



## REPRODUCIBILIDAD DEL GRADO NUCLEAR EN EL CANCER DE MAMA

## UNA EXPERIENCIA MULTICENTRICA

ALBERTO S. SUNDBLAD<sup>1</sup>, EDUARDO ALONSO<sup>2</sup>, JOSE G. CASAS<sup>3</sup>, LILI DIAZ<sup>3</sup>, M. CRISTINA DIAZ<sup>3</sup>, SANTIAGO DE ELIZALDE<sup>3</sup>, ISABEL FRAHM<sup>3</sup>, JORGE MONTI<sup>3</sup>, VICTORIA MUÑIZ SAAVEDRA<sup>3</sup>, LILA RICCI<sup>4</sup>, SUSANA VIGHI<sup>3</sup>, JORGE ZOPPI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital Privado de Comunidad, Mar del Plata; <sup>2</sup>Laboratorios Privados de Rosario; <sup>3</sup>Laboratorios Privados de Buenos Aires; <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Mar del Plata

**Resumen** El grado nuclear es considerado uno de los elementos de valor pronóstico en el carcinoma de mama. Resulta de interés verificar cuál es el grado de reproducibilidad de los patólogos generales al consignar el grado nuclear considerando que la mayor parte de los estudios anatomopatológicos de los carcinomas de mama los realizan patólogos «no expertos». Para ello se tomó una serie de 15 carcinomas de mama de los cuales 10 fueron seleccionados al azar y 5 por su particular dificultad para clasificar el grado nuclear. Diez patólogos generales trabajando en forma separada examinaron los casos y les asignaron el grado nuclear. Se hizo una primera asignación de acuerdo al criterio que cada observador utilizaba habitualmente para sus informes y una segunda siguiendo a una guía escrita. Se estudiaron los datos por medio del análisis de la varianza. Los resultados mostraron que tanto para los casos seleccionados al azar como para la serie total no hubo diferencias significativas entre los observadores. La guía escrita, sorprendentemente, en lugar de disminuir las diferencias las aumentó. Un análisis del comportamiento individual de los observadores permitió detectar que dos de ellos tenían una gran variación entre ambas asignaciones, lo que se consideró como una influencia determinante para los resultados de todo el grupo. Cuando se analizó la diferencia interobservador para discriminar los tumores de alto grado (G3) del resto, se observó una buena reproducibilidad en todo el grupo participante. Estos resultados nos permiten concluir que, en esta serie examinada por patólogos generales, se obtuvo una aceptable reproducibilidad, en especial cuando se trató de identificar a los tumores con mayor riesgo.

**Palabras claves:** cáncer de mama, grado nuclear

Basados en algunas publicaciones<sup>1-6</sup>, buena parte de los oncólogos que tratan a pacientes con carcinoma de mama consideran al grado nuclear un elemento de valor pronóstico. Sin embargo, desde el punto de vista del patólogo, la asignación del grado nuclear no es una tarea exenta de problemas. Por una parte la metodología ha sido cuestionada por su subjetividad<sup>7,8</sup>, por otra, hay varias clasificaciones que no serían homolo-

gables<sup>9-15</sup>; y finalmente, también se ha puesto en duda la confiabilidad de los patólogos «no expertos» para la correcta asignación de estos grados<sup>16</sup>.

Si se tiene en cuenta que la mayor parte de las piezas de resección de los carcinomas de mama son examinadas e informadas por patólogos generales el tema adquiere relevancia.

Con el fin de investigar si los patólogos generales que consignar habitualmente el grado nuclear usan criterios similares para su clasificación; si tienen además cierta reproducibilidad en sus resultados, y si esos resultados pueden ser

Recibido: 22-II-1995

Aceptado: 5-IX-1995

Dirección postal: Dr. Alberto S. Sundblad, Hospital Privado de Comunidad, Córdoba 4545, 7600 Mar del Plata, Argentina

mejorados con el uso de una única guía, diseñamos una experiencia basada en el examen de 15 casos por un grupo de 10 patólogos trabajando en forma separada. En la serie examinada se incluyó un número de casos de reconocida dificultad para ver si se podían establecer diferentes niveles de reproducibilidad.

## Material y métodos

Uno de los autores, que no participó como observador, seleccionó 15 casos de carcinoma de mama de los archivos del Servicio de Patología del Hospital Privado de Comunidad según el siguiente criterio: diez tumores fueron casos consecutivos recibidos en el laboratorio durante un período elegido al azar. Los cinco restantes fueron casos que habían planteado las mayores dificultades en la asignación del grado nuclear cuando una serie de 135 carcinomas de mama fue examinada simultáneamente por tres patólogos en un microscopio de múltiple cabezal para un trabajo de investigación<sup>17</sup>. Con el total de casos se hicieron 10 juegos de 15 preparados cada uno. Se verificó que todos los cortes tuvieran una aceptable calidad técnica, que fueran similares y representativos de cada tumor. El grupo de observadores fue integrado con patólogos que reunían las siguientes características: a) eran patólogos generales y veían con cierta frecuencia patología mamaria tumoral; b) en sus informes consignaban habitualmente el grado nuclear; y c) trabajaban en laboratorios separados. La conformación del grupo se consideró representativa de la población de patólogos generales de nuestro medio en cuanto a la heterogeneidad de su experiencia en patología mamaria.

Ninguno de los patólogos que participaron en el examen de los casos conoció inicialmente el diseño de esta experiencia ni supo quienes participaban en ella. Sin ninguna explicación previa se envió a cada uno de ellos una caja con los 15 preparados pidiéndoles que consignaran el grado nuclear a cada caso de acuerdo al procedimiento que utilizan habitualmente. Una vez recibida la respuesta se les envió una nota con tres preguntas: 1° ¿Al asignar el grado utilizó el criterio de algún autor, institución u organización en particular? 2° ¿En caso afirmativo, qué criterio usó? 3° ¿En sus informes, aclara los criterios que usa?

Finalmente se les dio una guía, que reproduce la modificación al método de Black efectuada por Fisher et al<sup>19</sup> y solicitándoles que clasificaran nuevamente los tumores de acuerdo a ella. La guía decía:

Estos criterios dividen a los tumores de mama en tres grados, de los cuales el 1 y el 2 pueden considerarse «favorable» (o grado bajo) y el 3 como «desfavorable» (o grado alto). Grado 1: Los núcleos son similares a los del epitelio de los ductos normales o con mínimo agranda-

miento, bordes nucleares redondos y lisos, cromatina uniforme y fina y no se ven nucléolos. Grado 2: Los núcleos pueden ser hasta el doble de los del grado 1, el borde nuclear es liso, la cromatina fina y puede haber pequeños nucléolos. Hay moderada anisonucleosis aunque la variación en el tamaño es mínima. Grado 3: Hay marcada anisonucleosis pudiendo observarse gran variación en el tamaño de los núcleos. La hiperchromasia es un rasgo destacado de este grado y los contornos de los núcleos son irregulares. Se ven nucléolos y con frecuencia macronúcleolos. La cromatina puede ser de distribución irregular y formar grumos. Los tumores se clasifican por el área donde el grado es más alto<sup>18</sup>.

Para el estudio estadístico de los datos obtenidos se aplicó el análisis de la varianza según el test de Friedman<sup>19</sup> utilizando el programa 3S del paquete BMDP (BMDP Statistical Software Manual Version 7.0). Se investigó la reproducibilidad con que los patólogos asignaban el grado nuclear, primero a los 10 casos elegidos al azar en las dos vueltas («espontánea» y «gulada») y después con la inclusión de los casos seleccionados por su dificultad, es decir los números 2, 4, 7, 10 y 11, también en las dos vueltas. Finalmente, se simplificaron los grados agrupándolos en dos poblaciones de distinto significado pronóstico: grado 1 y 2 como bajo y grado 3 como alto<sup>13,20</sup> y se hizo el mismo análisis, es decir con 10 y 15 casos y en las dos oportunidades en la primera y segunda vuelta.

## Resultados

El grado nuclear asignado en la primera vuelta (espontánea) puede verse en la tabla 1. La tabla 2 muestra los resultados de los grados asignados en la segunda vuelta con la guía entregada posteriormente a cada participante. En ambas tablas se separaron los casos elegidos al azar y aquellos seleccionados por su dificultad. Los resultados del análisis de la varianza figuran en la tabla 3. Allí se indican los resultados del estadístico de Friedman y el correspondiente valor de p para cada uno de los estudios.

Las 3 preguntas de la encuesta fueron respondidas por los observadores de la siguiente manera: 1. ¿Usa habitualmente el criterio de algún autor, institución u organización en particular?, todos (10/10) respondieron afirmativamente. A la pregunta N° 2, ¿qué criterios utiliza? la respuesta y el número de patólogos fue: Bloom y Richardson: 3; Bloom y Richardson modificado (sin especificar cual modificación): 1; Bloom y Richardson modificado por Elston y Ellis: 1; Black modificado por Fisher: 2; otros criterios: 3. A la

TABLA 1.— Grado nuclear en la primera vuelta (espontánea)

Patólogo	A	B	C	D	E	G	H	I	J	
	Casos al azar									
Caso										
1	2	2	2	3	1	2	2	2	3	2
3	2	2	2	3	2	2	1	2	1	3
5	2	2	1	2	3	1	1	1	2	2
6	2	2	2	3	2	2	2	2	1	3
8	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2
9	1	2	1	2	3	2	1	2	2	2
12	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2
13	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
14	2	2	2	2	3	2	2	1	2	2
15	2	2	2	3	3	2	2	2	1	2
	Casos seleccionados									
2	3	3	3	3	2	2	2	3	3	3
4	2	3	1	3	2	2	2	2	3	2
7	3	2	3	2	3	2	3	3	2	3
10	3	2	3	3	3	3	3	2	3	3
11	2	2	2	3	2	3	2	3	3	3

TABLA 2.— Grado nuclear en la segunda vuelta (con guía)

Patólogo	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
	Casos al azar									
Caso										
1	3	3	3	3	2	2	2	3	3	3
3	2	3	2	2	2	1	1	2	2	2
5	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2
6	2	2	2	3	3	2	2	3	2	2
8	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2
9	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2
12	2	2	1	2	3	1	1	3	3	2
13	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
14	2	2	2	3	2	1	2	2	2	2
15	2	2	2	3	2	2	1	2	2	2
	Casos seleccionados									
2	3	2	3	2	2	2	2	3	3	3
4	2	3	3	3	2	2	2	3	3	2
7	3	2	3	3	3	2	3	3	3	3
10	3	2	2	3	3	3	3	3	3	3
11	2	3	3	3	2	3	2	3	3	3

TABLA 3.— *Análisis estadístico*

n°	Vuelta**	Grados***	Friedman	valor de p
10	1	1-2-3	15,09	0,09
10	2	1-2-3	24,77	0,0032
15	1	1-2-3	14,29	0,11
15	2	1-2-3	26,82	0,0015
10	1	b-a	6,79	0,66
10	2	b-a	6,55	0,68
15	1	b-a	7,27	0,61
15	2	b-a	11,29	0,26

\* El número 10 incluye sólo a los casos elegidos al azar. El 15 a todos los casos.

\*\* El número 1 indica la vuelta según el criterio de cada observador y el 2 la vuelta según la guía.

\*\*\* Se dividieron los casos en grados 1, 2 y 3 y luego en bajo (b) y alto (a)

TABLA 4.— *N° de casos que cambiaron el grado (entre alto y bajo o viceversa) entre la 1a y 2da vuelta por patólogo*

Patólogo	A	B	C	D*	E*	F	G	H	J
Cambios**	2	4	5	5	8	3	2	8	6

\* Usaron la misma clasificación en las dos vueltas (Black modificada)

\*\* Número de casos que cambiaron de grado

pregunta N° 3 sobre si aclaraba en sus informes el criterio utilizado, 2 respondieron que sí y 8 que no.

También se tabuló el número de cambios de grado que cada patólogo hizo en sus casos en la segunda vuelta respecto de la primera cuyos resultados pueden observarse en la tabla 4.

## Discusión

En general se acepta que el grado de diferenciación celular de los tumores se correlaciona con su biología<sup>3</sup>. En función de esta premisa se han delineado una serie de métodos para cuantificar de la manera más objetiva posible el grado de diferenciación. En el cáncer de mama una de las primeras y más difundidas clasificaciones fue la que diseñaron Bloom y Richardson<sup>10</sup>, adoptada

más tarde por la Organización Mundial de la Salud y conocida como Scarff-Bloom-Richardson (SBR)<sup>15</sup>. Esta clasificación basa sus criterios en tres elementos: a) formación de túbulos, b) hiperromatismo y mitosis, y c) irregularidades en el tamaño, la forma y la tinción de los núcleos. Aunque varios trabajos ratificaron una significativa asociación entre los diferentes grados con la evolución de los tumores<sup>21-23</sup>, otros autores observaron que la formación de túbulos no tenía valor pronóstico y propusieron una nueva clasificación basado en las características de diferenciación de los núcleos que originalmente establecía cinco categorías<sup>9</sup> reducidas posteriormente a tres<sup>12</sup>. Lamentablemente esta nueva clasificación invirtió los grados respecto de la SBR quedando el grado 1 para los núcleos menos diferenciados y el 3 para los más diferenciados, creando así cierta confusión en la lectura de los resultados. Posteriormente el sentido de estos grados fue revertido dejándolos paralelos a la clasificación de SBR<sup>24, 25</sup>. Ambos métodos fueron comparados en su carácter predictivo de la sobrevida y los dos mostraron una buena asociación con la evolución de la enfermedad<sup>26</sup>. La clasificación de SBR si bien es ampliamente utilizada, presenta el problema que el grado 2 involucra una amplia y heterogénea población de diferente evolución que no es discriminada por este método. Ello dio origen en 1989 a una modificación de Le Doussal y colab.<sup>14</sup> que se conoce como SBR modificado. Sin embargo, esta no fue la única modificación ya que Elston y Ellis a su vez propusieron otra<sup>11</sup>. De manera que el grado nuclear se puede clasificar según varios criterios. De ellos los más conocidos son: el SBR (excluyendo la formación de túbulos) y el de Black, y a la vez ambos con sus diferentes modificaciones. Esta variedad basada en diferentes criterios justificaría la conveniencia de especificar en los informes de los carcinomas de mama qué clasificación fue utilizada.

Para analizar los resultados de este trabajo hay que partir de la base que de acuerdo al test de Friedman valores de p iguales o menores de 0,05 indican que hay diferencias significativas entre los grados asignados por los distintos patólogos. El análisis de los 10 casos elegidos al azar y clasificados por los tres grados de acuerdo al criterio elegido libremente por cada observador mostró un valor de p = 0,09 lo que indica que las diferencias no fueron significativas, es

decir que hubo una aceptable reproducibilidad. La inclusión de los 5 casos difíciles no modificó sustancialmente las cosas ( $p = 0,11$ ). En cambio la ayuda de una guía uniforme para todos los observadores, produjo resultados sorpresivamente adversos. Las diferencias aumentaron con  $p = 0,0032$  y  $p = 0,0015$  para los casos al azar y para la serie total. Puede intentarse una explicación sobre estos resultados a partir de la observación de la Tabla 4 en donde están indicadas las variaciones de cada observador entre las dos vueltas. Allí se destacan los participantes E y H que cambiaron el grado en 8 casos. Curiosamente el participante E fue el único que utilizó la clasificación de Black las dos veces. La variabilidad personal de estos dos autores, cuyas causas no hacen al caso analizar aquí, influyó en el resultado global del grupo reduciendo el grado de reproducibilidad en la segunda vuelta.

En el cáncer de mama la utilidad de los factores pronósticos radica en la posibilidad de identificar a los grupos de riesgo de recidiva o de muerte con el fin de aplicarles una terapia adyuvante agresiva si así lo indica el análisis de la relación costo/beneficio<sup>27</sup>. En particular interesa reconocer a aquellos pacientes que teniendo elementos de buen pronóstico, tales como ganglios negativos o tumores pequeños, tendrán una evolución desfavorable<sup>27</sup>. En este sentido el grado nuclear 3 ha sido reconocido como probable indicador de mal pronóstico<sup>15, 26, 28</sup>. Sobre esta base algunos autores separan al grado 3 del resto, quedando así dos grupos definidos: uno de menor riesgo, los grados 1 y 2 o grado bajo, y uno de mayor riesgo, el grado 3 o grado alto. Cuando de acuerdo a este criterio, en la presente serie se simplificaron los grados en bajo y alto<sup>13, 20</sup>, las variaciones interobservador disminuyeron. La serie elegida al azar tuvo unos valores de  $p = 0,66$  y  $p = 0,68$  para la primera y segunda vuelta, que indican una buena reproducibilidad, mientras que el agregado de los casos seleccionados mantuvo un valor similar para la primera vuelta ( $p = 0,61$ ) y bajó un poco para la segunda ( $p = 0,26$ ) pero manteniéndose dentro de límites aceptables. Como ya se mencionó, esta pérdida de reproducibilidad puede atribuirse al peso de las variaciones personales de dos de los participantes sobre el resto del grupo.

Por otra parte, en el otro extremo, la poca variación entre las dos vueltas que tuvieron va-

rios observadores indicaría una similitud en la interpretación de los criterios que rigen las diferentes clasificaciones, lo cual restaría importancia a qué clasificación es la que se usa.

Recientemente una reunión de consenso sobre cáncer de mama promovida por el Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos<sup>16</sup> recomendó el uso del grado nuclear en todos los informes de patología por considerarlo un elemento que junto a otros factores puede ser de valor pronóstico. Sin embargo, sus conclusiones destacan la conveniencia de su aplicación por parte de patólogos expertos. Como ya se destacó, la mayoría de los tumores de mama los ven patólogos generales, es decir «no expertos». En nuestra serie mostramos que el grado nuclear aplicado por patólogos generales estuvo dentro del límite de lo aceptable y que esta práctica aumentó su reproducibilidad cuando los grados se simplificaron tratando de identificar a las pacientes con alto riesgo de recidiva. La actuación del grupo fue similar cualquiera fuera la clasificación utilizada. Una guía única no mejoró los resultados finales.

## Summary

*Reproducibility of nuclear grade in breast cancer. A multicentric study.*

Nuclear grade is considered a valuable prognostic factor in mammary carcinomas. Since the histological diagnosis of most of these tumors is made by «non expert» pathologists, it was considered interesting to find out the reproducibility of general pathologists to define the nuclear grade. In order to do this, a series of 15 mammary carcinomas, 10 of them randomly selected and 5 because they were considered difficult to classify for nuclear grade, were examined separately by 10 general pathologists. In a first round of observation, each one of them graded the cases according to their own criteria as used routinely, and for a second round they followed a written guide. An analysis of variance was applied to the data and no significant differences were found between observers, neither in the randomly selected cases nor in the total series. The written guide, surprisingly, instead of lowering the differences, increased them. Analysis of the individual performance of observers showed two of them having a great variation between both rounds of observation, and this was considered

to influence the results of the whole group. Interobserver performance to discriminate high grade tumors (G3) from the rest, showed a good correlation in all the participants. These results allow us to conclude that in this series, examined by general pathologists, an acceptable reproducibility was observed, specially when high risk tumors were being identified.

## Bibliografía

1. Clayton F, Hopkins CL. Pathologic correlates of prognosis in lymph-node positive breast carcinoma. *Cancer* 1993; 71: 1780-90.
2. Davies BW, Gelber D, Goldhirsh A, et al. Prognostic significance of tumor grade in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph nodes metastasis. *Cancer* 1986; 58: 2662-70.
3. Henson DE. The histological grading of neoplasms. *Arch Pathol Lab Med* 1988; 112: 1091-6.
4. Hery M, Gionni J, Lalanne CM, Namer M, Courdi A. The DNA labelling index: a prognostic factor in node negative breast cancer. *Br Cancer Res Treat* 1987; 9: 207-11.
5. Lash RH, Bauer TW, Hermann RE, Esselstyn CB. Partial mastectomy: pathologic findings and prognosis. *Hum Pathol* 1986; 17: 813-22.
6. Rank F, Dombrowsky P, Bang Jespersen NC, Pedersen BV, Keiding N. Histologic malignancy grading of invasive ductal breast carcinoma: a regression analysis of prognostic factors in low-risk carcinomas from a multicenter trial. *Cancer* 1987; 60: 1299-305.
7. Delides GS, Garas G, Georgouli G, et al. Intralaboratory variations in the grading of breast carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1982; 106: 126-8.
8. Sharkel FE, Pavlak RJ, Greiner AS. Morphometric analysis of differentiation in human breast carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1983; 107: 406-10.
9. Black MM, Speer FD. Nuclear structure in cancer tissues. *Surg Gynecol Obstet* 1957; 105: 97-102.
10. Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957; 11: 359-77.
11. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognosis factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19: 403-10.
12. Fisher ER, Gregorio RM, Fisher B. The pathology of invasive breast cancer. A syllabus derived from findings of the national surgical adjuvant breast project (protocol N° 4). *Cancer* 1975; 36: 1-85.
13. Fisher ER, Redmond C, Fisher B. Histologic grading of breast cancer. *Pathol Annu* 1980; 15: 239-51.
14. Le Doussal V, Tubiana-Hulin M, Friedman S, Hacene K, Spyrtos F, Brunet M. Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom-Richardson. An improved scored modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinomas. *Cancer* 1989; 64: 1914-21.
15. Scarff RW, Torioni H. Clasificación histológica internacional de tumores. N° 2: Tipos Histológicos de tumores de la mama. Organización Mundial de la Salud, Ginebra 1968; 13-20.
16. Dorr FA. Prognostic factors observed in current clinical trials. *Cancer* 1993; 71: 2163-8.
17. Sundblad A, Zoppi JA, Pellicer EM. Correlación citohistológica del grado nuclear en el carcinoma de mama. Congreso Argentino de Patología, Villa Carlos Paz, Noviembre 1994.
18. Dabbs DJ. Ductal carcinoma of breast. Nuclear grade as a predictor of S-phase fraction. *Hum Pathol* 1993; 24: 652-65.
19. Fleiss JL. The design and analysis of clinical experiments. Wiley series in probability and mathematical statistics. John Wiley & Sons, New York; 1986.
20. Battifora H, Gaffey M, Esteban J, et al. Immunohistochemical assay of neu/c-erbB-2 oncogene product in paraffin-embedded tissues in early breast cancer. *Modern Pathol* 1991; 4: 466-74.
21. Andersen JA, Fischermann K, Hou-Jensen, et al. Selection of high risk groups among prognostically favorable patients with breast cancer. *Ann Surg* 1981; 194: 1-3.
22. Pari FF, Dupont WD. A retrospective cohort study of histological risk factors in breast cancer patients. *Cancer* 1982; 50: 2410-6.
23. Elston CW, Gresham GA, Rao GS, Zebro T, Haybittle JL, Houghton J. The cancer research campaign trial for early breast cancer. Pathological aspects. *Br J Cancer* 1982; 45: 655-69.
24. Bauer TW, O'Ceallaigh D, Eggleston JC, et al. Prognostic factors in patients with stage I, estrogen receptor-negative carcinoma of the breast. *Cancer* 1983; 52: 1423-31.
25. Schnitt SJ, Connolly JL, Harris JR, et al. Pathologic predictor of early local recurrence in stage I and II breast cancer treated by primary radiation therapy. *Cancer* 1984; 53: 1049-57.
26. Stenkvist B, Westman-Naeser S, Vegelius J, et al. Analysis of reproducibility of subjective grading systems for breast carcinoma. *J Clin Pathol* 1979; 32: 979-85.
27. Page DL. Prognosis in breast cancer. Recognition of lethal and favorable prognostic types. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 334-49.
28. McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary node negative breast cancer. *N Engl J Med* 1992; 326: 1756-61.