al M.E. se pueden distinguir en el nucléolo tres regiones parcialmente separadas 1) una zona debilmente contrastada que corresponde al DNA constituyente de la **región organizadora nucleolar** 2) una zona de apariencia granular con particulas de 150 Å de diámetro, que parece corresponder a los precursores ribosómicos más maduros, con afinidades tintoriales y polimorfismo similares a los de los ribosomas maduros 3) una zona fibrilar densa, compuesta por numerosas fibras de ribonucleoproteinas, con una longitud variable de 200 a 400 Å que vienen a representar las primeras transcripciones ARN (precursores inmaduros).

Resulta evidente que en aquellas células dotadas de gran actividad, es decir con elevada sintesis proteica, los nucléolos presenten un tamaño mayor que en otras con escasa sintesis en las que muchas veces no son perceptibles. Por otra parte, la presencia de un nucléolo funcional es imprescindible para que el ARNm pase del núcleo al citoplasma y para el desa-

rrollo normal de la mitosis provocando su alteración grave un bloqueo de las células en fase G_2.

En casos patológicos (debido a que parece existir un mecanismo de inhibición por retroalimentación entre ribosomas citoplasmáticos-nucléolo en condiciones eucarióticas) el tamaño forma y número de los nucléolos aumenta en grado variable según la entidad del proceso causal. En el caso concreto del carcinoma mamario se observan nucléolos de diferentes tamaños y formas, según el grado de malignidad citohistológica, con aparición de células poliploides, mitosis anormales, citodiéresis atípicas ó ausencia de éstas... observándose al ME una segregación de sus componentes, con aparición de imágenes toscas del mismo, que también en carcinomas anaplásicos puede observarse al microscopio óptico.

En nuestra casuística hemos detectado alteraciones significativas en cuanto al tamaño, forma, número y apetencia cromática de éstos, probablemente por el desequilibrio entre proteinas ácidas e histonas.

Después del análisis estadístico de los parámetros nucleolares seleccionados, nuestra impresión de que había un incremento cuantitativo de dichos criterios a medida que aumentaba el grado citohistológico de malignidad, se ha visto confirmada detectándose diferencias significativas entre los distintos grupos de malignidad citológica. Concretamente, por lo que respecta al área se observa una gradación ascendente de los valores

mencionados a medida que avanzamos del grupo 0 al 7 (con la excepción de una inversión a nivel de los grupos 5-6) siendo el resultado estadístico global muy significativo: $P < 0.001$.

Refiriéndonos al perímetro nucleolar, son evidentes las mismas variaciones con un valor estadístico global, igualmente de $P < 0.001$, aumentando los promedios a medida que avanzamos en la escala de malignidad celular.

Por último, el número de nucléolos registra una progresión ascendente observándose una variación muy significativa $P < 0.001$, al comparar estadísticamente los 40 casos entre sí, así como al comparar, entre ellos, los 8 grupos resultantes de la estratificación de los 40 individuos: $P < 0.001$.

La tesis de MIKUZ y cols., (1982) respecto al valor pronóstico del tamaño nucleolar es confirmada por nuestros resultados, lo que por otra parte, a la luz del papel decisivo jugado por el nucléolo en el funcionamiento celular, resulta muy coherente desde el punto de vista biológico. Estos han sido los únicos autores, encontrados en la bibliografía consultada, en asignarles un valor pronóstico al tamaño de estas organelas nucleares, correlacionándolas con la actividad mitótica. La importancia del ritmo de división celular en la clínica del cáncer mamario, y consecuentemente las implicaciones diagnósticas y pronósticas que de ello se derivan, es algo que creemos haber demostrado

ampliamente. Del valor clínico que el número nucleolar pueda tener, en la evolución del proceso neoplásico, no hemos detectado ninguna comunicación previa al respecto. Estimamos que este parámetro, a la vista de nuestros resultados estadísticos, puede afianzarse como un factor discriminativo de gran valor diagnóstico y pronóstico.

CITOPLASMA

El citoplasma de las células, al igual que los restantes componentes básicos, sufre profundas alteraciones en el curso de un proceso neoplásico maligno. La pérdida de la funcionalidad intracelular e intercelular armónica (como consecuencia de los cambios en los mecanismos reguladores normales tanto de activación como de inhibición) determina profundas lesiones a nivel citoplasmático con aparición de procesos degenerativos a nivel de las diversas estructuras que lo conforman: tumefacción turbia de las vesículas y cisternas del R.E. con hipertrofia e hiperplasia de las mismas; fenómeno que también se detecta a nivel del aparato de Golgi y del sistema mitocondrial; síntesis acelerada de proteínas debido a la pérdida de la coordinación núcleo-citoplasmática y de los mecanismos de retroalimentación que la regulan. Asi, se produce un aumento en la síntesis de ARN a nivel nuclear lo que repercute en una síntesis exacerbada de sustancias proteicas, especialmente a cargo de los ribosomas, pero también a otros niveles. La traducción morfológica de esta cadena fenomenológica se caracteriza, en estadíos tempra-

nos, por una variación de la textura y tamaño citoplasmático con alteraciones de su apetencia cromática.

En una segunda fase se observan fenómenos degenerativos, fundamentalmente, de tipo micro-macrovacuolar.

El C.N/C se altera, no sólo por el aumento (ó disminución en algunos casos) del volumen nuclear, sino también por fenómenos similares a nivel citoplasmático; es característico en tumores anaplásicos el hallazgo, no tan sólo de núcleos voluminosos y deformes, sino también de citoplasmas enormes con formas a veces caprichosas, que muestran fenómenos degenerativos manifiestos con notoria desflacación de la membrana citoplasmática, que se aprecia "deshilachada" con contornos vagos e imprecisos. De este signo morfológico son responsables, probablemente, las profundas alteraciones a nivel de la envoltura celular con pérdida de sus funciones protectoras eucarióticas, que se traducen morfológicamente en un aumento de su espesor en períodos iniciales. Funcionalmente se detectan alteraciones de la migración electroforética, aparición de antígenos embrionarios, pérdida de los antígenos normales de histocompatibilidad disminución de la adhesividad mutua... Fenómenos inespecíficos que pueden darse en diversas situaciones patológicas, pero que cuando van acompañados por criterios específicos de malignidad, refuerzan su carácter patológico maligno.

La aglutinación (overlap) de las células cancerosas en períodos iniciales ó en carcinomas de

bajo grado, es una consecuencia también de las alteraciones de la envoltura celular; signo morfológico que va acompañado ó francamente sustituido (en tumores pobremente diferenciados) por pérdida manifiesta de la cohesión celular, debido a un aumento de las cargas negativas (con incremento de la velocidad de migración electroforética) ó por una disminución de las fuerzas de atracción como consecuencia de la disminución del calcio intracelular (MAILLET, 1.983).

Asi mismo la pérdida de factores de adhesividad sea debida, posiblemente, a la pérdida de glucoproteinas especializadas activadas por calcio . Estas proteinas especializadas constituyen también el soporte de los diversos antígenos de la superficie celular, indispensables para el reconocimiento mutuo entre los elementos celulares. En condiciones favorables inmunes , este mecanismo de reconocimiento, puede servir para la eliminación de las células cancerosas y de hecho en la mayoría de los casos así debe ocurrir según la teoría del cáncer.

El citoplasma representa un marcador de diferenciación celular siendo razonable que sus alteraciones morfológicas nos indiquen en un proceso oncogénico la magnitud de éste, pudiendo constituir un predictor fiable del curso de la enfermedad con capacidad discriminativa, tanto cualitativa como cuantitativa.

Esta posibilidad predictiva parece ganar visos de verosimilitud a la luz de los resultados estadísticos del análisis morfométrico efectuado (basándonos

en los parámetros citoplasmáticos seleccionados (área y perímetro) de nuestra casuística.

Examinando las tablas 20, 21, 22 y 23 y las gráficas 1 y 2 se pueden observar diferencias cuantitativamente significativas, entre las diversas categorías diagnósticas, con valores de $P < 0.001$ entre todos los grupos y dentro de ellos.

En la bibliografía consultada no hemos hallado ningún trabajo que estudie, específicamente, por métodos morfométricos el citoplasma celular con la salvedad de que ANTONIADES y cols., (1.979) consideran el tamaño celular global como un discriminante significativo correlacionado, en proporcionalidad directa, con el patrón de crecimiento tumoral y el estadío clínico: $P < 0.001$.

Sin embargo, las referencias bibliográficas concediéndole al vector citoplasmático un valor poco específico, desde un punto de vista diagnóstico y pronóstico en citología mamaria, han sido varias (BRUCE y cols., 1.979; TORRES y cols., 1.981) entre otros, debido a que tanto por punción-aspiración como por impronta, el material celular sufre un proceso degenerativo rápido, que le hace perder especificidad como parámetro diagnóstico y pronóstico. De ahí la importancia de una rápida y adecuada fijación de los frotis confeccionados por ambos métodos, siendo muy importante en el método de punción-aspiración, como señalan BRUCE y cols., (1.979) el lavado de la aguja, que va a emplearse, en suero salino fisiológico con el fin de conseguir

una mejor conservación del material celular. De este modo la calidad de los frotis se optimiza, pudiéndose valorar adecuadamente la importancia del vector citoplasmático tal y como se desprende de los resultados obtenidos en nuestra casuística para dicho vector, que se muestra altamente sensible y específicc para la estratificación morfopatológica en diversos gradientes de malignidad; consecuentemente se podran inducir, a partir de su valoración estadística, las correspondientes implicaciones diagnósticas y pronósticas ; insistimos, de gran calidad como marcador de diferenciación tumoral.

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1º.- Los valores morfométricos referidos al tamaño nuclear permiten discriminar, con significación estadística, tres grupos fundamentales que pueden relacionarse con el grado de malignidad citológica, definido por las alteraciones del patrón cromatínico. En el grupo de malignidad citológica más elevada, es posible, asimismo, establecer dos categorías morfométricas con diferencias estadísticas significativas.

2º.- El valor prognóstico del factor forma no presenta valores estadísticos relevantes de cara a la estratificación morfológica del carcinoma de mama. Se observan, sin embargo, algunas diferencias significativas entre los grupos de alta malignidad citológica al compararlos con los de baja malignidad.

3º.- Los valores morfométricos referidos al tamaño citoplasmático se muestran muy significativos, para la estratificación citohistológica del carcinoma mamario, permitiendo la discriminación de tres grupos de malignidad creciente, que pueden relacionarse con la diferenciación tumoral y constituir marcadores morfométricos de la misma.

4º.- Los valores morfométricos referidos al tamaño y número de nucleolos se muestran muy significativos, para la estratificación del carcinoma mamario, permitiendo discriminar cinco grupos citológicos de malignidad

creciente, que pueden relacionarse con la actividad biosintética celular y configurar marcadores morfométricos de la misma.

5º.- El análisis morfométrico aplicado al estudio citológico del carcinoma de mama permite, al establecer estadísticamente categorías de discriminación citológica, basadas en indicadores biométricos, llevar a cabo un diagnóstico diferencial de elevado rigor objetivo respecto de la malignidad y diferenciación tumoral originando, en general, escasos resultados artefactuales.

6º.- Sería de gran utilidad establecer, estadísticamente, patrones morfométricos sobre los distintos vectores celulares de diferenciación (núcleo, nucleolo y citoplasma) que permitan análisis comparativos válidos, de los diversos grados de malignidad morfopatológicos del carcinoma de mama, y el establecimiento automático de su pronóstico clínico.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. ADAMI, H.O. y cols. (1.978). Reproductive history of breast cancer. Cancer, 41: 747.

2. ADAMI, H.O. y cols. (1.980). Age at first birth, parity and risk of breast cancer in a Swedish population. Brit. J. Cancer, 42: 651.

3. ADAMI, H.O. y KILLANDER, D. (1.984).Prediction of survival breast cancer. Acta. Chir. Scand. Suppl. 519:25-34.

4. ADAMS, J. (1.801).
Observations on the cancerous breast. Consisting chiefly of original correspondence between the author and Dr.Baillie, Mr. Cline, Dr. Babington, Mr. Abernethy, and Dr. Stokes. Published by permission of the writers; with an introductory letter to Mr. Pitcairn. i,v, 151 pp., 1 pl. 8º. London, T. N. Longman and O. Rees.

5. ACKERMAN, V.L. y ROSAI, J. (1.983).
Patología Quirúrgica. 6ª ed. Panamericana, Buenos Aires.

6. AEGINA, P.
The seven books of Paulus Aegineta. Translated from the Greek ... by Francis Adams 3 vols. London. Sydenham Society. 1.844-47.

7. AHMED, A. (1.978).
Atlas of the Ultraestructure of human breast disease. Curchill Livingstone. New York.

8. ALANKO, A. y cols. (1.984). Correlation of estrogen and progesterone receptor and histological grade in human primary breast cancer. Ac. Patho. microbiol. inmunol Scand.Sect. A 92, 311.

9. ALBANO, W.A.; HANF, C.D. y ORGAN, C.H.Jr.(1.979). Natural history of limph-node-negative breast cancer. Surgery 86:574.

10. ALBERTS, B. y cols. (1.986). Biología molecular de la célula. Ed. Omega S.A. Barcelona.

11. ALDERSON, M.R.; HAMLIN, I. y STAUNTON, M.D. (1.971). The relative significance of prognostic factors in breast carcinoma. Br. J. Cancer. 25: 646.

12. AL-JURF, A.S., y cols. (1.981). Factors influencing survival in bilateral breast cancer. J. Surg. Oncol. 16:343

13. ANASTASSIADES, O.T., y cols. (1.982). Breast masses in young girls. Report five cases. Path. res. Pract. 174:85

14. ANAZAWA,S. (1.981). A clinicos-pathological study on scirrohous stromal infiltration in mammary cancer. Jikekay Med. J. 28:1

15. ANDERSEN, J.A. (1.974). Lobular carcinoma in situ. A long-term follow-up in 52 cases. Acta pathol. microbiol. Scand. Section A 82: 519.

16. ANDERSEN, J.A. (1.974). Invasive breast carcinoma with lobular involvement. Acta pathol. microbiol. Scand.

Section A, 82:719

17. ANDERSEN, J.A. (1.974). Lobular carcinoma in situ. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Section A, 82: 735.

18. ANDERSEN, J.A. (1.974). Lobular carcinoma in situ of the breast: An approach to rational treatment. Cancer 39: 2597.

19. ANDERSEN, J.A. (1.980). On the concept of carcinoma in situ of the breast. Pathol. Res. Pract. 166: 407.

20. ANDERSEN, J.A.y MATTHEIEM, W.H. (1.983). Markers an prognostic factors in breast cancer disease: Workshop report. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 19: 1699.

21. ANDERSON, D.E.; GOODMAN, H.O.; y REED, S.C. (1.958). Variables relates to human breast cancer. Univ. Of Minnesota Press.

22. ANDERSON, D. E. (1.971). Some chearacteristics of familial breast cancer. Cancer, 28: 1 500.

23. ANDERSON, D.E. (1.972). A genetic study of human breast cancer. J. Natl. Cancer. Inst. 48: 1029.

24. ANDERSON, D.E. (1.974). Genetics study of breast cancer. identification of a high risk group. Cancer, 34: 1090.

25. ANDERSON, D.E.(1.975). Familial and genetic predisposition to breast cancer. En risk factors in breast cancer. London.

26. ANDERSON, M.(1.981). Parity and breast cancer. Br. M.

J. 283: 6283.

27. ANDERVONT, H.B. y DUNTT, T.B. (1.953). Influences of heredity and the mammary tumor agent on the occurrence of mammary tumors in hybrid mice. J. Natl. Cancer. Inst. 14: 317.

28. ANTONIADES, K. y SPECTOR, H. (1.979). Correlation of estrogen receptor levels with histology and cytomorphology in human mammary cancer. Am. J. Clin. Pathol. 71: 497.

29. ARMSTRONG, B. y DOLL, R. (1.974). Enviromental factors and cancer incidence and mortality in different countries with special reference to dietary practicas. J. Cancer, 15: 617.

30. ASHIKARI, R. y cols. (1.974). A clinicopathologic study of atipical lesions of breast. Cancer, 33: 310.

31. ASHIKARI, R. y cols. (1.976). Breast cancer presenting as an axillary mass. Ann. Surg. 183: 415.

32. ASHIKARI, R. y cols. (1.970). Paget's diseate off the breast. Cancer, 26: 680.

33. ASHIKARI, R. y cols. (1.980). A clinico-pathologic study of atipical lesions of the breast further follow-up. Path. Res. Pract. 166: 481.

34. AUER, G.U.; CASPERSSON, T.O.; y WALGREN, A.S. (1.980). DNA content and survival in mammary carcinoma. Anal

quant. Cytol. 2: 161.

35. AUER, G. U. y cols. (1.980). Relationship between nuclear DNA distribution and estrogen receptors in human mammary carcinomas. Anal. Quant. Cytol. 2: 280.

36. AUER, G.U. y cols. (1.984). Prognostic significance of nuclear DNA content in mammary adenocarcinomas in humans. Cancer. Res. 44: 394.

37. AXCELSSON, J.; y ANDERSSON, A. (1.983). Cancer of the breast male. World. J.Surg. 7: 281.

38. AZZOPARDI, J.G. (1.979). Problems in breast pathology. In vol. 11 "Major problems in pathology". Saunders Co. Philadelphia.

39 AZZOPARDI, J.G. y cols. (1.982). The World organization Histological Typing of Breast Tumors. Second edition. Am.J. Clin. Pathol. 78: 806.

40. AZUA, J.L. (1.976). Diagnóstico citológico en patología mamaria. Ed. Espaxs.

41. BAAK,J.P.A.y cols. (1.981). Morphometry for prognosis predictions in breast cancer. Lancet ii 315.

42. BAAK, J.P.A. y cols. (1.982). Prognostic indicator in breast cancer. Morphometric methods. Histopathology, 6: 327.

43. BAAK, J.P.A. y PERSIJN, J.P. (1.984). In search for the best qualitative microscopical or morphometrical predictor of oestrogen receptor in breast cancer. Path. Res.

pract. 178: 307.

44. BAAK, J.P.A.(1.984). Basic points in and practical aspects of the application of diagnostic morphometry. Path. Res. Pract. 179: 193.

45. BAAK, J.P.A. y cols. (1.985). The value of morphometry to classic prognosticators in breast cancer. Cancer, 56: 374.

46. BAESSLER, R. (1.980). Pathologie Tumorformiger, Beuguer Erkrankungen der Brustdruse. Munch. Med. Wochenschr, 122: 1645.

47. BAESSLER, R. y KROSBEIN, H. (1.980). Diseminated lobular carcinoma. A predominantli pleomorphic lobular carcinoma of the male breast. Path. Res. Pract. 166: 456

48. BAESSLER, R ; DITTMANN, A.M. y DITTRICH, M. (1.981). Mononuclear stromal reactions in mammary carcinoma with special reference to medullary carcinomas with lymphoid infiltrate. Analysis of 108 cases. Virchows. Arch. Abt. A. Pathol. Anat. 393: 75.

49. BAILAR, J.C. (1.976). Mammography, a contrary view. Ann. Itern. Med.85: 77

50. BAIN, C.y cols. (1.981). Early age at first birth and decreased risk of breast cancer. Am. J. Epidemiol. 114: 705.

51. BAIREL, W. (1.953). Zur Frage der Mammacarcinom Manifestierung nach Cyren-B-Behandhung bein.Mam. Med. klin. 48:1284.

52. BARAL, E.; LARSSON, L.E. y MATTSON, B. (1.977). Breast cancer following irradiation of the breast. Cancer,40: 2905.

53. BARNES, J.P. (1.959). Bilateral lobular carcinoma of the breast: report of 2 cases. Tex. St. J. Med. 55:581.

54. BARON, J.A. (1.984). Maternal age and breast cancer risk. J. Natl. Cancer. Inst. 72: 6.

55. BAUER, K.H. (1.963). Das Krebsproblem Springer Verlag. Berlin.

56. BAUER, T.W. y cols. (1.983). Prognostic factors in patienst with Stage I estrogen receptors-negative carcinoma of the breast. A clinico-pathologye study. Cancer 52: 1423

57. BAUM, M.y COYLE, P.J. (1.980). The clinical behaviour of untreated axillary nodes following simple mastectomy for early carcinoma of the breast. Clin. Oncol. 6: 221

58. BEATSON, G.T. (1.901). The treatement of cancer of the breast by oöphorectomy and thyroid extract. Br. Med. J. 2: 1145.

59. BEATSON, G.T. (1.896). On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: suggestion for a new method of treatment, with illustrative cases. Lancet. 2: 104; 162.

60. BEDROSSIAN, C.W.M. RABER, M. y BARLOGIE, B. (1.981). Flow cytometry and cytomorphology in primary resectable breast cancer. Anal. Quant. Cytol. 2: 112.

61.BENFIELD, J.R.; JACOBSEN, M.; y WARNER, N.E. (1.965). In situ lobular carcinoma of the breast. Arch. Surg. 91: 130.

62.BERENBLUM, I. (1.954). A Speculative review: the probable nature of promoting action and its significance in the understanding of the mechanism of carcinogenesis. Cancer Res. 14: 471.

63.BERG, J.W.; ROBBINS, G.F. (1.966). Factor influecing short and long-term survival of breast cancer patients ts. Surg. Gynecol Obstet. 122: 1311.

64.BERGHOLZ, M., y cols. (1.979). Krebsrisiko bei Papillaren Proliferationen der Brustdruse. Langebecks. Arch. Chir. 348: 157.

65.BETSILL, W.L. y cols. (1.978). Intraductal carcinoma. J.A.M.A. 18: 239.

66.BETSILL, W.L.; ROSEN, P.P. y ROBINS, J.F. (1.978). Intraductal carcinoma: long term follow-up after treatment by biopsy only. J.A.M.A. 239: 1863.

67.BETTELHEIM, R. y cols. (1.984). Prognostic significance of peritumoral vascular invasion in breast cancer. Br. J. Cancer. 50: 771

68.BEZWODA, W.R. y cols. (1.985). Relative value of oestrogen receptor assay, lactoferrin content, and glucose-6 phosphate dehydrogenase activity as prognostic indicators in primary breast cancer. Oncology. 42: 7.

69. BICHEL, P.; POULSEN, H.S. y ANDERSEN, J. (1.982). Estrogen receptor content and ploidy of human mammary carcinoma. Cancer. 50: 1771.

70. BITTNER, J.J. (1.936). Some possible effects of nursing on the mammary gland. Tumor incidence in mice. Science 84: 162.

71. BLACK, M. y SPEER,F.D. (1.957). Nuclear structure in cancer tissues. Surgery. Ginecol. Obstetrics. 105: 97

72. BLACK, M. y KWON, S. (1.980). Precancerous mastophathie: Structural and biological considerations. Path. Res. Pract. 166: 491.

73. BLAMEY, R.W. y cols. (1.979). Prognostic factors in breast cancer. The formation of prognostic index. Clin. Oncol. 5 : 227.

74. BLOOM,H.J.G.y RICHARDSON, W.W. (1.957). Histologic grading and prognosis in breast cancer: a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. Br. J. Cancer. 11: 359.

75. BLOOM, H.J.G.; RICHARDSON, W.W. y FIELDS, J.R. (1.970). Host resistance and survival in carcinoma of the breast. A study of 104 cases of medullary carcinoma in a series of 1411 cases of breast cancer followed for 20 years. Br. Med. J. 3: 181.

76. BOCKER, W. y cols. (1.985). Inmunohistochemical demonstration of carcinoembryonic antigen (CEA) in 120 mammary carcinomas and its correlation with tumor type, grading

staging and plasma-CEA and biochemical receptor status. Pathol. Res. Pract. 180: 490.

77. BOGAERT Van, L.J. y cols. (1.980). Prognostic implications of mean nuclear diameter in breast cancer. Br. J. Cancer. 42: 357.

78. BOYCE, J.D. y MONSON, R.R. (1.978). Breast cancer after repeated fluroscopic examinations of the chest. J. Natl. Cancer. Inst. 59: 823.

79. BONADONNA, G. y cols. (1.977). The CMF program for operable breast cancer with positive axillary nodes. Cancer. 39: 2904.

80. BONSER, G.M.(1.939). The effect of oestrone administration on the mammary glands of male mice of two strains differing greatly in their susceptibility to sponteaneous mammary tissues of mice. J. Path. Bact. 49: 171.

81. BONSER, G.M. (1.963). The effect of oestrone administration on the mammary glands of male mice of two strains differing greatly in their susceptibility to sponteaneous mammary carcinoma. J. Path. Bact. 42: 169.

82. BOON,M.E.y cols. (1.982). Morphometry and cytodiagnosis of breast lesions. Wirchows. Arch. Abt. A. Pathol. 396: 9.

83. BOYLE,C.A. y cols. (1.984). Caffeine consumption and fibrocystic breast disease. J. Nat. Cancer. Inst. 72: 5.

84. BRANCATI, R. (1.947).
Trattato di Tumori. F. Vallardi. Ed. Milano.

85.BRINTON, L.A.; WILLIANS, R.R. y HOOVER, R.N. (1.979). Breast risk factors among screening program participants. J. Natl.Cancer. Inst. 62: 37.

86.BRINTON, L.A.;HOOVER, R.N. y FRAUMENI, J.F. (1.982). Interaction of familial and hormonal factors for breast cancer. J. Natl.Cancer. Inst. 69: 817.

87.BRINTON, L.A; HOOVER, R.N. y FRAUMENI, J. F. (1.983). Epidemiology of minimal breast cancer. J. A. M.A. 249: 483.

88.BROCA, P. (1.866). Traité des Tumeurs. Ed. Assehim. Paris.

89.BRODERS, A.C. (1.940). Treatment of Cancer and Allied Diseases. 2ª Ed. Vol. 1 Edited by Pack,G.T. y Ariel,I.M. pp 55-75. Hoeber, P.B. New York.

90.BROWNLEE, K.A. (1.965). Statical Theory and Methodology. Ed. Wiley, J. and Sous. 2ª Ed. New York.

91.BRUCE, R.; DZIURA, M.D. y BONFIGLIO, T.A. (1.979). Needle cytology of the breast: A quantitative and qualitative study of the cells of benign and malignant ductal neoplasias. Acta. Cytol. 23: 332.

92.BRUX De, J. (1.970). Citología mamaria. Acta. Ginecol. Madrid. 20: 955.

93.BRUX De, J. (1.979). Histopatologir du sein. Ed. Masson. Paris.

94.BRYON, R.M. y cols. (1.984). Progesterone receptor in breast cancer. Aust. N. Z. J. Surg. 54: 209.

95.BUCALOSSI, P.; VERONESSI, U. y PANDOLFI, A. (1.954). Il problema dell' ereditarieta neplastica nell' uomo 2. Il chancro della mammella. Tumori Milano. 40: 365.

96.BUCALOSSI, P. y VERONESSI, U. (1.957). Some observations on cancer of the breast in mothers and daugthers. Br. J. Cancer. 11: 337.

97.BUCALOSSI, P. y VERONESSI, U. (1.959). Researches on the etiological factors of human breast cancer. Acta. Unio. Internat. Contra Cancrum. 15: 1056.

98.BUELL, P. y DUNN, J.E. (1.965). Cancer mortality among Japanese Issei and Nissei of California. Cancer. 18: 656.

99.BUELL, P. (1.965). Chaning incidence of breast cancer in Japanese-American Women. J. Natl. Cancer. Inst. 51: 1479.

100.BURKARD, H. (1.922).Gleichzeitige und gleicharige Geschwülstbildung in der linken Bristdrüse bei Zwildingsschwestern. Deutche Ztschr. f. Chir. 169: 166.

101.BUSK, T.; CLEMENSEN, T. y NIELSEN, A. (1.948). Twin studies and other genetical investigations in the Danish cancer registry. Br. J. Cancer. 2: 15.

102.BUTCHER De, H. R. (1.961). Effectiveness of radical mastectomy for mammary cancer; an analysis of mortalities by the method of probits. Ann. Surg. 154: 383.

103.BUTLER, J. A. y cols. (1.985). Estrogen receptor protein of breast cancer as a predictor of recurrence. Cancer. 55: 1178.

104.BUZANOWSKI-KONAKRI, K.; HARRISON, E.G. y PAYNE, W.S. (1.975). Lobular carcinoma arising in fibroadenoma of the breast. Cancer. 35: 450.

105.CAMPBELL, J.H. y CUMMINS, S.D. (1.951). Metastases simulating mammary cancer in prostatic carcinoma under estrogenic therapy. Cancer. 4: 303.

106.CAPELLA, C. y cols. (1.980). Endocrine differentiation in mucoid carcinoma of the breast. Histopathology. 4: 613.

107.CARTENS, P.H.B. y cols. (1.985). Tubular carcinoma of the breast. A long term follow-up. Histopathology. 9: 271.

108.CARTER P.D. (1.959). Cancer in Sheep Vet. Imp. N. S. W. Abstr. Vet. Bull. 2978.

109.CARTER D. y SMITH, R.R.L. (1.977). Carcinoma in situ of the breast. Cancer. 40: 1189.

110.CARTER, D. y cols. (1.978). Relationship of necrosis and tumor border to lymph node metastase and 10-years survival in carcinoma of the breast. Am. J. Surg. Pathol. 2: 39.

111.CARTER, D.; OAR, S.L. y MERINO, M.J. (1.983). Intracystic papillary carcinoma of the breast. After mas-

tectomy, radiopherapy or excisional biopsy alone. Cancer. 52: 14.

112. CLARK, G.M. y cols. (1.983). Progesterone receptor as a prognostic factor in stage II breast cancer. N. Engl. J. Med. 309: 1343.

113. CLAYTON, F. y cols. (1.982). Argyrophilic breast carceinomas. Am. J. Surg. Pathol. 6: 323.

114. CLEMMENSEN, J. (1.948). Carcinoma of the breast: results from statistical research. Br. J. Radiol. 21: 583.

115. CLEMMENSEN, J. (1.964). Statistical Studies in malignant neoplasms. Copenhagen.

116. CLEMMENSEN, J. (1.965). Statistical Studies in malignant neoplasms. Munksgaard, Copenhagen.

117. CAVANZO, F.J. y TAYLOR, H.B. (1.969). Adenoid cystic carcinoma of the breast. And analysis of 21 cases. Cancer. 24: 740.

118. CODEGONE, M.L. y cols. (1.981). Histology and cytometrics in human breast cancer assayed for the presence of prolactin receptor. Tumori. 67: 549.

119. COHLE, S.D. y cols. (1.979). ACTH secreting carcinoma of the breast. Cancer. 43: 2370.

120. COLLAN, Y. (1.984). Morphometry in pathology: another look at diagnostic histopathology. Path. Res. Pract. 179: 189.

121.COLLINGS,J.R. y SAVAGE, N. (1.979). peroxidase as a marker for oestrogen dependence in human breast cancer. Br. J. Cancer. 40: 500.

122.COOPER, A.P. (1.829). Illustrations of the diseases of the breast. London. Longman and Rees. Co.

123.COOPER, H.S.; PATCHEFSKY, A.S. y KRALL, R.A. (1.978). Tubular carcinoma of the breast. Cancer. 42: 2334.

124.CORNELISSE, C.J. y cols. (1.981). Quantitative analysis of the nuclear area variation in benign and malignant breast cytology specimens. Anal. Quant. Cytol. 3: 128.

125.CORNILLOT, M. (1.971). Place de la cytologie per punction dans le diagnostic des tumeurs du sein. Presse. Med. 79: 1813.

126.COTCHIN, E. (1.951). Neoplasms in small animals. Vet. Rec. 63: 67.

127.COTCHIN, E. (1.954). Further observations on neoplasms in dogs with particular reference to site of origin and malignancy. I. Cutaneus, female genital and alimentary systems. Br. Vet. J. 110: 218.

128.COULSON, P.B.; THORNTHWAITE, J.T. y WOOLLEY, T.W. (1.984). Prognostic indicators including DNA histogram type, receptor content and staging related to human breast cancer patient survival. Cancer. Res. 44: 4187.

129.CROWE, J.P. y cols. (1.982). Estrogen receptor status as a prognostic indicator for stage I breast cancer patients. Breast. Cancer. Res. Treat. 2: 171.

130.CUBILLA, A.L. y WOODRUFF, J.M. (1.977). Primary carcinoid tumor of the breast. Am. J. Surg. Pathol. 1:283.

131.CURLETTI, E. y GIORDANO, J. (1.981). In situ lobular carcinoma of the breast. Arch. Surg. 116: 309.

132.CUTLER, S.J. y cols. (1.966). Prognostic factors in cancer of the female breast II. Reproducibility of histopathologic classification. Cancer 19: 75.

133.CUTLER, S.J.; CHRISTINE, B. y BARCLAY, T.H. (1.971). Increasing incedence and decreasing mortality rates for breast cancer. Cancer. 28: 1376.

134.CHEATLE, J.L. y CUTLER, M. (1.931). Tumours of the breast. Their pathologie, symptoms, diagnosis and treatment. Ed. Arnold.

135.CHOPRA, H.C. y cols. (1.971). Studies on virus particles resemblyng oncogenic RNA viruses in monkey breast carcinoma. Cancer. 28: 1406.

136.DAVIS, H.H.; SIMONS, M. y DAVIS, J.B. (1.964). Cystic disease of the breast: relationship to carcinoma. Cancer. 17: 957.

137.DAVIS, N. y BLAIR, R.M. (1.984). Breast cancer in association with lobular carcinoma in situ. Clinicopathologic review and treatment recomendation. Ann. Surg. 145: 541.

138.DESPHANDE, N.; MITCHELL, I. y MILLIS, R. (1.981). Tumour enzymes and prognosis in human breast cancer. Cancer. 17: 443.

139.DEVITT, J.E. (1.965). The significance of regional lymp node metastases in breast carcinoma. Can. Med. Assn. 93: 289.

140.DEVITT, J.E. (1.971). The enigmatic behaviour of breast cancer. Cancer. 27: 12.

141.DEVITT, J.E. (1.981). Clinical benign disordes of the breast and carcinoma of the breast. Surg. Gynecol. Obstet. 152: 437.

142.DIAMOND, D.A. y cols. (1.982). Computerized image analysis of nuclear shape as a prognostic factor for prostatic cancer. Prostate. 3: 321.

143.DICTIONNAIRE, ENCYCLOPEDIQUE. (1.861). Ed. Masson et fils. Sciencies medicales. Directeur A. Dechambre.

144.DOLL, R.; MUIR, C.S. y WATERHOUSE, J.A.H. (1.970). Cancer incidence in five continents. Springer. Verlag. Berlin.

145.DONEGAN, W.L. y PEREZ-MESA, C.M. (1.972). Lobular carcinoma an indication for elective biopsy of the second breast. Ann. Surg. 176: 178.

146.DORN, V.T. y CUTLER, S. (1.955). Morbidity from cancer in the United States. Public. Health. Monograph. 29.

147.DELBET, P. y MENDARO, A. (1,927).
Les cancers du sein.p. 65 and p. 175. Ed. Masson, Paris.

148.EHRLICH, P.V. (1.909).
Beiträge zur ezper. Pathol. Leipzig.

149.ELLIOT, J.B. y cols. (1.981). Cyclic nucleotides as predictors of benign to malignant progression of breast disease. Breast. 7: 6.

150.ELLIS, D.L. y TEITELBAUM, S.L. (1.974). Inflammatory carcinoma of the breast. A pathological definition. Cancer. 33: 1045.

151.ERDREICH, L.S.; ASAL,N.R. y HOGE, A.F. (1.980). Morphologic types of breast cancer: age, bilaterality and family history. South. Med. J. 73: 28.

152.ERNSTER; V.L.(1.981). The epidemiology of benign breast disease. Epidemiol. Rev. 3: 184.

153.ESTAPE, J. (1.977).
Oncología Médica. Ed. Marín, Barcelona.

154.EUSEBI, V. y cols. (1.977). Morpho-functional differentiation in lobular carcinoma of the breast. Histopathology 1: 301.

155.EUSEBI, V. y cols. (1.984). Apocrine differentiation in lobular carcinoma of the breast: a morphologic, inmunologic, and ultraestructural study hum. Pathol. 15: 134.

156. EWERS, S.B. y cols. (1.986). Flow-cytometric analysis in primary breast carcinomas and clinicopathologic characteristic. Cancer. 57: 808.

157. FALLENIUS, A. y cols. (1.983). Cytochemical classification of nonpalpable breast carcinoma. Anal. Quant. Cytol. 5: 9.

158. FELDMAN, W.H. (1.932). Neoplasma of Domestic animals. V.B. Saunders Co. Philadelphial.

159. FERRIERO, J.P. y cols. (1.985). Trhomboglobulin in patient with breast cancer. Am. J. Hematol. 19: 47.

160. FISHER, B. y FISHER, E.R. (1.966). Transmigration of lymph nodes by tumor cells. Science 152: 1397.

161. FISHER, B. y FISHER, E.R. (1.967). Barrier function of lymph node to tumor cells and erythrocytes. II. Effect of X-ray, inflammation, sensitizacion and tumor growth. Cancer. 20: 1914.

162. FISHER, B. y cols. (1.969). Cancer of the breast; size of neoplasm and prognosis. Cancer. 24: 1071.

163. FISHER, B. y cols. (1.975). Ten years follow-up results of patients with carcinoma of the breast in a cooperative clinical trial evaluation surgical adjuvant chemotherapy. Surg. Gynecol. Obstet. 140: 52.

164. FISHER, B. y cols. (1.977). Comparison of radical mastectomy with alternative treatments for primary breast

cancer. A first report of results from a prospective randomized clinical trial.Cancer. 39: 2827.

165.FISHER, B. (1.980). Laboratory and clinical research in breast cancer. Personal adventure. The David a Karnofsky lecture. Cancer. 40: 3863.

166.FISHER; B. y cols. (1.980). Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (protocol nº 6). Invasive papillary cancer. Am. J. Clin. Pathol. 73: 313.

167.FISHER, B. y cols. (1.983). Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. And NSABP update. Cancer: 52: 1551.

168.FISHER, E.R., GREGORIO, R.y FISHER, B. (1.975). The pathology of invasive breast cancer. A syllabus derived from the findings of the National Surgical Adjuvant Breast Project (protocol nº 4). Cancer. 36: 1

169. FISHER; E.R. y cols. (1.976). Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (protocol nº 4). III. The significance of extranodal extension of axillary metastases. Am. J. Clin. Pathol. 65: 439.

170.FISHER, E.R. (1.976). Ultraestructure of human breast and its disorders. Am. J. Clin. Pathol. 66: 291.

171.FISHER, E.R.; REDMOND, C. y FISHER, B. (1.977). A perpesctive concerning the relationshit of duration of symptons to treatment failure in patients with breast

cancer. Cancer. 40: 3160.

172.FISHER; E.R. y PAULSON, J.D. (1.978). Karyotypic abnormalities in precursor lesions of human cancer of the breast. Am. J. Clin. Pathol. 69: 284.

173.FISHER,E.R. y cols. (1.978). Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (protocol nº 4). V. Significance of axillary nodal micro and macrometastases. Cancer. 42: 2032.

174.FISHER, E.R. (1.978). The pathologist's role in the diagnosis and treatment of invasive breast cancer. Surg. Clin. North. Am. 58: 705.

175.FISHER, E.R; PALEKAR, A.S. y NSABP collaborators. (1.979). Solid and mucinous varieties of so-called mammary carcinoid tumors. Am. J. Clin. Pathol. 72: 909.

176.FISHER, E.R.; PALEKAR, A.S. y KOTWAL, N. (1.979). A nonencapsulated sclerosing lesion of the breast. Am. J. Clin. Pathol. 71: 240.

177. FISHER, E.R. y cols. (1.981). Correlation of primary breast cancer hisphathology and estrogen receptor content. Cancer. Res. Treat. 1: 37.

178.FISHER, E.R. y cols. (1.983). Types of tumor limphoid response and synus histiocytosis. Relationship to five years disease-free-survival patients with breast cancer. Arch. Pathol. Lab. Med. 107: 222.

179.FISHER, E.R.; SAAS, R. y FISHER, B. (1.984).Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (protocol nº 4) X. Discriminant for tenth years

treatment failure. Cancer suppl. 53: 712.

180.FISHER, E.R. y cols. (1.984). Pathologic findings from the National surgical Adjuvant Breast Project (protocol nº 4) XI. Bilateral breast cancer. Cancer. 54: 3002.

181.FISHER, E.R. (1.984). Importancia del estudio histopatológico en las consideraciones biológicas, diagnósticas, pronósticas y terapéuticas del cancer mamario. Clínicas Quirúrgicas de Norteamérica. 6: 1093.

182.FITTS, W.T. Jr.; STEINER, G.C. y ENTERLINE, H.T. (1.963). Prognosis of occult carcinoma of the breast. Am. J. Surg. 106: 460.

183.FITZPATRICK, S.L. y cols. (1.984). Epidermis growth factor binding by breast tumor biopsies and relationship to estrogen receptor and progesterone receptors levels. Cancer. Res. 44: 3448.

184.FONDO, E.Y. y cols. (1.979). The problem of carcinoma developing in a fribroadenoma. Recent experience at Memorial Hospital. Cancer. 43: 563.

185.FOOTE, F.W. y STEWART, F.W. (1.945). Comparative studies of cancerous versus non-cancerous breast. Ann. Surg. 121: 197.

186.FOSSA, S.D. y cols. (1.982). Nuclear feulgen DNA content and nuclear size in human breast cancer. Hum. Pathol. 13: 626.

187.FOSSA, S.D. y cols. (1.984). DNA flow cytometry in pri-

mary breast carcinoma. Acta. Path. Microbiol. Inmunol. Scand. Sect. A 92: 475.

188.FOURNIER, D. y cols. (1.979). Behandlung der mastopathie. Gynakol. Prax. 3: 511.

189.FRANTZ, V.K. y cols. (1.951). Incidence of chronic cystic disease in so-called normal breast. Cancer. 4: 762.

190.FRAUMENI, J.F. Jr. y cols. (1.969). Cancer mortality among nuns: role of marital status in etiology of neoplasic disease. J. Natl. Cancer. Inst. 42: 435.

191.FREEDMAN, L.S. y cols. (1.979). Histological grade and other prognostic factors in relation to survival of patients with breast cancer. Br. J. Cancer. 40: 44.

192.FURSNANSKI, P. y cols. (1.980). The prognostic value of estrogen receptor determinations in patients with primary breast cancer: and update. Cancer. 46: 2794.

193.GALEN, A.D. (130-200).
De locis affectis. In his Opera. Ed. C. G. KUHN, lipsiae. 1.824. 8: 1.

194.GALLAGHER, H.S. (1.984). Pathologic types of breast cancer: their prognosis. Cancer. Suppl. 53: 623.

195.GARCIA SOLA, E. (1.877).
Tratado de Patología General y Anatomía Patológica. 2ª Ed. Moya y Plaza Eds. Madrid.

196.GASKILL, S.P. y cols. (1.979). Breast cancer mortality and diet in the United States. Cancer Res. 39: 3628.

197.GEEL Van, A.N. y cols.(1.985). Male breast cancer in the Netherlands; a retrospective study of 104 patients (Ductc). Ned. Tijdschur. Genskd. 129: 305.

198.GENTIL, C.;SAN FILIPPO, O. y SILVESTRINI, R. (1.981). Cell profileration and its relationship to clinical features and relapse in breast cancer. Cancer. 48: 974.

199.GERSCHICKTER, C.F. (1.945). Diseases of the Breast. Lippincott Co. Philadelphia.

200.GERSHON-COHEN, J.; BERGER, S.M. y KLISCKSTEIN, M.S. (1.963). Roentgenography of breast cancer moderating concept of biologic predeterminism. Cancer. 16: 961.

201.GLAUBITZ, L.C. y cols. (1.984). Elastosis in human breast cancer. Correlation with sex steroid receptors and comparison with clinical outcome. Arch. Pathol. Lab. Med. 108: 27.

202.GODOLPHIN, W.; ELWOOD, J.M. y SPINELLI,J.J.(1.981). Estrogen receptor quantitation and staging as complementary prognostic indicators in breast cancer. A study of 583 patients. Int. J. Cancer. 28: 677.

203.GOLDMAN, R.C. y FRIEDMAN, N.D. (1.969). Carcinoma of the breast arising in fibroadenomas with enphasis on lobular carcinoma. A clinicopathologic study. Cancer. 23: 544.

204.GREENE, H.S.N.(1.939). Familial mammary tumors in the Rabbit.J. Exper. Med. 70:147.

205.GREENOUGH, R.B. (1.925). Varying degrees of malignancy in cancer of the breast. J. Cancer. Res. 9: 453.

206.GRICOUROFF, G. (1.948). Du prognostic histologique dans le cancer du sein. Bulletin de L' Association français du pour l'etude.Cancer. 35: 275.

207.GRUMP, F. (1.984). Enfermedades premalignas de la mama. Clínicas Quirúrgicas de Norteamérica. 6: 1069.

208.GSCHWIND, R. y cols. (1.986). Evaluation of shape descriptors for the morphometric analysis of cell nuclei Path. Res. Pract. 181: 213.

209.GUAZZI, A.M. y cols. (1.985). Relationship between estrogen receptor concentration and cytomorphometry in breast cancer. Cancer. 56: 1972.

210.HAAGENSEN, C.D. (1.933). The bases for the histologic grading of carcinoma of the breast. Am. J. Cancer. 19: 328.

211.HAAGENSEN, C.D. y STOUT, A.P. (1.943). Carcinoma of the breast. Criteria for operabilite. Ann. Surg. 118: 859.

212.HAAGENSEN, C.D. (1.971).
Diseases of the Breast.2ª Ed. W.B. Saunders. Philadelphia.

213.HAAGENSEN, C.D. (1.973).

Enfermedades de la mama. 2ª Ed. Ed. Beta. Buenos Aires.

214. HAAGENSE, C.D. y cols. (1.978). Lobular neoplasia (so-called lobular carcinoma in situ) of the breast. Cancer. 42: 737.

215. HAAGENSE, C.D.; BODIAN, M.S. y HAAGENSEN, D.E. (1.981). Breast carcinoma. Risk and detection. W.S. Saunders Company. Philadelphia.

216. HAHNEL, R.; WOODINGS, T. y VIVIAN, A.B. (1.979). Prognostic value of estrogen receptors in primary breast cancer. Cancer. 44: 671.

217. HAIRSTONE, M.A.; SHEFFIELD, J.B. y MOORE, D.H. (1.966). A study of B particles in the mammary tumors of strain a mice. J. Natl. Cancer. Inst. 36: 18.

218. HALL, W.T. y MOORE, D.H. (1.966). Effects of estrogenic hormone and the mammary tissue of agent-free and agent-learing male mice. J. Natl. Cancer. Inst. 36: 181.

219. HALTER, S.A. y cols. (1.984). Carcinoembryonic antigen expression and patients survival in carcinoma of the breast. Oncology. 1: 297.

220. HANDLEY, W.S. (1.906). Cancer of the breast and its treatment. 2ª Ed. London. J. Murray.

221. HANSEMANN, Von D. (1.890). Ueber assymetrische Zelltheilung in Epithelkrebsen und deren biologische Bedeutung Virchows. Archiv für Pathologische Anatomie. 119:299.

222.HANSEMANN Von, D. (1.892). Ueber die Anaplasie der Geschwulstzellen und die asymmetrische Mitrose. Virchows Archiv für Pathologische Anatomie. 129: 436.

223.HANSEMANN Von, D. (1.902). Die mikroskopische Diagnose der bösartigen Geschwülste. 2ª Ed. pp. 91-102. A. Hirschwald. Berlin.

224.HARNETT, W.L. (1.948). A statistical report on 2529 cases of cancer of the breast. Br. J. Cancer. 2: 212.

225.HARRIST, T.J. y KALISHER, L. (1.977). Breast metastases: and unusual manifestation of a malignant carcinoid tumor. Cancer. 40: 3102.

226.HARVEIT, F. (1.971). Prognostic typing in breast cancer. Br. Med. J. 4: 253.

227.HARVEIT, F. y cols. (1.980). Early recurrence in breast cancer with efferent vascular invasion. A preliminare study. Invest. Cell. Pathol. 3: 141.

228.HARVEIT, F. y cols. (1.981). Histological grade and efferent vascular invasion in human breast carcinoma. Br. J. Cancer. 44: 81.

229.HARVEIT, F. y cols. (1.983). On the progressive nature of tumour growth in the axillary nodes in breast cancer. Oncology. 40: 309.

230.HARVEIT, F., SKJAERVEN, R. y MAELHE, B.O. (1.983).Prognosis in breast cancer patients with tumor cells in the efferent vessels of their axillary nodes. J Pathol.139: 379.

231.HARVEIT, F.; THORENSEN, S. y MAEHLE. b.O. (1.984). Prognostic evaluation in node positive breast carcinoma: stage versus growth rate. Br. J. Surgical. 71: 463.

232.HAYBITTLE, J.L. y cols. (1.982). A prognostic index in primary breast carcinoma. Br. J. Cancer, 45: 361.

233.HEDLEY, D.W. y cols. (1.984).Influence of celular DNA content on disease-free-survival of stage II breast cancer patients. Cancer. Res. 44: 5395.

234.HEENEKENS, C.H. y cols. (1.979). Use of permanet hair dyes and cancer smong registred nurses. Lancet. 1: 1390.

235.HEIZER, W.D. y LEWISON, E.F. (1.964). Concordant disease in identical twins. J.A.M.A. 188: 217.

236.HELLMAN, S. y cols. (1.982). Cancer of the Breast. In "Cancer". Principles and Practice of Oncology. Lippincott. Company. Philadelphia.

237.HENDERSON,B.E. y cols. (1.974). An epidemiologic study of breast cancer. J.Natl. Cancer. Inst. 53: 609.

238.HESTON, W.E.; VLAHAKIS, G. y DERENGER, M.K. (1.960). Delayed effects of genetics segregation on the transmission of the mammary tumor agent in mice. J. Natl. Cancer. Inst. 24: 271.

239.HEUSON, J.C. y BENRAAD, T.J. (1.983). Biology of breast cancer receptors; Workshop report. Eur. J. Cancer. Clin. Oncol. 19: 1687.

240.HIATT, R.A. y cols. (1.982). Breast cancer and serum cholesterol. J. Natl. Cancer. Inst. 68: 885.

241.HILL, P. y cols. (1.980). Diet and menarche in different etnic groups. J. Cancer. 16: 519. (Excerpta Cancer Sec. 16. vol. 46:330, 1.980).

242.HIRAYAMA, T. (1.978). Epidemiology of breast cancer with special reference to the role of diet. Prev. Med. 7: 173.

243.HISLOP, C.B. y cols. (1.984). Second primary cancers of the breast: incidence and risk factors. Br. J. Cancer. 49: 79.

244.HOHM, N.V., HAUGE, M. y HARROLD, B. (1.980). Etiologic factors of breast cancer elucidated by a study of unselected twins. J. Natl. Cancer. Inst. 65: 285.

245.HOLDSWORTH, P.J. y cols.(1.985). Blood groups as a prognosticindicators in breast cancer. Br. Med. J. 290: 671.

246.HOLFKAMP, W. y cols. (1.984). Hyperprolactinemia is an indicator of progressive disease and poor prognosis in advancet breast cancer. Int. J. Cancer. 34: 323.

247.HOWELL, A. y cols. (1.984). Steroid-hormone receptors and survival after first relapse in breast cancer. Lancet. i: 588.

248:HUTCHINSON, W.B. y cols. (1.980). Risk of breast cancer in women with benign breast disease. J. Natl. Cancer. Inst. 65: 13.

249.HUTTER, R.V.P. (1.980). The influence of pathologic factors on breast cancer management. Cancer. 46: 961.

250.HUTTER, R.V.P. (1.981). The pathologic basis for breast cancer management. J. Med. Sci. 17: 888.

251.ING, R., HO, J.H.C. y PETRAKIS, N. (1.977). Unilateral breast-feeding and breast cancer. Lancet. 2: 124.

252.JACKSON, C. (1.936). Incidence and pathology of domesticated animals in soth Africa. On dersreport. J.Vet. Sci. 6: 3.

253.JACKSON, J.G. y ORR, J.W. (1.957). The ducts of carcinomatous breast with particular reference to connective-tissue changes. J. Pathol. Bacteriol. 74: 265.

254.JACOBSEN, D. (1.946). Heredity in breast cancer. A genetic and clinical study of two hundred probands. Nyt Norddisck. Forlag. Copenhagen.

255.JANERICH, D.T.y HOFF, M.D. (1.982). Evidence for a crossover in breast cancer risk factor. Am. J. Epidemiol. 116: 737.

256.JAO, W. y cols. (1.980). Ultraestructural aspects of mucinous (colloid) breast carcinoma. Diagn. Gynecol. Obstet. 2: 83.

257.JARVIR, L.F.y FALER, A. (1.962). Comparative data on cancer in again twins. Cancer. 15: 1009.

258. JENSEN, C. O. (1.903). Experimentelle untersuchungen über krebsbimänsen. Centrslbl. F. Bakt. 34: 28.

259. JENSEN, E.V. y De SOMBRE, E.R. (1.973). Estrogen-receptor interaction. Science. 182: 126.

260. JIMENEZ AYALA, M. (1.977). Citopatología ginecológica. 1ª. Ed. 2 vol. Ed. Científico Médica.

261. JOHANSSON, R.; VANHARANTA; R. y SHORDERHOM, J. (1.984). Estrogen receptors in mammary cancer: correlation with age, menopausal status and response to therapy. Cancer. Res. Clin. Oncol. 107: 221.

262. JUNTTI-BERGGREN, L. ; PIFKANEN, P. y WILANDER, E.(1.983). Argyrophilic endocrine cells with ACTH and HCG immunoreactivity in a carcinoma of the breast. Wirchows. Arch. Cell. pathol. 43: 37.

263. KANEKO, H. y cols. (1.978). Norepinephin-producing tumors of bilateral breast. Cancer. 41: 2002.

264. KELSEY, J.L. (1.979). A review of the epidemiology of human breast cancer. Epid. Rev. 1: 74.

265. KELSEY, J.L. y cols. (1.981). Exogenous estrogen and other factors in the epidemiology of breast cancer. J. Natl. Cancer. Inst. 67: 327.

266. KERN, W.H. y BROOKS, R.N. (1.969). Atypical epithelial hyperplasia associated with breast cancer and fibrocystic disease. Cancer. 24: 668.

267.KIAER, W. (1.954).
Relation of Fribroadenomatosis (Chronic Mastitis) to cancer of the Breast. Munksgaard. Copenhagen.

268.KITT, T. (1.942).
Patología general Veterinaria. Ed. Labor. Barcelona.

269.KNIGHT, W.A. y cols. (1.977). Estrogen receptor as an independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer. Cancer. Res. 37: 4669.

270.KOREMAN, S.G. y DUKES, B.A. (1.970). Specific estrogen binding by the cytoplasm of human breast carcinoma. J. Clin. Endocrinol. Metab. 30: 639.

271.KOSCIELNY, S. y cols. (1.984). Breast cancer: relationship between the size of the primary tumour and the probability of metastatic dissemination. Br. J. Cancer. 49: 709.

272.KOSMA, V.M. y SYRJANEN, R. (1.985). Regional lymph node reactions related to hormone receptor status in female breast. Arch. Geschwulsforsch. 55: 123.

273.KOTLER, S. y LUBS, H.A. (1.967). Comparison of direct and short term culture techniques in determining solid tumor karyotypes. Cancer. Res. 27: 1861.

274.KOSS, L.G. 1.968.
Diagnostic cytology and its histophathologic bases. 2ª Ed. Lippincott. Philadelphia.

275.KOSS, L.G.; BRANNAN, C.D. y ASHIKARI, R. (1.970).

Histologic And ultraestructural features of adenoid cystic carcinoma of the breast. Cancer. 26: 1271.

276. KOSS, L.G. (1.979). Diagnostic cytology and its histophaphologie bases. 3ª Ed. Lippincott. Philadelphia.

277. KRAMER, W.M. y RUSH, B.F. (1.973). Mammary duct proliferation in the elderly: a histophathologic study. Cancer. 31: 130.

278. KRAUS, F.T. y NEUBECKER, R.D. (1.962). The differential diagnosis of papillary tumors of the breast. Cancer. 15: 444.

279. KUENEN-BOUMEESTER, V. y cols. (1.984). Prognostic scoring using cytomorphometry and lymph node status of patients with breast carcinoma. Eur. J. Cancer. Clin. Oncol. 20: 337.

280. KUHAJDA, F.P.; OFFUF, H.T. y MENDELSOHN, G. (1.983). the distribution of carcinoembryogenic antigen in breast cancer. Diagnostic and prognostic implications. Cancer. 52: 1257.

281. KUTE, T.E. y cols. (1.981). Relationship of steroid receptor, cell kinetics, hormone receptor and clinical status in patients with breast cancer. Cancer. Res. 41: 3524.

282. LACASSAGNE, A.M. (1.932). Apparition de cancers de la mamelle chez la souris male, soumise á des injections de folliculine. C. R. Acad. Sci. 195: 630.

283. LAGIOS, M.D.; ROSE, M.R. y MARGOLIN, F.R. (1.980). Tubular carcinoma of the breast. Association with multicentricity, bilaterality and family history of mammary carcinoma. Am. J. Clin. Pathol. 73: 25.

284. LAGIOS, M.D. y cols. (1.982). Ductal carcinoma in situ. Relationship of extent of noninvasive disease the frequency of occult invasion, multicentricity, lymph node metastases and short-term treatment failures. Cancer. 50: 1309.

285. LAND, C.E. (1.980). Low dose radiation a cause of breast cancer? Cancer. 46: 868.

286. LAND, C.E.; BOICE, J.D. y SHORE, R.E. (1.980). Breast cancer risk from low-dose exposure to ioninizing radiation. J. Natl. Cancer. Ints. 65: 353.

287. LANE-CLAYTON, J.E. (1.926). A further report on cancer of the breast with special reference to its associated antecedent conditions. Report on Public Health and Medical Subjects. nº 32. London.

288. LATTES, R. (1.980). Lobular neoplasia (lobular carcinoma in situ) of the breast. a histological entity of controversial clinical significance. Path. Res. Pract. 166: 415.

289. LAVECCHIA, C. y cols. (1.985). Risk factors for benign breast disease and their relation with breast cancer risk. Pooled information from epidemiologic studies. Tumori. 71: 167.

290.LAVECCHIA, C. y cols. (1.985). Menstrual cycle patterns and the risk of breast disease. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 21: 417.

291.LAZAREVIE, B.y RODGERS, J.B. (1.983). Aspiration cytology of carcinoid tumor of the breast. Acta. Cytol. 27: 329.

292.LEE, B.J. y STUBENBORD, J. (1.928). Clinical index of malignancy for carcinoma of the breast. Surg. Gynecol. Obstet. 47.812.

293.LEE, S.H. (1.979). Cancer cell estrogen receptr of human mammary carcinoma. Cancer 44: 1.

294.LEE, Y.T.N. (1.984). Pattern of recurrence and metastases after mastectomy. Am. J. Clin. Oncol. Cancer. Clin. Trials. 7: 443.

295.LESSER, M.L. y cols. (1.981). Estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma: correlations with epidemiology and pathology. Cancer. 48: 299.

296.LEVIN, M.L. y cols. (1.964). Lactation and menstrual function as related to cancer of the breast. Am. J. Public. Health. 54: 580.

297.LEWISON, E.F. y LYONS, J.G. (1.953). Relationship between benign breast disease and cancer. Arch. Surg. 66: 94.

298.LEWISON, E.F.; MONTAGNE, A.C.W. y KULLER, L. (1.966). Breast cancer treated at the Johns Hopkins Hospital. Review of international then -years survival rates.

Cancer. 19: 1359.

299.LILIENFELD, A.M.; LEVIN, M.L. y KESSLER, I.I.(1.972). Cancer in the United States. Harvard Univ. Press.

300.LILIENFELD, A.M.y cols. (1.975). Marital and reproductive experience in a community-wide epidemiological study of breast cancer. Johns Hopkins Med. J. 136: 157.

301.LIN,T.M.CHEN,K.P.y Mac MAHON, B. (1.971).Epidemiologic characteristics of cancer of the breast in Taiwan. Cancer. 27: 1497.

302.LINDEN Van Der, H.C. y cols. (1.986). Morphometry of breast cancer I. Comparison of the primary tumours and the axillary lymph node metastases. Path. Res. Pract. 181: 236.

303.LINELL; F.y JACOBSEN, J. (1.979). Extreme duct papillomatosis of the breast. Acta. Path. Microbiol. Scand. Section A 87: 353.

304.LINELL, F.; LJUNJSBERG, O. y ANDERSSON, I. (1.980). Breast carcinoma. Aspects of early stages progression and related problems. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. 272.

305.LIPNICK, R. y cols. (1.984). A case control study of risk indicators among women with premenopausal and early postmenopausal breast cancer. Cancer. 53: 1020.

306.LIVINGSTON, R.B. y cols. (1.974). In vitro determina-

tion of thymidine-^{3}H labeling index in human solid tumors. Cancer. Res. 34: 1376.

307.LOGAN, W.P.D. (1.953). Marriage and childbearing in relation to cancer of the breast and uterus. Lancet.

308.LOVE, S.M.; GELMAN, R.S. y SILEN, W. (1.982). Fibrocystic "disease" of the breast. A non disease. N. Engl. Med. 307.: 1010.

309.LYNCH, H.T. y cols. (1.984). Genetic predisposition to breast cancer. Cancer. 53: 612.

310.MAASS, H. (1.979). Risikofaktor Mastopathie. Diagnostik. 12: 299.

311.MABUCHI, K.; BROSS, D.S. y KESSLER, I.I. (1.985). Risk factors for male breast cancer. J. Natl. Cancer. Inst. 74: 371.

312.MACKLIN, M.T. (1.940). An analysis in monozygous and dizygous twins: with a report of fifteen unpublished cases. J. Herd. 31: 227.

313.MACKLIN, M.Y. (1.959). Comparison of the number of breast cancer deaths observed in relatives of breast-cancer patients and the number expected on the basis of mortality rates. J. Natl. Cancer. Inst. 22: 927.

314.MACKAY, E.N. y SELLARS, A.H. (1.965). Breast Cancer at the Ontario cancer clinics. A Statistical review. Otawa,Medical Statistics Branch, Ontario, Department of Health. (1.938-1.956).

315.MacCARTY, K.S.Jr. y cols. (1.980). Correlation of estrogen and progesterone receptors with histological differentiation in mammary carcinoma. Cancer 46: Suppl. 2851

316.McCREDIE, J.A.; INCH, W.R. y ALDERSON, M. (1.975). Consecutive primary carcinomas of the breast. Cancer 35: 1472.

317.McDIVITT. R.W. y STEWART, F.W. (1.966). Breast carcinoma in children. J. A. M. A. 195: 388.

318.McDIVITT, R.W.; STEWART, F.W. y BERG, J.W. (1.967). Tumors of the breast. Armed Forces Institute of Pathology (AFIP).

319.McDIVITT, R.W.; STEWART, F.W. y FARROW, J.H. (1.967). Breast carcinoma arising in solitary fibroaderomas. Surg. Gynecol. Obstet. 125: 527.

320.McDIVITT, R.W.; STEWART, F.W. y BERG, J.W. (1.968). Tumors of the breast. 2ª Ed. Armed Forces Institute of Pathology.Washington. D.C.

321. McDIVITT, R.W. y STEWART, F.W. (1.972). Breast carcinoma in children. J. A. M. A. 4: 131.

322.McDIVITT, R.W., BOYCE, W. y GERSELL, D. (1.982). Tubular carcinoma of the breast. Clinical and pathological observations concerning 135 cases. Am. J. Surg. Pathol. 6: 401.

323.McDIVITT, R.W. y cols. (1.986). A proposed classification of breast cancer based on kinetic information;

derived from a comparison of risk factors in 168 primary operable breast cancers. Cancer. 57: 269.

324.McGUIRE, W.L. y CLARK, G.M. (1.983). Progesterone receptors and human breast cancer: "Wassink lecture" presented at the 3rd EORTC breast cancer working conference. Eur. J. Cancer. Clin. Oncol. 19: 1681.

325.MACMAHON, B. y FEINLEIB, M. (1.960). Breast cancer in relation to nursing and menopausal history. J. Natl. Cancer. Inst. 24: 733.

326.MACMAHON, B. y cols. (1.970). Age at first birth and breast cancer risk. Bull. Wld. Hlth. Org. 43: 209.

327.MACMAHON; B.; COLE, P. y BROWM, J. (1.973). Etiology of human breast cancer: a review. J. Natl. Cancer. Inst. 50: 21.

328.McGREGOR, B.H.; LAND; E.E. y CHOI, R. (1.977). Breast cancer incidence among bomb survivors Hiroshima and Nagasaki (1.950-1.969). J. Natl. Cancer. Inst. 59: 799.

329.MAEHLE, B.O.; SKJAERVEN, R. y HARVEIT, F. (1.982). Efferent vascular invasion and the mean nuclear area of axillary nodal tumour cells in breast cancer. Histopathologie. 5: 297.

330.MAEHLE, B.O. y cols. (1.982). Mean nuclear area and histological grade of axillary-node tumour in breast cancer related to prognosis. Br. J. Cancer. 46: 95.

331.MAEHLE, B.O. y SKJAERVEN, R. (1.984). Prediction of

prognosis in axillary lymph node positive breast cancer patients: a statistical study. Br. J. Surg. 71: 459.

332.MHATRE, M.C.; SHAH, P.N. y JUNEJA, H.S. (1.984).Epidermis growt factor. Relationship to estrogen and progesterone receptors. J. Natl. Cancer. Inst. 72: 6.

333.MAILLET, M. (1.983).
Manual de Citología. 2ª Ed. Masson S. A. Barcelona.

334.MAMBO, N.C. y GALLAGHER, H.S. (1.977). Carcinoma of the breast. The prognostic significance of extranodal extension of axillare disease. Cancer. 39: 2280.

335.MARTIN ANDRES, A. y cols. (1.986).
Bioestadística. Ed. Luz. Granada.

336.MARTINEZ DE GARCIA, C. y cols. (1.984). Situación del cancer de mama en España. Comunicación al Congreso Internacion de Psicoprofilasis obstétrica. Zaragoza.

337.MASSON, B.H.; HOLDAWAY, I.M. y MULLINS, P.R. (1.983). Progesterone and estrogen receptor as prognostic variables in breast cancer. Cancer. Res. 43: 2985.

338.MASUKAWA, T. (1.973).
Tutorial of cytology, pp 535. International Academy of cytology. Chicago.

339. MASUKAWA, T. (1.979).
Citología mamaria. Compendio de citología diagnóstica. Actas seminario. Chicago.

340.MATEU-ARAGONES, J.M.(1.980). Situación actual del cito-diagnóstico mamario. Acta Ginecol. Vol. XXXVII: pp 1.

341.MAZOUJIAN, G. y cols. (1.982). Immunoperoxidase localization of a breast gross cystic disease fluid protein. Lab. Invest. 46: 46.

342.MENDHELSON, M.L. (1.960). The growth fraction: a new concept applied to tumor. Science 132: 1496.

343.MENDOZA, M.A. (1.911). Los tumores en los animales. Rev. Med. Vet. Parasit. 3: 63.

344.MESA-TEJADA. R. y cols. (1.978). Detection in human breast carcinomas of an antigen immunologicaly related to a group-specific antigen of mouse mammary tumor virus. Proc. Natl. Acad. Sci. US 75: 1529.

345.MEYER, J.S. y BAUER, W.C. (1.977). In vitro determination of tritiaded thymidine labeling indes (LI).Cancer. 36: 1374.

346.MEYER, J.S. y HIXON, B. (1.979). Advanced stage and early relapse of breast carcinomas associated with high thymidine labeling indices. Cancer. Res. 39: 4042.

347.MHOLA, S. y cols. (1.982). Estrogen and progesterone receptors in breast cancer in black Americans. Correlation of receptor data with tumor differentiation. Cancer. 50: 552.

348.MIGLIORI, E. y SQUARTINI, F. (1.980). Relationship of degree and type of intraductal component with other

morphologic findings in breast cancer. Tumori. 66: 713.

349.MIKUZ, G. y DIETZE, O. (1.982). Kernmorphometrische und Zytophotometrische Untersuchung der Mammacarzinome Wergleich Zytophotometrischer unterst Chungsfrgebnisse mit dem Histologischen gradind. Wien. Klin. Wochenschr. 94: 368.

350.MILLER, A.B. (1.978). Risk-benefit in mass screening programs for breast cancer. Sem. Oncol. 5: 351.

351.MIRRA, A.P.; COLE, P. y MACMAHON, B. (1.971). Breast cancer in an area os high parity: Sao Paulo, Brazil. Cancer. Res. 31: 7?.

352.MONSON, R.R. y cols. (1.976). Chronic mastitis and carcinoma of the breast. Lancet. 2: 224.

353.MOORE, D.H., CHARNEY, J. y PULLINGER, B.D. (1.970). Mouse mammary tumor virus infectivity as a function of age inoculation breeding and total lapse time. J. Natl.Cancer Inst. 45: 561.

354.MORAN, R.E. y cols.(1.984). Correlation of cell-cycle kinetics, hormone receptors, histophathology, and nodal status in human breast cancer. Cancer. 54: 1586.

355.MOSHAKIS, V.; FORDICE, M.J. y GRIFFITHS, J.D. (1.983). Klinefelter's syndrome associated with breast carcinoma and Paget's disease of the nipple. Clin. Oncol. 9: 257.

356.MOSLER, J.A. y cols. (1.980). Apocrine differentiation

in human mammary carcinoma. Cancer. 46: 2463.

357. MOSSLER, J.A. y cols. (1.982). Correlation of mean nuclear area with estrogen receptor content in aspiration cytology of breast carcinoma. Acta. Cytol. 26: 417.

358. MOURIQUAND, J. y PASQUIER, D. (1.980). Fine needle aspiration of breast carcinoma. A preliminary cytoprognostic study. Acta. Cytol. 24: 153.

359. MUMFORD, C.J. y cols. (1.983). Tumor epithelial cellularity and quantitative oestrogen receptor values in primary breast cancer. Br. J. Cancer. 47: 549.

360. MUNFORD, S.A. y LINDER; H. (1.936). Carcinoma of the breast in homologous twins. Am. J. Cancer. 28: 393.

361. MURAD, T. y SYNDER, M. (1.973). The diagnosis of breast lesions from cytologic material. Acta. Cytol. 17: 418.

362. MURAD, T.; SWAID, S. y PRITCHETT, P. (1.977). Malignant and benign papillary lesions of the breast. Hum. Pathol. 8: 379.

363. McCONELL, K.P. y cols. (1.980). The relationship of dietary selenium and breast cancer. J. Surg. Oncol. 15: 67.

364. NAP, M.; KEUNING, H. y BURTIN, P. (1.984). CEA and NCEA in bening and malignant breast tumor. Am. J. Clin. Pathol. 82: 526.

365. NASCA, P.C. y cols. (1.980). Relationship of hair dye

use, benign breast disease, and breast cancer. J. Natl. Cancer. Inst. 64: 23.

366.NAYER, H.R. (1.957). Cylindroma of the breast with pulmonary metastases. Dis. Chest. 31: 324.

367.NEALON, T. F. Jr. y cols. (1.979). Pathologic identification of poor prognosis stage I (T_1 N_0 M_0). Cancer of the breast. Ann. Surg. 190: 129.

368.NEUBECKER, R.D. y BRADSHAW, R.P. (1.961). Mucin, melanin, and glycogen in Paget's disease of the breast. Am. J. Clin. Pathol. 36: 40.

369.NEWMAM, W. (1.963). In situ lobular carcinoma of the breast: report of 26 women with 32 cancers. Ann. Surg. 157: 591.

370.NEWMAN, W. (1.966). Lobular carcinoma of the female breast. Ann. Surg. 164: 305.

371.NICHOLSON, R.J. y cols. (1.981). Steroid receptors in early breast cancer: value in prognosis. J. Steroid. Biochem. 15: 193.

372.NIME, F.A. y cols. (1.977). Prognostic significance of tumor emboli in intramammary lymphatics in patients with mammary carcinoma. Am. J. Surg. Pathol. 1: 25.

373.OBERMAN, H.A. y STEPHENS, P.J. (1.972). Carcinoma of the breast in chilhood. Cancer. 30: 470.

374.O'GRADY, W.P. y McDIVITT, R.W. (1.969). Breast cancer

in a man treated with diethylbestrol.Arch. Path. 88: 162.

375.OLSZEWSKI, W. y cols. (1.981). Flow cytometry of breast carcinoma I. Relation of DNA ploidy level to histology and estrogen receptor. Cancer. 48: 980.

376.PAGE, D.L. y cols. (1.982). Intraductal carcinoma of the breast: follow-up after biopsy. Cancer. 49: 751.

377.PAGET, J. (1.874). On disease of the mammary areola preceding cancer of the mammary gland. St. Barth.Hosp. Rep. 10: 87.

378.PALMER, M.K.; LYTHGOE, J.P. y SMITH, A. (1.982). Prognostic factors in breast cancer. Br. J. Survival. 69: 697.

379.PAPANICOLAU, G.N. (1.943).
Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smears. Commonwealth Foundation. New York.

380.PAPANICOLAU, G.N. (1.946). Diagnostic value of exfoliate cells from cancerous tissues. J. A. M. A. 131: 372.

381.PAPANICOLAU, G.N. (1.954).
Atlas of exfoliative cytology. Cambridge, Maas. Harvard University Press.

382.PAPANICOLAU, G.N. y cols. (1.958). Exfoliative cytology of the human mammary gland and ist value in the diagnosis of cancer and other diseases of the breast. Cancer. 1: 377.

383. PAPATESTAS, A.E. y cols. (1.980). Association between estrogen receptors and weigth in women with breast cancer. Surg. Oncol. 13: 177.

384. PAPOTTI, M. y cols. (1.984). Association of breast carcinoma and multiple intraductal papillomas. A histological and inmuno-histochemical investigation. Histopathology. 8: 963.

385. PARL, F.F. y WAGNER, R.K. (1.980). The histopathological evaluation of human breast cancer in correlation with estrogen receptor values. Cancer. 46: 362.

386. PARL, F.F. y WAGNER, R.K. (1.981). Flow cytometry of breast carcinoma II relation of tumor cell cycle distribution to histology and estrogen receptor. Cancer. 48: 985.

387. PARL, F.F. y DUPONT, W.D. (1.982). A retrospective cohor study of histologic risk factor in breast cancer patients. Cancer. 50: 2410.

388. PARL, F.F. y RICHARDSON, L.D. (1.983). The histologic and biologic spectrum of tubular carcinoma of the breast. Hum. Pathol. 14: 694.

389. PASCUAL; M.R. y cols. (1.985). Factor associated with prognosis in human breast cancer. V. The simultaneous use of estrogen and progesterone receptor measurements for prediction of short-term relapse. Neoplasma. 32:247.

390. PASTIDES, H. y cols. (1.985). An epidemiologic study of fibrocystis breast disease with reference to ductal

399. PICHON, M.F. y cols. (1.980). Relationship of presence of progesterone receptors to prognosis in early breast cancer. Cancer. Res. 40: 3357.

400. PORTMANM, U.V. (1.943). Clinical and pathologic criteria as a basis for classifying cases of primary cancer of the breast.

401. POULSEN, H.S. y FREDERIKSEN, P. (1.981). Glucose-6-phosphate-deshidrogenase activity in human breast cancer. Lack of association with estrogen receptor content. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Sect. A. 59: 263.

402. POULSEN, H.S.; OZZELLO, L. y ANDERSEN, J. (1.982). Estrogen receptors in human breast cancer. Problems of correlation with histopathological features. Virchows. Arch. Abt. A. Pathol. Anat. 397: 103.

403. POWERS, R.W.; O'BRIEN, P.H. y KREUTNER, P. Jr. (1.979). Lobular carcinoma in situ. J. Surg. Oncol. 13: 269.

404. QAZI, R.; CHUANG, J.L. y DROBOSKY, W. (1.984). Estrogen receptors and the pattern of relapse in breast cancer. Arch. Intern. Med. 144: 2365.

405. RABEK, M.N. y cols. (1.982). Ploidy, proliferation and estrogen receptor content in human breast cancer. Cytometry. 3: 36.

406. RAE-VENTER, B. y cols. (1.981). Prolactin binding by human mammary carcinoma. Relationships to estrogen receptor protein concentration and patient age. Breast. Cancer. Res. Treat. 1: 3.

epithelial atypia. Am. J. Epidemiol. 121: 440.

391. PATANAPHAN, V.; SALAZAR, O.M. y POUSSIN-ROSILLO, H. (1.984). Prognosticators in recurrent breast cancer. A 15 years experience with irradiation. Cancer. 54:228.

392. PATEK, E. y cols. (1.980). Microfluorometric grading of mammary tumors. A pilot study. Anal. Quant. Cytol. 2: 264.

393. PATEY, D.H. y SCARFF, R.W. (1.928). The position of histology in the prognosis of carcinoma of the breast. Lancet. 1: 801.

394. PATHAK, D.R. y cols. (1.986). Parity and breast cancer risk: possible effect on age at diagnosis. Int. J. Cancer. 37: 21.

395. PAYMASTER, J.C. y GANGADHARAN, P. (1.972). Epidemiology of breast cancer in India. J. Natl. Cancer. Inst. 48: 1021.

396. PASI, P.L.M. (1.970). Citología y biopsia intraoperatoria en patología mamaria. Obstet. y Ginecol. Amer. 202:

397. PENROSE, L.S.; MACKENZIE, H.J. y KARN, M.N. (1.948). A genetical study of human mammary cancer. Br. J. Cancer. 2: 168.

398. PIKE, M.C. y ROSS, P.K. (1.984). Breast cancer. Br. Med. Bull. 40: 351.

407. RAINE, L.; HSU, S.M. y NAYAK, R.N. (1.981). Medullary carcinoma of the breast: An inmunohistochemical study of its lymphoid stroma. Cancer. 48: 1368.

408. RAMAZZINI De PADUA citado por HAAGENSEN, C.D.; BODIAN, M.S. y HAAGENSEN, D.E. (1.981). Breast carcinoma. Risk and detection. W.S. Saunders Company Philadelphia.

409. RAMIREZ, G. y ANSFIELD, F.J. (1.968). Carcinoma of the breast in children. Arch. Sur. 96: 222.

410. RASMUSSEN,B,B. y cols. (1.982). Monoclonal antibodies applied to primary human breast carcinoma. Relationship to menopausal status lymph node status and steroid hormone receptor content. Breast. Cancer. Res. Treat. 2: 401.

411. RASMUSSEN; B.B. y cols. (1.985). Prognostic value of surface antigens in primary human breast carcinomas detected by monoclonal antibodies. Cancer. Res. 45: 1424.

412. RASMUSSEN, B.B. y cols. (1.985). Elastosis in relation to prognosis in primary breast carcinoma. Cancer. Res. 45: 1428.

413. RASMUSSEN. B.B. y cols. (1.985). Argyrophilic cells in 202 human mucinous breast carcinomas. Relation to histopathologic and clinical factors. Am. J. Clin. Pathol. 84: 737.

414. RAUDRANT, D.; ROCHET, Y. y FRAPART, L. (1.980).

Lesions "Frontieres" du sein: hiperplasie atypique et cancer in situ. Etude anathomopatologique, clinique et therapeutique. Rev. Fr. Gynecol. Obstet. 75: 37.

415. RICH, M.A.; FURMANSKI, P. y BROOKS, S.C. (1.978). Prognostic value of estrogen receptor determination in patient with breast cancer. Cancer. Res. 38: 4296.

416. RICHARDSON, W.W. (1.956). Medullary carcinoma of the breast. A distinctive tumour type with a relatively good prognosis following radical mastectomy. Br. J. Cancer. 10: 415.

417. RICHTERS, A. (1.979). Breast cancer metastases and lymph node lymphocyte-macrophage interaction. J. Surg. Oncology. 13: 227.

418. RIGONI-STERN, D. (1.842). Fatti statistici relativi alle malattie cancerose che srvirono di base alle poche cose dette dal dott. Rigoni-Stern Gior. Servire Progr. Pat. e Terap. 2: 507.

419. RINGROSE, C. (1.966). The role of cytology in the early detection of breast disease. Acta. Cytol. 10: 373.

420. ROBERTS, A.N. y HAEHNEL, R (1.981). Oestrogen receptor assayand morphology of breast cancer. Aus. Pathology. 13: 317.

421. ROBERTSON, A.S.; BROWN, R.A. y CREE, I.A. (1.981). prognostic value of measuremnt of elastosis in breast carcinoma. J. Clin. Pathol. 34: 738.

422. ROBBINS, G.F. y BERG, J.W. (1.964). Bilateral primary

breast cancer: a prospective clinicopathological study. Cancer. 17: 1501.

423. ROBBINS, S.L. (1.975). Patología estructural y funcional. Ed. Interamericana. Madrid.

424. ROSE, D.P. y PRUIT, B.T. (1.981). Plasma prolactin levels in patients with breast cancer. Cancer. 48: 2687.

425. ROSEN, P.P. y cols. (1.975). Pathological review of breast lesions analyzed for estrogen receptor protein. Cancer. Res. 35: 3187.

426. ROSEN, P.P. y cols. (1.978). Lobular carcinoma in situ of the breast. Am. J. Surg. Pathol. 2: 225.

427. ROSEN, P.P. (1.979). The pathological classification of human mammary carcinoma: Past, present and future. Ann. Clin. Lab. Sci. 9: 144.

428. ROSEN, P.P. (1.980). Lobular carcinoma in situ: recent clinicopathologic studies at Memorial Hospital. Path. Res. Pract. 166: 430.

429. ROSEN, P.P. (1.980). Axillary lymph node metastases in patients with occult noninvasive breast carcinoma. Cancer. 46: 1298.

430. ROSEN, P.P. y WANG, T.Y. (1.980). Colloid carcinoma of the breast: analysis of 64 patients with long-term follow-up. Am. J. Clin. Pathol. 63: 304.

431.ROSEN, P.P. y cols. (1.981). Axillary micro and macrometastases in breast cancer. Prognostic significance of tumor size. Ann. Surg. 194: 585.

432.ROSEN, P.P. y cols. (1.981). Predictors of recurrence in stage I (T_1 N_0 M_0) breast carcinoma. Ann. Surg.193: 15.

433.ROSEN, P.P. y cols. (1.982). Epidemiology of breast carcinoma. III.Relationship of family history to tumor type. Cancer. 50: 171.

434.ROSEN, P.P.; HOLMES, G. y LESSER, M.L. (1.985). Juvenile papillomatosis and breast carcinoma. Cancer. 55: 1345.

435.ROSES, D.F. y cols. (1.982). Pathologic predictors of recurrence in stage I (T_1 N_0 M_0) breast cancer. Am. J. Clin. Pathol. 78: 817.

436.ROSS, T.K. y cols. (1.980). A case-control study of menopausal estrogen therapy and breast cancer. J. A. M. A. 243: 1635.

437.RUSSO, J.; TAYI, L.K. y RUSSO, I.H. (1.982). Differentiation of the mammary gland and susceptibility to carcinogenesis. Breast. Cancer. Res. Treat. 2: 5.

438.SAEZ, S.;ASSELAIN, B. y CHEIX, F. (1.983). Prognostic value of estrogen and progesterone receptors in primary breast cancer. Breast. Cancer. Res. Treat. 3: 345.

439.SAIGO, P. y ROSEN, P.P. (1.980). Prognostic factor in

vasive mammary carcinomas 1.0 or less in diameter. Am. J. Clin. Pathol. 73: 303.

440. SAINSBURY, J.R.C. y cols. (1.985). Epidermis growth factor receptor an human breast cancer. Br. J. Surgical. 72: 186.

441. SALOMON, A. (1.913). Beiträge zur Pathologie und Klinik der Mammacarcinome. Archiv. für. Klinischen Chirurgie 101: 573.

442. SALTZSTEIN, S.L. (1.974). Clinically occult inflammatory carcinoma of the breast. Cancer. 34: 382.

443. SAMAAN, N.A. y cols. (1.981). Estrogen receptor: A prognostic factor in breast cancer. Cancer. 47: 554.

444. SAPHIRO, S. (1.941). Mucinous carcinoma of the breast. Surg. Gynecol. Obstet. 72: 908.

445. SAPHIRO, S. y cols. (1.968). The risk factors in breast cancer. Am. J. Publ. Health. 58: 820.

446. SAPHIRO, S.y cols. (1.973). Risk factors in breast cancer; a prospective study. Iarc. Scientific. Publication. 7: 169.

447. SATTIN, W. y cols. (1.985). Family history and the risk of breast cancer. J. A. M. A. 253: 1908.

448. SAWTELL, N.M. y cols. (1.984). Expression of normal and tumor-associated antigens in human breast carcinoma. Lab. Invest. 51: 225.

449. SCARFF, R.W. y TORLONI, H. (1.968). Tipos histológicos de tumores de la mama. Clasificación histológica internacional de tumores, Vol. nº ?. Ginebra.

450. SCHIFFER, L.M. y cols. (1.979). The cell kinetics of human mammary cancers . Cancer. 43: 1707.

451. SCHIMMELBUSCH, C. (1.892). Cystoadenom der Mamma. Arch. Klin. Chir. 44: 117.

452. SCHLOTTHAUER, C.T. (1.940). Neoplams in the mammary gland of gogs. J. Am. V. Med. Ann. 96: 632.

453. SCHURCH, W.; LAGACE, R. y SEEMAYER,T.A. (1.982). Myofibroblastic stromal reaction in retracted scirrhous carcinoma of the breast. Surg. Gynecol. Obstet. 154: 351.

454. SCHWARTZ, M.R.; RANDOLPH; R.L. y PANKO, W.B. (1.985). Carcinoembryonic antigen and steroid receptors in the cytosol of carcinoma of the breast. Relationship to pathologic and clinical features. Cancer. 55: 2464.

455. SEARS, J.B. y SCHLESINGER, M.J. (1.940). Carcinoma of the breast in a ten years old girl. New. England. J. Med. 223: 760.

456. SEARS; H.F. y cols. (1.982). Breast cancer Without axillary metastases: are there high- risk biologic subpopulations ? Cancer. 50: 1820.

457. SEARSHORE, J.H. (1.975). Breast enlargements in infants and children. Pediatr. Ann. 4: 42.

458.SEIDMAN, H. (1.972). Cancer of the breast. Am. Cancer. Soc. New York.

459.SEVERINO, M.A. (1.632). De recondita abscessuum natura. Neapoli.

460.SHAY, H. y cols. (1.949). Development of adenocarcinoma of the breast in the Wister rat following the gastric instillation of methyl cholanthrene. J. Natl. Cancer. Inst. 10: 255.

461.SHIMOKAWARA, I. y cols. (1.982). Identification of lymphocyte subpopulation in human breast cancer tissue and its significance. An immunoperoxidase. study with anti human T-and B-cell sera. Cancer. 49: 1456.

462.SHIU, R.P.C. (1.979). Prolactin receptors in human breast cancer cells in long-term tissue culture. Cancer. Res. 39: 4381.

463.SHORE, R.E. y cols. (1.977). Breast neoplams in women trated with x-rays for acute postpartum mastitis. J. Natl. Cancer. Inst. 59: 813.

464.SHOUSHA, S. y cols. (1.979). Carcinoembryonic antigen in breast cancer tissue. A useful prognostic indicator. Br. Med. J. 1: 777.

465.SHUTERLAND,C.M. y MHATER, F.J. (1.985). Long-term survival and prognostic factor in patients with regional breast cancer (skin, muscle, and/or chest wall attachment). Cancer. 55: 389.

466.SIDKY; K. y WALKER, R.A. (1.984). Microglobulin in non-malignant and malignan human breast. A feature of differentiation. J. Pathol. 142: 135.

467.SIGAUX, F. y cols. (1.984). Malignant lymphomas with band 8q24 chomosome abnormality: a morphologic continuum extending from Burkitt's to inmunoblastic lymphoma. Br. J. Emathol. 53: 393.

468.SKLAREW, R.J.; HOFFMAN, J. y POST, J. (1.977). A rapid vitro method for measuring cell proleferation in human breast cancer. Cancer. 40: 2299.

469.SKIPPER, H.F. (1.971). Kinetics of mammary tumor cell growth and implications for therapy. Cancer. 28: 1479.

470.SILFEVERSWARD, C. y cols. (1.980). Estrogen receptor concentrations in 269 cases of histolcgically classified human breast cancer. Cancer. 45: 2001.

471.SILVERBERG, S.G. y RODDY, H.J. (1.980). Ultraestructural analysis of apocrine carcinoma of the human breast. Ultraestruct. Pathol. 1: 385.

472.SIEVESTRINI, R.; DAIDONE, M.G. y GASPARINI, G. (1.985). Cell kinetics as a prognostic marker in node-negative breast cancer. Cancer. 56: 1982.

473.SMITH, H.A. y JONES, T.C. (1.960). Veterinary pathologic. 2ª Ed. Philadelphia.

474.SMITHERS, D. W. y cols. (1.952). Cancer of the breast. Br. J. Radiol. Suppl. 4.

475.SPIELGEMAN, S. y cols. (1.980). Possible diagnostic implications of a mammary tumor virus related protein in human breast cancer. Cancer. 46: 879.

476.SPRATT, J.S. y DONEGAN,W.L. (1.967). Cancer of the Breast. W. B. Saunders. Philadelphia.

477.SPRATT, J.S. y cols. (1.985). Association of chronic cysti mastopathy-xeromammographic patterns and cancer. Cancer. 55: 1372.

478.STASZEWSKI, J. y HAENZEL, V. (1.965). Cancer mortality among the polisch-born in the United States. J. Natl. Cancer. Inst. 35: 291.

479.STAVRAKY, K. y EDMMONS, S. (1.974). Breast cancer in premenopausal and postmenopausal women. Cancer. Inst. 53: 647.

480.STEINBRECHER, J.S. y SILVERBERG, S.G. (1.976). Signet-ring cell carcinoma of the breast. The mucinous variant of infiltrating lobular carcinoma ? Cancer. 37: 828.

481.STEINHOFF,N.C. y BLACK, W.C. (1.970). Florid cystic disease preceding mammary cancer.Ann. Surg. 171: 501.

482.STEINTHAL,C.F. (1.905). Zur Dauerheilung des Brustkrebses. Beitr. Z. Klin. Chir. 47: 226.

483.STENKVIST, B.; WESTMAN-NAESER, S. y VEGELIUS, J.(1.979). Analysis of reproducibility of subjetive grading systems for breast carcinoma. J. Clin. Pathol. 32: 979.

484. STENKVIST, B. y cols. (1.981). Correlation between cytometric features and mitotic frequency in human breast carcinoma. Cytometry. 1: 287.

485. STENKVIST, B. y cols. (1.981). A morphometric expression of differentiation in fine-needle biopsies of breast cancer. Cytometric. 1: 292.

486. STEPEHNS, F.E.; GARDNER, E.J. y WOOLF, C.M. (1.958). A recheck of kindren 107, with shown a high frequency of breast cancer. Cancer. 11: 967.

487. STEWART, F.W. (1.950). Tumor of the Breast. Atlas of tumor pathology. IX. 34. Washington. D.C.

488. STOCKER, A.(1.902). Ueber den Krebs der tiere. Arch. F. Klin. Chir. (citado por Kitt).

489. STOCKER, A. (1.907). Wesen und Entstehung der Krebskrankheit. Med. Klinik. (citado por Kitt).

490. STRAUSS, M.J. y MORAN, R.E. (1.980). The cell kinetics of human breast cancer. Cancer. 46: 2634.

491. SYRJANEN, K. y KOSMA, V.M. (1.982). Hormone receptor levels related to histological parameters of tumor: host relationships in female breast carcinoma. J. Surg. Oncol. 21: 49.

492. TALAMINI, R. y cols. (1.985). Reproductive and hormonal factors and breast cancer in a northen Italian population. Int. J. Epidemiol. 14: 70.

493. TANIMURA, A. y KONAKA, K. (1.980). Carcinoma of the breast in a 5 years old girl. Acta. Pathol. Jpn. 30: 157.

494. TANNER, J.M. (1.968). Earlier maturation in man. Scientific American 218: 21.

495. TARTTER, P.I. y cols. (1.981). Cholesterol and obesity as prognostic factors in breast cancer. Cancer. 47: 2222.

496. TAVASSOLI, F.A. y NORRIS, H.J. (1.980). Secretory carcinoma of the breast. Cancer. 45: 2404.

497. TAXY, J.B. y cols. (1.981). "Carcinoid" tumor of the breast. A variant of conventional breast cancer?. Hum. Pathol. 12: 170.

498. TAYLOR, R.S.; CARROLL, B.E. y LLOYD, J.W. (1.959). Mortality among women in 3 catholic religious orders with special reference to cancer. Cancer. 12: 1207.

499. TAYLOR, H.B. y NORRIS, H.J. (1.970). Well-differentiated carcinoma of the breast. Cancer. 25: 687.

500. TEICH, J.M.; YOUNG, I.T. y SHER, S.E. (1.979). Transformation of nuclear morphology during cellular maturation. J. Histochem. Cytochem. 27: 193.

501. TERENIUS, L. y cols. (1.974). Malignan and benign human mammary disease: estrogen binding in relation to clinical data. Cancer. 33: 1364.

502.THIRLWELL, M.P. y cols. (1.976). A rapid in vitro labeling index method for predicting response of human solid tumors to chemotherapy. Cancer. Res. 36: 3279.

503.THORENSEN, S. y cols. (1.981). Estrogen receptor values and histological grade in human breast cancer. Histophathology. 5: 257.

504.THORUD, E. y cols. (1.986). Primary breast cancer: flow cytometric DNA pattern in relation to clinical and histopathologic characteristics. Cancer. 57: 808.

505.TOBON, H. y PRICE, H.M. (1.972). Lobular carcinoma in situ. Some ultraestructural observations. Cancer. 39: 1082.

506.TOKUNAGA, M. y cols. (1.979). Malignan tumors among atomic bomb survivors , Hiroshima and Nagasaki 1.950-1.974. J. Natl. Cancer. Inst. 62: 1347.

507.TORRES. F.J. (1.981).
Cancer de mama. Diagnóstico citológico en patología mamaria. pags. 85. Ed. Univ. de Malaga.

508.TOSI, P. y cols. (1.985). Morphometrical assesment of mean nuclear area in breast cancer in comparison with that of lymph node metastases. Path. Res. Pract. 180: 498.

509.TOYOSHIMA, S. (1.983). Mammary carcinoma with argyrophilic cells.Cancer. 52: 2129.

510.TREVES, W. y HOLLEB, A.I. (1.955). Cancer of the male breast: a report of 146 cases. Cancer. 8: 1239.

511.TRICHOPOULOS, D.; MacMAHON, B. y COLE, P. (1.972). The meropause and breast cancer risk. J. Natl. Cancer. Inst. 4[illegible]: 615.

512.TRICHOPOULOS: D.; MacMAHON, B. y BROWN, J. (1.980). Socioeconomic status, urine estrogens and breast cancer. J. Natl. Cancer. Inst. 64: 753.

513.TUBIANA, M. y cols. (1.975). Vitesse de croissance et histoire naturele de cancer du sein. Bull. Cancer. 62: 341.

514.URBAN, J.A. (1.967) Bilaterality of cancer of the breast. Cancer. 20: 1867.

515.URIBURU, J.B. (1.977). La mama. Vol. 2. Ed. López Libreros. Buenos Aires.

516.VILAPLANA, E. y cols. (1.983). Patología mamaria. Citología mamaria. Clinica Ginecológica. Vol. 7/1. Ed. Salvat.

517.VILAPLANA; E. y JIMENEZ-AYALA, M. (1.975). The cytologic diagnosis of breast lesions. Acta. Cytol. 19: 519.

518.VELPEAU, A.A.L. (1.854). Traite des maladies du sein et de la region mammaire. Ed. V. Masson. Paris.

519.Van der VERFF, J. (1.956). The influence of age marital state on tne ocurrence of mammary cancer. J. Belg. Radiol. 39: 706.

520.VERONESI, V. y PIZZOCARO, C. (1.968). Breast cancer in women subsequent to cystic disease of the breast. Surg. Ginecol. Obstet. 126: 529.

521.VERSLUYS, J.J. (1.955). Marriage fertility and cancer mortality of specifically female organs: mammary carcinoma. Br. J. Cancer. 9: 239.

522.VESSEY, M.P. y cols. (1.983). Oral contraceptives and breast cancer. Final report of an epidemiology study. Br. J. Cancer. 47: 455.

523.Van der VOLK, P. y cols. (1.983).Morphometric characterization of 52 B cell non-Hodgin's lymphomas. J. Clin. Pathol. 36: 289.

524.VORHERR, H. (1.981). Pathobiology of breast cancer: hypothesis of biological predetermination and long-term survival. Klin. Wochenschr. 59: 819.

525.WAALER, G.H.M. (1.932). Ueber die Erblichkeit des Krebes. Nord. Med. Tidskr. 4: 761.

526.WAARD, De F.; Van der VELDEN, J. y De DOES, M.(1.985) The. influence of the relative body weigth on the prognosis of breast cancers. Ned. Tudschr. Genceskd. 129: 454.

527.WAINWRIGHT, J.M. (1.931). A comparison of conditions associated with breast cancer in great Britain and America. Am. J. Cancer. 15: 2610.

528.WALLGREN, A. y ZAJICEK, J. (1.976). The prognostic

value of the aspiration biopsy smear in mammary carcinoma. Acta. Cytol. 20: 479.

529.WALLGREN, A. y SILFVERSWARD, C. (1.976). Evaluation of needle adpirates and tissues section as prognostic factors in mammary carcinoma. Acta. Cytol. 20: 313.

530.WALZEL-WIESENTREU, A. y STARLINGER, R. (1.925). Nachubtersuchungen an in Laufe von 20 Jahren An der Klinik behandelten brustdrüsenentzündungen. Dtsch. Z. Chir. 191: 336.

531.WARREN, S. (1.940). The relation of "chronic mastitis" to carcinoma of the breast. Surg. Ginecol. Obstet. 71: 257.

532. WASSINK, W.F. (1.935). Cancer et heredite. Genetica. 17: 103.

533.WEISS, M.A. y cols. (1.981). Heterogeneity of $beta_2$-microglobulin in human breast carcinoma. Lab. Invest.45: 46.

534.WEIGAND, R.A. y cols. (1.982). Blood vessel invasion and axillary lymph node involment as prognostic indicators for human breast. Cancer. 50: 962.

535.WELLINGS,S.R. (1.980). A hypothesis of the origin of human breast cancer from the terminal duct lobular unit. Path. Res. Pract. 166: 515.

536.WERNICKE, M. y PODESTA, A. (1.984). Host defense factors tumor aggressiveness, and prognosis associated with car-

cinomas of the breast. Hum. Pathol. 15: 423.

537.WHEELER,J.E. y cols. (1.974). Lobular carcinoma in situ of the breast. Long-term follow-up. Cancer. 34: 554.

538.WILLET, W.C. y MacMAHON, B. (1.984). Diet and cancer. An overwiew. New. England. J. Med. 310: 633.

539.WILLIAMS, R.R. y cols. (1.978). Case-control study of antyhipertensive and diuretic use by women with malignan and benign breast lesions detected in a mammogaphy screening program. J. Natl. Cancer. Inst. 61: 327.

540.WILLIS, R.A. (1.960).
Pathology of Tummors. Butterworth. London.

541.WOLFF, G.N. y HAAGENSEN, C.D. (1.981). Tubular carcinoma of the breast. Clinical pathologic correlations based on 100 cases. Ann. Surg.193: 138.

542.WOOLF, C.M. (1.955). Investigations on genetics aspects of carcinoma of the stomach and breast. Public. Health. 2: 265.

543.WORLD HEALTH. (1.947).
Statistics-report, vol. 27-7. World Health organization.

544.WORLD HEALTH. (1.962).
Statistics annual. Geneve.

545.WYNDER, C.M.; BROSS, I.J. y HIRAYAMA, T. (1.960) A study of the epidemiology of cancer of the breast. Cancer. 13: 559.

546.WYNDER, E.L.; MacCORMACK, F.A.y STELLMAN, S.D. (1.978). The epidemiology of breast cancer in 785 United States Caucasian women. Cancer. 41: 2341.

547.YU, H. (1.979). The prognostic value of axillary lymph gland sinus histiocytosis in female mammary carcinoma. Chin. Med. J. 92: 353.

548.YUASA, S. y MacMAHON, B. (1.970). Lactation and reproductive histories of breast cancer patients in Tokyo. Japan.Bull. Wld. Hlth. Org. 42: 195.

549.YOUNG, I.T.; WALKER, K.E. y BOWIE, J.E. (1.974). An analysis techique for biological shape I. Inform. Control. 25: 455.

550.ZAJDELA, A; SARAVIA DE LA RIVA, L. y GHOSSEIN, N.A. (1.979). The relation of prognosis to the nuclear diameter of breast cancer cells obtained cytologic aspiration. Acta.Cytol. 23: 75.

551.ZAJDELA, A.; ASSELAIN, B. y GHOSSEIN, N.A. (1.985). Comparison between the nuclear diameters of primary and metastatic breast cancer cells obtained by cytologic aspiration. Cancer. 56: 1605.

552.ZAJICKEK, J. y cols. (1.970). Cytologic diagnosis of mammary tumors from aspiration biopsy smears: Comparison of cytologic and histologic findings in 2.111 lesions and diagnostic use of cytophotometry. Acta. Cytol. 14: 370.

553.ZAJICKEK, J. (1.974). Aspiration biopsy cytology. Part. I. Cytology of supradiaphragmatic organs. Karger.

ADENDA:

1. HENNING, T. y cols. (1.982). Diagnóstico y tratamiento del Cancer de Mama. F. Hoffman-Le Roche y Cia. Basilea. Suiza.

2. LANGLANDS, A.O. y cols. (1.979). Long-term survival of patients with breast cancer: a study of the curability of the disease. Br. Med. J. 2: 1247.

3. TJIO, J.H. y LEVAN, A. (1.956). Chromosome number in man. Hereditas 42: 1.