

## Expresión de receptores hormonales frente a indicadores pronósticos en carcinoma de mama

Roberto Jaramillo, M.D.<sup>1</sup>, Luis E. Bravo, M.D.<sup>2</sup>, Edwin Carrascal, M.D.<sup>2</sup>, Oscar Tamayo, Lic.<sup>3</sup>

### RESUMEN

Cada vez es más importante encontrar factores pronósticos para el carcinoma de mama que orienten a un tratamiento con mejores resultados. La expresión de receptores hormonales en el tejido tumoral junto con otras variables macroscópicas y microscópicas han mostrado ser indicadores de pronóstico, siendo también útiles en la decisión de instaurar terapia antihormonal. Estas razones justifican la implementación de la técnica de inmunohistoquímica para tejido formolizado e incluido en parafina, en el Hospital Universitario del Valle de Cali. La población incluida en el estudio correspondió a 32 casos de carcinoma de mama a los cuales se les solicitó dicho estudio en el período comprendido entre diciembre, 2001 y febrero, 2002. Del total de casos, 90.6% correspondió a carcinomas ductales infiltrantes convencionales que fueron clasificados histológicamente con base en el método de Elston et al. (Nottingham breast cancer grading method). Se encontró una estrecha relación entre la expresión de receptores hormonales y las diferentes variables de diferenciación histológicas, principalmente en estrógenos. No se encontró mayor asociación entre la expresión de receptores y las variables macroscópicas y clínicas. Se propone la implementación de un método histológico de baja complejidad y alta reproducibilidad que genere indicadores pronósticos confiables.

Palabras clave: Carcinoma ductal infiltrante. Factores pronósticos. Receptores de estrógenos. Receptores de progesterona.

En países desarrollados una de cada nueve mujeres desarrolla cáncer de mama a lo largo de su vida y la tercera parte de ellas, muere debido a esta neoplasia, lo que puede llegar a aportar más de 44.000 muertes anuales<sup>1</sup>.

En Colombia el cáncer de mama es la segunda neoplasia maligna más frecuente en mujeres, después del cáncer de cuello uterino; además, es la mayor causa de muerte en mujeres entre los 15 a 54 años<sup>2</sup> y específicamente en Cali, según información obtenida del Registro Poblacional de Cáncer de Cali (RPCC), Departamento de Patología, Universidad del Valle. Esta neoplasia presenta la mayor incidencia por encima del cáncer de cuello uterino.

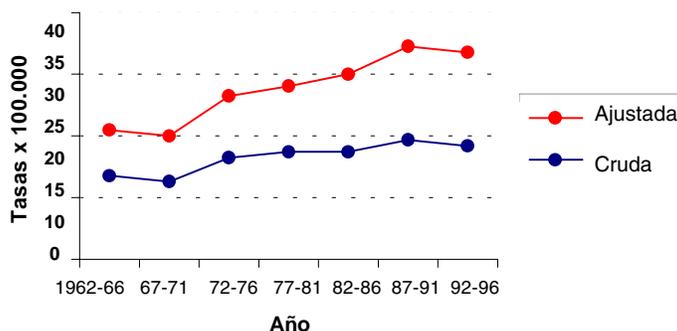


Figura 1. Tendencia de las tasas de incidencia de cáncer de mama en Cali

Fuente: Registro Poblacional de Cáncer de Cali, Departamento de Patología, Universidad del Valle

La incidencia global del cáncer de mama en la población de Cali mostró un incremento progresivo entre 1962 y 1987 y desde entonces tiene la tenden-

cia a permanecer estable, con una tasa bruta de 29.6 por 100.000 habitantes y una tasa estandarizada por edad de 37.1 por 100.000 habitantes para 1996; comportamiento muy semejante al observado a nivel mundial (Figura 1).

En lo referente a la mortalidad, esta ha mostrado con el tiempo una estabilización y en algunos países desarrollados, se encuentra una leve disminu-

1. Médico Residente de Anatomía Patológica y Patología Clínica, Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali. e-mail: rjaramillov@yahoo.com
2. Profesor Asociado, Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali.
3. Magister en Morfología, Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali.

ción en la población de raza blanca, resultados que se pueden explicar debido al descubrimiento temprano y a la disponibilidad de manejos con mejores respuestas terapéuticas, razón por lo cual cada día se hace más énfasis en el estudio de su etiopatogenia, métodos diagnósticos y terapéuticos<sup>1,2</sup>.

Así es como muchos de los esfuerzos están siendo encaminados al conocimiento de diversos procedimientos diagnósticos que proporcionen un descubrimiento temprano, además de investigación de métodos que den claridad sobre el estadio tumoral y su consecuente pronóstico, para poder proporcionar un manejo terapéutico apropiado que disminuya la morbilidad y mortalidad por esta neoplasia<sup>2</sup>.

Existen diversos factores predictores del pronóstico del paciente con cáncer de mama, dentro de los que se encuentran hallazgos macroscópicos como el tamaño tumoral y el número de metástasis, las características de tipo microscópico que se encuentran directamente relacionadas con el grado de diferenciación del tumor, como el grado histológico y nuclear, el índice de mitosis y por supuesto el tipo de tumor<sup>2-18</sup>. Con respecto a las características histológicas se sabe que entre más diferenciado sea el tumor, con respecto del tejido donde se origina, su comportamiento biológico será menos agresivo con un mejor pronóstico<sup>2-13</sup>.

Actualmente se conocen otros marcadores mucho más específicos, determinados por técnicas de inmunohistoquímica o de biología molecular, cuya expresión se encuentra estrechamente relacionada con el pronóstico y dentro de los que vale la pena mencionar, los receptores hormonales (estrógenos y progesterona), los medidores de proliferación (Ki67, antígeno proliferante, fracción S, índice de timidina), algunos antioncogenes (p53 mutado) y factores de crecimiento (c-erb B2),

entre otros y que están actualmente disponibles para propósitos de investigación o incluso para la aplicación clínica en algunos centros especializados<sup>2-4,11,19,20</sup>.

El presente trabajo corresponde a un estudio descriptivo que busca conocer la expresión de receptores hormonales (estrógenos y progesterona) en el tejido tumoral mamario de los casos procesados y revisados en el Departamento de Patología del HUV, para comparar los resultados con las diferentes variables macroscópicas y microscópicas indicadoras de pronóstico y además confrontarlos con la información bibliográfica disponible.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se incluyeron todos los casos de carcinoma de mama producto de mastectomía radical modificada y cuadrantectomía con bloques de parafina e informes histopatológicos, a los cuales se les solicitó estudio de inmunohistoquímica para receptores hormonales en el período comprendido entre diciembre 1, 2001 y febrero 28, 2002, en el Departamento de Patología del HUV, Cali, y que correspondieron a la totalidad del material disponible con inmunohistoquímica hasta la fecha de finalización del estudio. Para todos los casos se obtuvieron muestras histológicas teñidas con hematoxilina eosina que representaban adecuadamente la lesión tumoral.

Los marcadores inmunohistoquímicos evaluados fueron los receptores para estrógenos y progesterona en las células tumorales. La inmunohistoquímica se realizó a la muestra más representativa del tejido tumoral mamario y a los correspondientes controles, aplicando la técnica de inmunoperoxidasa indirecta con reactivos del kit Dako ER/PR código K1900, en tres etapas, según el protocolo establecido

por la casa comercial. El rescate de antígenos se desarrolló con autoclave a presión de 20 atmósferas y con temperatura de 120° C durante 20 minutos. La peroxidasa endógena se bloqueó por incubación con peróxido de hidrógeno al 0.3% durante 30 minutos. Luego se incubaron las secciones histológicas durante 10 minutos, con el anticuerpo monoclonal contra receptores hormonales. Posteriormente las muestras fueron reincubadas con el anticuerpo secundario biotinilado durante 10 minutos, seguidos de la adición del complejo estreptavidina-peroxidasa durante 10 minutos. Para encontrar el producto final coloreado se utilizó diamonobencidina y se contrastaron las secciones con hematoxina de Mayer de acuerdo con la metodología convencional.

El estudio microscópico de las muestras teñidas con hematoxilina eosina sirvió para confirmación del diagnóstico y la clasificación del grado de diferenciación tumoral, que se realizó con base en el método de Elston *et al.* (Nottingham breast cancer grading method)<sup>7-11</sup> que corresponde a una graduación modificada de la escala de Bloom & Richardson<sup>6</sup>, que se aplica para el carcinoma ductal convencional<sup>22</sup> (Cuadro 1).

Para la evaluación de las muestras de inmunohistoquímica, se informó el porcentaje de expresión de receptores de estrógenos y de progesterona en 100 células tumorales representativas, considerándose positiva una expresión mayor de 5%. Se revisaron los informes de patología para obtener información sobre la edad, diagnóstico histológico, tamaño del tumor y número de metástasis.

En lo referente al tamaño tumoral, se consideró de buen pronóstico cuando la lesión medía menos de 1 cm en su diámetro mayor, de mal pronóstico cuando medía más de 6 cm de diámetro

**Cuadro 1**  
**Clasificación histológica del grado de diferenciación tumoral para el carcinoma ductal convencional infiltrante de mama según método de Elston *et al.*<sup>3,7</sup>**

Características histológicas	Puntaje
<b>Formación de túbulos</b> (dentro del tumor)	
>75%	1
10%-75%	2
<10%	3
<b>Pleomorfismo nuclear</b>	
Pequeños, regulares y uniformes	1
Moderada variación de forma y tamaño	2
Marcada variación de forma y tamaño	3
<b>Conteo mitótico en 10 campos de alto poder</b> (Depende del área del campo del microscopio)	
Diámetro del campo de 0.44 mm/área del campo 0.152 mm <sup>2</sup>	
0-5	1
6-10	2
>11	3
Diámetro del campo de 0.59 mm/área del campo 0.274 mm <sup>2</sup>	
0-9	1
10-19	2
>20	3
<b>Score total</b>	
3-5: grado I, bien diferenciado	
6-7: grado II, moderadamente diferenciado	
8-9: grade III, mal diferenciado	

y de pronóstico intermedio los valores entre 1 y 6 cm<sup>2,11,18</sup>. Para la evaluación del pronóstico, según el número de ganglios linfáticos infiltrados por el tumor, se consideró de bajo riesgo cuando no habían ganglios comprometidos, de alto riesgo cuando había más de 4 ganglios comprometidos y de riesgo moderado entre 1 y 3 ganglios con metástasis<sup>2,11,16,17</sup>.

## RESULTADOS

En total se incluyeron en el estudio 32 casos que cumplían con los requisitos antes mencionados. De estos, 26 (81.3%) fueron procesados en el Departamento de Patología del HUV y 6 (18.8%) provenían de laboratorios de patología externos.

La edad de las pacientes osciló entre 32 y 76 años, con un promedio de

55.3 años; 68.8% de los casos eran mayores de 50 años. En lo referente al diagnóstico, 29 (90.6%) casos correspondían a carcinoma ductal convencional infiltrante y 3 (9.4%) eran carcinomas lobulares infiltrantes (Cuadro 2).

Para la clasificación del pronóstico según el número de metástasis ganglionares se encontró que 9 (28.1%) casos presentaban bajo riesgo, 10 (31.3%) tenían alto riesgo, 7 (21.9%) riesgo moderado; en 4 (12.5%) casos no se conocía el riesgo porque el espécimen recibido correspondía a cuadrantectomía sin vaciamiento ganglionar y en 2 (6.3%) no se sabía, pues eran casos de laboratorios externos donde no se suministró dicha información. Con respecto al tamaño tumoral se observó que 2 (6.3%) casos presentaban buen pronóstico, 1 (3.1%) mal

pronóstico, 27 (84.4%) pronóstico moderado y 2 (6.3%) casos externos no tuvieron la información pertinente (Cuadros 2 y 3).

El grado de diferenciación tumoral obtenido con base en el método de Nottingham<sup>7-11</sup> del análisis histológico de las muestras teñidas con hematoxilina eosina mostró buena diferenciación en 7 (21.9%) casos, moderada diferenciación en 11 (34.4%) casos y mala diferenciación en 11 (34.4%). En 3 (9.4%) casos no se realizó dicha clasificación pues correspondían a carcinomas lobulares infiltrantes, a los cuales no se aplica la escala utilizada (Cuadros 2 y 3).

La expresión de receptores hormonales para estrógenos mostró una negatividad en 46.9% de los casos. Los restantes positivos mostraron expresión elevada en 43.8% (mayor de 50%) y baja expresión en 9.4% del total. En lo referente a progesterona se encontró que 40.6% eran negativos y los positivos presentaron alta expresión en 25% y baja expresión en 34.4% de los casos (Cuadro 2).

Con respecto al grado de expresión de los receptores hormonales se observó que no existían diferencias significativas, considerando únicamente si era positivo con respecto a si se tenía en cuenta la baja o alta expresión de receptores, razón por la cual se utilizó la primera consideración.

La expresión de receptores de estrógenos mostró una estrecha relación con la diferenciación histológica, encontrando que 10 de los 11 (91%) carcinomas ductales mal diferenciados no expresaban dichos receptores, frente a la totalidad de los carcinomas ductales bien diferenciados que en un número de 7 expresaron los receptores y 54.5% de los carcinomas moderadamente diferenciados fueron positivos en su expresión (Cuadro 3).

Para la expresión de receptores de

**Cuadro 2**  
**Datos generales de la población con carcinoma de mama a la que se le realizó estudio de receptores hormonales**

Diagnóstico	Edad años	Riesgo según metástasis	Riesgo según tamaño tumoral	Grado de diferenciación	Expresión receptor estrógenos progesterona	
CDI	48	alto	moderado	III	negativo	<50%
CLI	66	bajo	moderado	NA	>50%	negativo
CDI	67	NA	bajo	III	>50%	<50%
CLI	45	SD	SD	NA	<50%	>50%
CDI	37	moderado	moderado	II	negativo	<50%
CDI	70	alto	moderado	III	negativo	negativo
CDI	56	bajo	moderado	I	>50%	<50%
CDI	57	moderado	moderado	II	>50%	<50%
CDI	76	moderado	moderado	III	negativo	negativo
CDI	61	NA	moderado	I	>50%	<50%
CDI	58	NA	moderado	I	<50%	negativo
CDI	50	NA	moderado	II	negativo	negativo
CDI	35	moderado	moderado	II	negativo	negativo
CDI	39	bajo	moderado	I	>50%	<50%
CDI	73	alto	moderado	III	negativo	negativo
CDI	50	alto	moderado	II	negativo	<50%
CDI	74	moderado	moderado	II	>50%	>50%
CDI	60	bajo	moderado	I	>50%	<50%
CDI	40	alto	moderado	III	negativo	negativo
CDI	32	alto	moderado	III	negativo	negativo
CDI	55	alto	moderado	III	negativo	negativo
CLI	57	alto	alto	NA	<50%	<50%
CDI	45	bajo	moderado	III	negativo	negativo
CDI	65	SD	SD	I	>50%	negativo
CDI	58	alto	moderado	III	negativo	negativo
CDI	54	moderado	moderado	II	>50%	>50%
CDI	69	bajo	moderado	II	>50%	>50%
CDI	49	bajo	moderado	III	negativo	<50%
CDI	59	alto	moderado	II	>50%	>50%
CDI	62	moderado	moderado	I	>50%	>50%
CDI	64	bajo	bajo	II	negativo	>50%
CDI	40	bajo	moderado	II	>50%	>50%

CDI: carcinoma ductal infiltrante. SD: sin datos. NA: no aplica. I: bien diferenciado. II: moderadamente diferenciado, III: mal diferenciado.

progesterona se observó en general una tendencia en la relación con el nivel de diferenciación tumoral, encontrando que 8 de los 11 (72.7%) carcinomas ductales mal diferenciados carecían de expresión, mientras que 5 de los 7 (71.4%) carcinomas bien diferenciados los expresaban y 81.8% de los moderadamente diferenciados fueron positivos para dichos receptores. En lo referente con los 3 casos de carcinoma lobular se observó que todos expresaron receptores de estrógenos y 2 de ellos receptores de progesterona (Cuadro 3).

En general se encontró que existe

una fuerte relación entre la expresión de receptores hormonales y los diferentes índices histológicos de diferenciación tumoral aplicables al carcinoma ductal infiltrante, mucho mayor para receptores de estrógenos que para receptores de progesterona. El estudio de la expresión de receptores hormonales con respecto a las variables macroscópicas y clínicas descritas, no evidenció asociaciones de importancia (Cuadro 3).

## DISCUSIÓN

Cada día se observa un aumento en la generación de información pronóstica

que con diferentes grados de significancia, trata de orientar un óptimo manejo terapéutico para cada caso, evitando así un sub o sobre tratamiento. Es así como se buscan desde el punto de vista histológico, métodos más refinados que proporcionen una mejor información pronóstica.

En la valoración histológica del cáncer de mama, los criterios morfológicos pronósticos, no están claramente definidos ni unificados y a su vez existe una importante variación interobservador, demostrada en diferentes estudios<sup>3,11</sup>. Estas falencias pueden ser superadas con la implementación de sistemas de graduación más objetivos que con criterios estrictos, fáciles y rápidos sean reproducibles y finalmente proporcionen resultados más consistentes. Por ello se propone la implementación del método de Elston *et al.* (Notttingham breast cancer grading method)<sup>7,11,23-27</sup> logrando generar finalmente valores indicadores de sobrevida sobre los cuales se diseñen propuestas terapéuticas<sup>11,28-32</sup>.

En lo referente a la predicción de sobrevida basada en la expresión de receptores hormonales, factores de crecimiento y marcadores de ciclo celular en el tejido tumoral mamario, se encuentra una importante significancia estadística en estudios con análisis univariado, pero en análisis multivariados esta significancia se ve limitada frente a las variables histológicas básicas descritas y por ello es de suma importancia la implementación de una apropiada clasificación histológica<sup>2,3,4,11,19,20</sup>.

En el presente trabajo se observó

**Cuadro 3**  
**Expresión de receptores hormonales en carcinoma de mama con respecto a variables microscópicas, macroscópicas y clínicas**

	Receptores positivos				
	N	Estrógenos		Progesterona	
		n	%	n	%
<b>Diferenciación tumoral</b>					
Bien diferenciado	7	7	100.0	5	71.4
Moderadamente	11	6	54.5	9	81.8
Mal diferenciado	11	1	9.1	3	27.3
Lobular	3	3	100.0	2	66.7
<b>Edad (años)</b>					
<50	10	3	30.0	6	60.0
≥50	22	14	63.6	13	59.1
<b>Tamaño tumoral (cm)</b>					
<1	2	1	50.0	2	100.0
1.6	27	13	48.1	15	55.6
>6	1	1	100.0	1	100.0
Sin datos	2	2	100.0	1	50.0
<b>Estado ganglionar</b>					
Sin metástasis	9	6	66.7	7	77.8
1-3 ganglios infiltrados	7	4	57.1	5	71.4
Mayor de 4 ganglios	10	2	20.0	4	40.0
Sin vaciamiento	4	3	75.0	2	50.0
Sin datos	2	2	100.0	1	50.0

una fuerte correlación entre el grado de diferenciación histológica del tumor y la expresión de receptores de estrógenos, mientras que no se encontró mayor relación entre la expresión de receptores hormonales y las características macroscópicas y clínicas, hallazgos que se encuentran dentro de lo observado en otros estudios<sup>11,29</sup>. Por otra parte el valor de la expresión de los receptores hormonales presenta una utilidad importante dentro de la decisión terapéutica de la utilización de terapia hormonal, teniendo en cuenta el índice pronóstico de cada paciente.

Aunque el tamaño de la muestra es una limitación del estudio, debe considerarse que corresponde a la población completa con la cual se inició y estandarizó la técnica de inmunohistoquímica en tejido formolizado e incluido en parafina en el HUV y sobre estas bases podrán desarrollarse posteriores estudios analíticos.

### SUMMARY

It is important to find prognostic factors for breast carcinoma to guide toward better treatments. The expression of hormonal receptors in tumoral tissue has shown to be an indicator of prognostic, together with other macroscopic and microscopic variables, these are also useful to begin antihormonal therapy. This is why the Hospital Universitario del Valle of Cali implemented the immunohistochemical technique for formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. The population included in the study corresponded to 32 cases of breast carcinoma that were requested for this study in the period between December of the 2001 and February of the 2002. The 90.6% of the cases corresponded to conventional invasive ductal carcinomas that were classified based on the histological method of Elston and associates

(Nottingham breast cancer grading method). A narrow relationship was seen between the expression of hormonal receptors and the different histological variables of differentiation, mainly estrogens. There was not an important association between the expression of receptors and the macroscopic and clinical variables. We intend to implement a histological method of low complexity and high reproducibility that generates reliable prognostic indicators.

**Key words:** Invasive ductal carcinoma. Prognostic factors. Estrogen receptors. Progesterone receptors.

### REFERENCIAS

1. Cotran R, Humar V, Collins T. Breast carcinoma. In: *Robbins Pathologic bases of disease*. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1999. p. 1149-1162.
2. Ramírez G, Patiño J, Castro C, et al. (eds.). Cancer de seno. En: *Guías de práctica clínica en enfermedades neoplásicas*. 2ª ed. Bogotá: Instituto Nacional de Cancerología; 2001. p. 78-110.
3. Ellis IO, Pinder SE, Lee AH, Elston CW. Tumor of the breast. In: Fletcher CD (ed.). *Diagnostic histopathology of tumor*. 2nd ed. London: Churchill Livingstone; 2000. p. 865-930.
4. Rosen P, Oberman H. *Tumors of the mammary gland. Atlas of tumor pathology*. 3rd Series, Fascicle 7. Washington: Armed Forces Institute of Pathology; 1992.
5. Fisher ER, Redmond C, Fisher B. Histologic grading of breast cancer. In: Sommers S, Rosen P (eds.). *Pathology Annual* Vol. 15. Norwalk: Appleton-Century-Crofts; 1980. p. 239-251.
6. Bloom HJG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1,409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957; 11: 359-377.
7. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19: 403-410.
8. Ellis IO, Galea M, Broughton N, Locker A, Bramey RW, et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histologic type. Relationship with survival in a large study with long term follow-up. *Histopathology* 1992; 20: 479-489.

9. Pinder SE, Ellis IO, Galea M, *et al.* Pathological prognostic factors in breast cancer. III. Vascular invasion: relationship with recurrence and survival in large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1994; 24: 41-47.
10. Pereira H, Pinder SE, Sibbering DM, *et al.* Pathological prognostic factors in breast cancer. IV. Should you be a typer or a grader? A comparative study of two histological prognostic features in operable breast carcinoma. *Histopathology* 1995; 27: 219-226.
11. Pinder SE, Ellis IO, Elston CW. Prognostic factors in primary breast carcinoma. *J Clin Pathol* 1995; 48: 981-983.
12. Haybittle JL, Blamey RW, Elston CW, *et al.* A prognostic index in primary breast cancer. *Br J Cancer* 1982; 45: 361-366.
13. Page DL. Prognosis and breast cancer. Recognition of lethal and favorable prognostic types. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 334-349.
14. Bilous M. Assessment of histological grade. In: *The Pathology of Breast Cancer. A Guide for pathologists, surgeons and radiologists.* Recommendations of the Australian Cancer Network Party. Sydney: Stone Press Publications; 1997.
15. Abaúnza H. Cáncer mamario: factores pronósticos. *Rev Colomb Cirugia* 1993; 8: 24-29.
16. International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancers. *Lancet* 1990; 335: 1565-1568.
17. de Mascarel I, Bonichon F, Coindre JM, Trojani M. Prognostic significance of breast cancer axillary lymph node micrometastases assessed by two special techniques: reevaluation with longer follow-up. *Br J Cancer* 1992; 66: 523-527.
18. National Coordinating Committee for Breast Screening Pathology. *Pathology reporting in breast cancer screening.* Sheffield: NHSBSP Publications; 1995.
19. Esteban JM, Ahn C, Battifora H, Felder B. Predictive value of estrogen receptors evaluated by quantitative immunohistochemical analysis in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1994; 102 Supl: 9-12.
20. Warnberg F, Nordgren H, Bergkvist L, Holmberg L. Tumor markers in breast carcinoma correlate with grade rather than with invasiveness. *Br J Cancer* 2001; 85: 869-874.
21. Snead DR, Bell JA, Dixon AR, Nicholson RI, Elston CW, *et al.* Methodology of immunohistological detection of oestrogen receptor in human breast carcinoma in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: a comparison with frozen section methodology. *Histopathology* 1993; 23: 233-238.
22. World Health Organization. *Histological typing of breast tumours.* 2nd ed. International Histological Classification of Tumours N° 2. Geneva: World Health Organization; 1981. p. 19.
23. Dalton LW, Page DL, Dupont WD. Histologic grading of breast carcinoma. A reproducibility study. *Cancer* 1994; 73: 2765-2770.
24. Frierson HF, Wolber RA, Berean KW, *et al.* Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the bloom and Richardson histologic grading system for infiltrating ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 195-199.
25. Robbins P, Pinder S, de Klerk N, *et al.* Histological grading of breast carcinomas. II. A study of interobserver agreement. *Hum Pathol* 1995; 26: 873-879.
26. Genestie C, Zafrani B, Asselain B, Fourquet A, *et al.* Comparison of the prognostic value of Scarff-Bloom-Richardson and Nottingham histological grades in a series of 825 cases of breast cancer: major importance of the mitotic count as a component of both grading systems. *Anticancer Res* 1998; 18: 571-576.
27. Frkovic-Grazio S, Bracko M. Long term prognostic value of Nottingham histological grade and its components in early (pT1N0M0) breast carcinoma. *J Clin Pathol* 2002; 55: 98-92.
28. Todd JH, Dowle C, Williams MR, *et al.* Confirmation of a prognostic index in primary breast cancer. *Br J Cancer* 1987; 56: 489-492.
29. Galea MH, Blamey RW, Elston CE, Ellis IO. The Nottingham prognostic index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 22: 207-219.
30. Brown JM, Benson EA, Jones M. Confirmation of a long-term prognostic index in breast cancer. *Breast* 1993; 2: 144-147.
31. Seshadri R, Horsfall DJ, McCaul K, Leong AS-Y. A simple index to predict prognosis independent of axillary node information in breast cancer. *Aust N Z J Surg* 1997; 67: 765-770.
32. Pinder SE, Murray S, Ellis IO, Trihia H, Elston CW. The importance of the histologic grade of invasive breast carcinoma and response to chemotherapy. *Cancer* 1998; 83: 1529-1539.