

Kuşkulu meme sitolojilerinde kesin tanıya ulaşmada nükleer morfometri yardımcı olabilir mi?

Can nuclear morphometric analysis aid for definitive diagnosis in cases with equivocal cytology?

Türkan REZANKO, Fatma PEHLİVAN, Gözde EVCİM, Gülsen SİRKECİ

İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü, İZMİR

ÖZET

Meme ince iğne aspirasyon sitolojilerinde “gri zon” olarak tanımlanan ve kuşkulu sitolojik tanıya yol açan lezyonların başında fibroadenom ve düşük dereceli duktal karsinomlar gelir. Bu tür olgularda multidisipliner bir yaklaşıma gereksinim vardır ve sıklıkla histopatolojik doğrulama gerekir. Benign meme lezyonlarında tanısal açık biyopsi oranını azaltabilmek için kuşkulu tanı aralığını en aza indirmek gerekir. Bu amaçla biz bu çalışmada, kuşkulu meme sitolojilerinin daha ileri düzeyde benign ya da malign olarak tanılandırılmasında nükleer morfometrinin katkısı olabilir mi sorusuna yanıt aradık.

Çalışmamızda histopatolojik tanıları olan 45 kuşkulu meme sitolojisinde bilgisayarlı görüntü analiz yöntemi ile nükleer morfometrik ölçümler yapıldı. 40’lık büyütmede rasgele seçilmiş 30-50 nükleusta ortalama nükleer çap, ortalama nükleer çevre ve ortalama nükleer alan hesaplandı. Nükleer morfometrik değerler histopatolojik tanıları ile karşılaştırıldı. Kırk beş olgunun 12’si benign olup, ortalama nükleer çap 9,9 µm; ortalama nükleer çevre 29,26 µm ve ortalama nükleer alan 68,19 µm² olarak saptandı. Malign olgularda ortalama nükleer çap 10 µm, ortalama nükleer çevre 30,28 µm ve ortalama nükleer alan, 70,03 µm² idi. Benign ve malign olgular arasında nonparametrik testlerde her üç nükleer parametre açısından anlamlı fark izlenmedi.

Sonuç olarak sitolojide başta fibroadenomlar ve düşük nükleer dereceli invaziv duktal karsinomlar olmak üzere kuşkulu tanıya yol açan sınırlı lezyonlarda, görüntü analizi ile belirlenen nükleer çap, çevre ve alan değerleri benzer olup, bu tür lezyonların daha ileri düzeyde tanılandırılmasında nükleer morfometri yardımcı olmaktadır.

Anahtar sözcükler: Meme, ince iğne aspirasyon sitolojisi, nükleer morfometri

ABSTRACT

The most common breast lesions that result in equivocal diagnosis and defined as “gray zone” in fine needle aspiration cytology are fibroadenomas and low grade ductal carcinomas. In case of equivocal fine needle aspiration cytology, a multidisciplinary approach is required and usually the case necessitates histopathological confirmation. In order to decrease number of operational biopsies in benign lesions, the rate of equivocal cytological diagnosis should be reduced. Current study aims to determine if nuclear morphometric analysis in cases with equivocal cytology aids for further categorization as benign or malign.

In our study, 45 equivocal breast cytology specimens have been analyzed retrospectively. All cases had histopathologic diagnosis. We utilized computerized image analysis software to obtain mean nuclear diameter, mean nuclear perimeter and mean nuclear area from measuring 30-50 randomly selected nuclei in a microscope with 40x objectives. Nuclear morphometric values were compared with histopathological diagnosis. Of 45 cases, 12 were benign. In benign group, mean nuclear diameter was 9,9 µm; mean nuclear perimeter was 29,26 µm and mean nuclear area was 68,19 µm². In malignant group, mean nuclear diameter was 10µm; mean nuclear perimeter was 30,28 µm and mean nuclear area was 70,03 µm². No statistical differences in mean nuclear diameter, perimeter and area were found between malignant and benign groups with nonparametric tests.

Our results showed that lesions leading to equivocal diagnosis (such as fibroadenomas and low grade invasive ductal carcinomas) display similar nuclear morphometric values. Nuclear morphometric analysis based on image analysis did not help to distinguish the borderline lesion for further specification.

Key words: Breast, fine needle aspiration cytology, nuclear morphometry

Geliş tarihi: 12.01.2008

Kabul tarihi: 22.05.2008

Bu çalışma 21. Avrupa Patoloji Kongresi’nde (8-13 Eylül 2007, İstanbul) poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Yazışma adresi: Dr. Türkan Rezanko, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü, İzmir

GİRİŞ

İnce iğne aspirasyon (İİA) sitolojisi meme karsinomlarının tanısında etkin bir tanı yöntemi

olmakla birlikte bazı durumlarda tanınal değeri sınırlı kalmaktadır. Bu durumlar benign ya da malign yönde kesin ayırma gidilemeyen “kuşkulu” ya da “atipik” sitolojik tanıları kapsar. Son yıllarda bildirilen geniş serilerde kuşkulu ve atipik sitoloji tanı oranı %5,8-10 arasında değişmektedir (1-4). Bu olgularda klinik ve radyolojik bulgular eşliğinde multidisipliner bir yaklaşım ile histopatolojik doğrulama gereklidir. Sitolojide gri zonu oluşturan bu lezyonların büyük kısmını bir dereceye kadar nükleer atipi bulgularının eşlik ettiği fibrokistik değişiklikler, fibroadenom ve düşük nükleer dereceli meme kansinimleri oluşturur (1-4). Atipik sitoloji tanısı verilen olguların en az %50’sini benign lezyonlar oluşturmaktadır (1,2,4). Kuşkulu sitolojik tanı verilen olgularda bu oran daha düşük olsa da, atipik ya da kuşkulu tanıları benign kitlelerde operasyonel biyopsi oranının artmasına yol açmaktadır. Meme İİA sitolojilerinde atipik/kuşkulu tanı oranını azaltmak ve gri zondaki bu lezyonların daha ileri düzeyde tanımlanmasına yardımcı olmak amacıyla son yıllarda immünohistokimyasal (5-7), DNA görüntü analizi ve sitomorfometrik çalışmalar gündeme gelmiştir (8-13). Biz de bu çalışmada, nükleer morfometrik analizin kuşkulu meme sitolojilerini benign ya da malign yönde tanılandırma ne denli katkıda bulunabileceğini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bölümümüzde Kasım 2001 ve Aralık 2006 arası dönemde aynı patolog tarafından (TR) rapor edilen 854 meme İİA sitolojisi içinde kuşkulu tanı verilmiş 72 olgudan (%8.4) histopatolojik doğrulaması olan 45 meme İİA sitolojisine ait yaymalar geriye dönük olarak tekrar değerlendirildi. Çalışma için olguların sadece %95’lik alkolde tespit edilmiş Hematoksilen-Eosin (HE) boyalı yaymaları seçildi. Kuruma artefaktına bağlı nükleer şekil ve boyut değişiklikleri olabileceği göz önünde bulundurularak havada kurutulmuş May-Grünwald-Giemsa ile boyanmış yaymalar ölçüm için değerlendirmeye

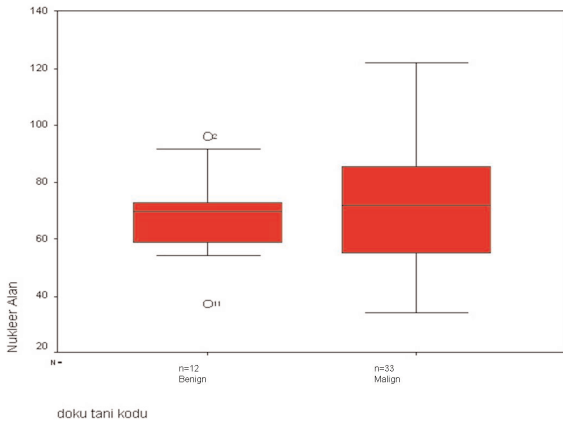
alınmadı. Her olguda nükleer özellikleri iyi korunmuş, hem izole tek hücrelerin, hem de grup halindeki duktus epitel hücrelerinin nükleuslarında, x40 objektifte bilgisayarlı görüntü analiz yöntemi ile (Olympus DP20, DP2-BSW) nükleer morfometrik analiz (NMA) yapıldı. Yaymaların hücreselliliğine göre 30-50 nükleusta nükleer çap, çevre, alan ölçümleri yapıldı ve her olgu için ortalama nükleer çap (ONÇa), ortalama nükleer çevre (ONÇe), ortalama nükleer alan (ONA) hesaplandı. Ölçümlerde nükleusların en geniş çapları ve nükleer membran sınırları manuel olarak bilgisayar faresi yardımıyla işaretlendi. Bir olgunun NMA için ölçüm süresi 45-60 dakika arasında değişti. Duktus epiteli dışındaki diğer hücrelerde (lenfosit, histiyosit, miyoepitelyal hücreler), apokrin hücrelerde ve metaplastik hücrelerde ölçüm yapılmadı. Doku kesitlerinde NMA yapılmadı. Ortalamaları alınan sitolojik NMA değerlerinin histopatolojik tanılarına göre benign ve malign lezyonlar arasında anlamlı fark gösterip göstermediği araştırıldı. Benign ve malign olguların morfometrik değerleri arasındaki farklılığın anlamı istatistiksel olarak Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

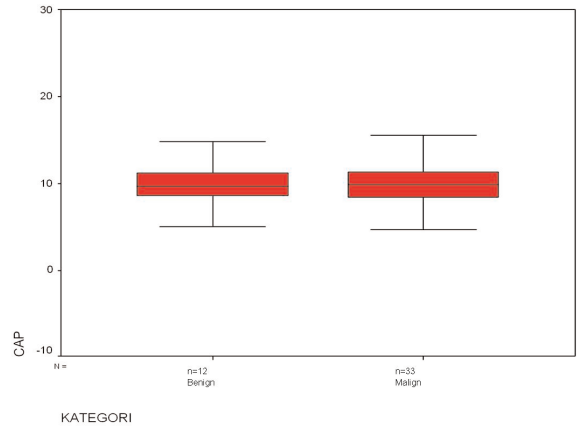
İnce iğne aspirasyon sitolojisinde kuşkulu tanı almış 45 olgunun doku kesitlerinde 12’si benign (%26,6); 33’ü malign (%73,4) idi. On iki benign meme lezyonunun histopatolojik tanılarına göre dağılımı, yedi fibroadenom, üç fibrokistik değişiklik, bir tubuler adenom, bir sklerozan adenozis idi. Malign grubu oluşturan 33 olgu 21 invaziv duktal, beş intraduktal komponenti bas- kın invaziv duktal, üç lobüler kansinom, iki mikst kansinom (invaziv duktal+lobüler larsi-

Tablo 1. Kuşkulu sitolojik tanı almış benign ve malign olguların nükleer morfometrik analiz (NMA) sonuçları.

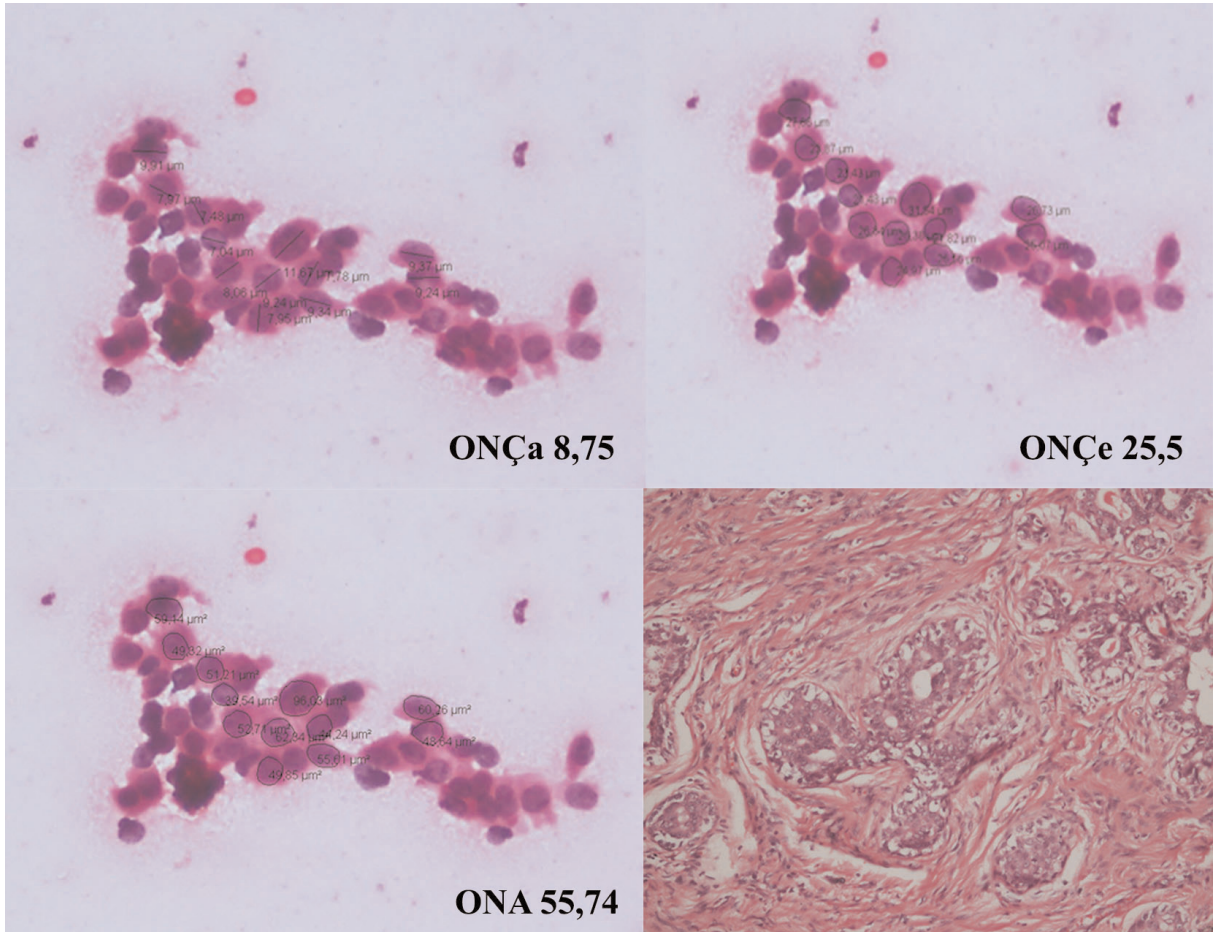
NMA	Benign (n=12)	Malign (n=33)
Ortalama Nükleer Çap	9.9 µm	10 µm
Ortalama Nükleer Çevre (µm)	29.26 µm	30.28 µm
Ortalama Nükleer Alan (µm ²)	68.19 µm ²	70.03 µm ²



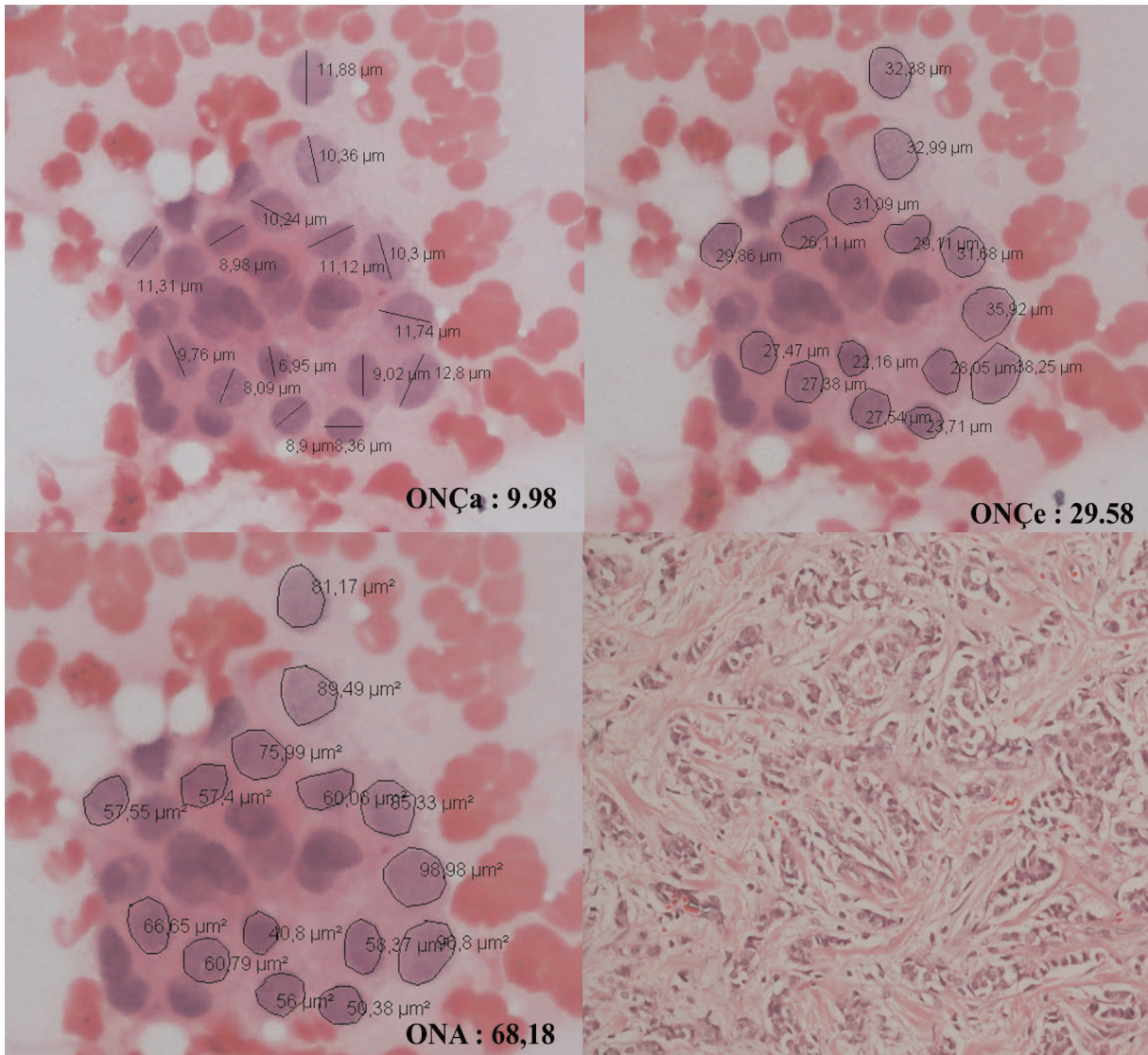
Şekil 1. Kuşkulu sitoloji tanısı almış benign ve malign olguların nükleer alan dağılımları.



Şekil 2. Kuşkulu sitoloji tanısı almış benign ve malign olguların nükleer çap dağılımları.



Resim 1. Epitelyal hiperplazi gösteren fibrokistik değişiklikler olgusunda NMA (HE x400).



Resim 2. Derece 1 invaziv duktal karsinom olgusunda NMA (HE x400).

nom), bir invaziv papiller karsinom, bir tubuler karsinomdan oluşmaktaydı. Histopatolojileri benign olan kuşku sitolojilerde ONÇa: 9,9 µm (7.2-11.34); ONÇe: 29,26 µm (21.57-35.15); ONA: 68,19 µm² (37.18-96.02) idi (Tablo 1). Malign grupta ise ONÇa:10 µ (6.86-13,72); ONÇe:30,28 µm (20,94-55,67); ONA:70,03 µm² (34,35-121,98) olarak saptandı. Benign ve malign grup arasında nonparametrik testlerde ONÇa, ONÇe ve ONA değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Mann-Whitney U, $p>0.05$ (Şekil 1-2, Resim 1-2).

TARTIŞMA

Meme kitlelerinde İİA'nın temel amacı klinik kanser kuşkusu ya da tanısını preoperatif olarak saptamak ya da doğrulamaktır. Yanısıra diğer bir hedefi de benign meme lezyonlarında gereksiz cerrahi girişimleri önlemek, diğer bir deyişle meme kitlelerinde cerrahi endikasyonun doğru konulmasını sağlamaktır. İİA sitolojisi, memede yüksek tanısal doğruluk oranlarına sahip olmakla birlikte, sitolojik zeminde benign ya da malign yönde kesin sınıflandırılmayan ve kuşku ya da atipik sitolojik tanıya yol açan ba-

zı meme lezyonlarında tanısal değeri kısıtlı kalmaktadır. Bu durumlarda cerrahi eksizyon ve histopatolojik korelasyon kaçınılmazdır. Meme İİA sitolojisinde kuşkulu tanı oranı serilere göre %5,8-10 arasında değişmekle birlikte (1-4), %25'e varan oranlar da bildirilmektedir (10). Kuşkulu sitolojik tanının yüksek oranda olması, cerrahi eksizyon endikasyonunda gereksiz artışa yol açmaktadır (1,2,4,14,15). Biz bu çalışmada "gri zon"u oluşturan kuşkulu meme İİA sitolojilerinde, görüntü analizine dayanan nükleer morfolometrinin, bu lezyonları benign ya da malign olarak tanılandırmada yararının ne olabileceğini ve kuşkulu tanı oranının azaltılmasına ne derece katkıda bulunabileceğini araştırdık.

Morfometrik nükleer boyut ve şekil analizleri, pek çok tümör için tanıyı destekleyici ya da ayırıcı tanıda yardımcı amaçlı kullanılmıştır (16,17). Meme İİA sitolojilerinde de tanı, nükleer dereceleme, prognostik amaçlı ya da kalite kontrolü amaçlı bilgisayarlı görüntü analizine dayanan morfolometrik ölçümlerden yararlanılmıştır (13,18-26). Wittekind ve Schulte meme İİA sitolojilerinde malign olgularda, lenf nodu pozitif ve negatif olanlar arasında ortalama nükleer alan, çevre ve en büyük nükleer çap açısından istatistiksel anlamlı fark saptamıştır ($p<0.01$) (27). Buna dayanarak sitolojide morfolometrik değerlendirmenin, meme kansinomlarında hasta prognozunun tahmininde yararlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Norris ve ark.'ları ise, iyi diferansiye duktal kansinom ve atipik hiperplazinin ayırımında DNA içeriği ve nükleer çevrenin kombine değerlendirilmesinin yararlı olabileceğini bildirmişlerdir (28). Benzer şekilde histolojik kesitlerde de morfolometrik analizlerin, duktal hiperplazi, atipik hiperplazi ve insitu kansinom ayırımında yararlı olduğu gösterilmiştir (12).

Morfometrik çalışmaların bir çoğunda benign ve malign meme lezyonları arasında, morfolometrik parametreler (en büyük/en küçük çap, çevre, konveks alan, yuvarlaklık indeksi) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) (12,18,29) izlenmiştir (10,13,22,27,30-33). Bununla birlikte kuşkulu sitoloji olgularında gö-

rüntü analizinin kullanıldığı çalışmalar daha sınırlı sayıdadır (10,19,32). Bazı araştırmacılar, kuşkulu/atipik sitomorfolojideki sınır olguları, benign ya da malign yönde tanılandırmada görüntü analiz yönteminin yardımcı olabileceğini ileri sürmüştür (10,32). Teague ve ark.'ları sitolojide kuşkulu tanı almış 56 olgunun (37 benign, 19 malign) 42'sinde (%75) görüntü analizi ile benign ya da malign olarak doğru tanı vermişlerdir (10). Bu çalışmada sitometrik analiz sonuçlarına göre yanlış negatif tanı verilen 5 olgunun 3'ü düşük dereceli meme kansinomudur (1 olgu invaziv lobüler kansinom ve 2 olgu düşük dereceli invaziv duktal kansinom). Benzer şekilde Mapstone ve ark.'ları malignite kuşkulu 23 meme sitolojisinin 20'sinde, nükleer alan standart sapmalarına bakarak doğru tanı koymuşlardır (32). Boon ve ark.'ları ise 33 kuşkulu meme İİA sitolojisini görüntü analizi ile değerlendirmiş ve benign olguların hepsinde, malign olguların ise ancak % 48'inde doğru tanı verebilmişlerdir (19).

Sitolojik düzeyde bazı benign ve sınır lezyonların; düşük nükleer dereceli kansinomlardan (lobüler kansinom, tubuler kansinom ve düşük dereceli duktal kansinom gibi) ayırımında morfolometrik veriler yetersiz kalabilmektedir (8,9,20,29). Elzagheid ve ark.'ları meme kanseri, fibroadenom ve fibrokistik değişiklikleri içeren serilerinde hem hücre gruplarında hem de izole serbest hücrelerde ayrı ayrı nükleer alan ölçümleri yapmışlar ve malign olgularda DNA sitometri paterni ile karşılaştırmışlardır (33). Benign ve malign lezyonların ayırımında, en duyarlı yöntemin izole hücrelerin ortalama nükleer alanı olduğunu bildirmişlerdir (duyarlılık %90.9) (33). Nijhawan ve ark.'ları fibroadenom ile atipi gösteren fibroadenom arasında ve fibroadenom ile derece 1 duktal kansinom arasında anlamlı morfolometrik fark saptamışlarsa da (8) diğer bir çalışmalarında atipi gösteren fibroadenom olguları ile derece 1 duktal kansinom olguları arasında nükleer alan, çap, çevre, yuvarlaklık ve "gray level" gibi nükleer morfolometrik parametreler açısından önemli farklılık gösterememişlerdir

(20). Rajesh ve ark.'ları morfometrik parametrelerin invaziv lobüler karsinom ile invaziv duktal karsinom ayırımında yardımcı olabileceğini bildirmişler, ancak benign ve sınır olguların lobüler karsinomdan ayırımında nükleer morfometrik özellikler açısından istatistiksel anlamlı fark saptamamışlardır (9).

Çalışmamızda başta fibroadenomlar ve düşük nükleer dereceli invaziv duktal karsinomlar olmak üzere sitolojide kuşkuyla tanıya yol açan durumlar, birbiriyle örtüşen benzer nükleer morfometrik ölçüm değerleri göstermiştir. Fibroadenomlar ve diğer bazı benign proliferatif epitelyal lezyonlar ile düşük nükleer dereceli meme karsinomlarının; artmış hücresellik göstermelerinin yanı sıra, minimal ya da orta derecede nükleer atipi içermeleri gibi birçok ortak özelliği bir arada taşıması, aslında nükleer morfometrilerinin de benzer olmasını açıklayıcı özelliklerdir. Bu konuda yapılan çalışmaların çoğunun sitolojide benign ve malign olarak tanımlanmış lezyonları nükleer morfometrik parametreler açısından kıyaslaması ve anlamlı fark bulması; asıl sorun oluşturan kuşkuyla sitolojilerde bir çözüm sunmaktan uzaktır.

Çalışma sonuçlarımıza göre, görüntü analizine dayanan nükleer çap, çevre, alan parametrelerini içeren morfometrik ölçümler, birçok ortak sitomorfolojik özellik gösteren sınır lezyonların benign ya da malign olarak tanımlanmasında yardımcı olamamaktadır. Daha ayrıntılı morfometrik parametrelerin geliştirilmesi, kromatin yapısı ve DNA analizlerini de içeren gelişmiş yöntemler ile yapılacak çalışmalar kuşkuyla tanı oranını azaltmada etkili olabilirler. Ancak bu yöntemlerin zaman ve maliyet artışına neden olması da kaçınılmazdır.

KAYNAKLAR

1. Deb RA, Matthews P, Elston CW, Ellis IO, Pinder SE. An audit of "equivocal" (C3) and "suspicious" (C4) categories in fine needle aspiration cytology of the breast. *Cytopathol* 2001;12:219-226.
2. Mulford DK, Dawson AE. Atypia in fine needle aspiration cytology of nonpalpable and palpable mammographically detected breast lesions. *Acta Cytol* 1994;38:9-17.
3. al-Kaisi N. The spectrum of the "gray zone" in breast cytology. A review of 186 cases of atypical and suspicious cytology. *Acta Cytol* 1994;38:898-908.
4. Kanhouh R, Jorda M, Gomez-Fernandez C, Wang H, Mirzabeigi M, Ghorab Z, Ganjei-Azar P. 'Atypical' and 'suspicious' diagnoses in breast aspiration cytology. *Cancer* 2004;102:164-167.
5. Umudum H, Rezanko T, Dag F, Dogan M. Diagnostic help of HER-2/neu expression in suspicious cases of breast fine needle aspiration. *Acta Cytol* 2006;50:596-598.
6. Midulla C, Pisani T, De Iorio P, Cenci M, Divizia E, Nofroni I, Vecchione A. Cytological analysis and immunocytochemical expression of Ki67 and Bcl-2 in breast proliferative lesions. *Anticancer Res* 2002;22(2B):1341-1345.
7. Keeling J, McKee GT. Heat shock protein (HSP)27: a further refinement in the diagnosis of suspicious fine needle aspirates of breast. *Cytopathology* 1999;10:40-49.
8. Nijhawan R, Rajwanshi A. Cytomorphologic and morphometric limitations of the assessment of atypia in fibroadenoma of the breast. *Anal Quant Cytol Histol* 2005;27:273-276.
9. Rajesh L, Dey P, Joshi K. Automated image morphology of lobular breast carcinoma. *Anal Quant Cytol Histol* 2002;24:81-84.
10. Teague MW, Wolberg WH, Street WN, Mangasarian OL, Lambremont S, Page DL. Indeterminate fine-needle aspiration of the breast. Image analysis-assisted diagnosis. *Cancer* 1997;81:129-135.
11. Seigneurin D, Louis J, Villoud MC. The value of DNA image cytometry for the cytological diagnosis of well-differentiated breast carcinomas and benign lesions. *Anal Cell Pathol* 1994;7:115-125.
12. Ruiz A, Almenar S, Callaghan RC, Llombart-Bosch A. Benign, preinvasive and invasive ductal breast lesions. A comparative study with quantitative techniques: morphometry, image- and flow cytometry. *Pathol Res Pract* 1999;195:741-746.
13. Beerman H, Veldhuizen RW, Hermans J, Bonsing BA, Ooms EC. Flow cytometric and histomorphometric analysis of limitations of clinical breast cytomorphometry. *Anal Cell Pathol* 1991;3:287-297.
14. Barrows GH, Anderson TJ, Lamb JL, Dixon JM. Fine-needle aspiration of breast cancer. Relationship of clinical factors to cytology results in 689 primary malignancies. *Cancer* 1986;58:1493-1498.
15. Casey TT, Rodgers WH, Baxter JW, Sawyers JL, Reynolds VH, Page DL. Stratified diagnostic approach to fine needle aspiration of the breast. *Am J Surg* 1992;163:305-311.
16. Castrén JP, Kuopio T, Nurmi MJ, Collan YU. Nuclear morphometry in differential diagnosis of renal oncocytoma and renal cell carcinoma. *J Urol* 1995;154:1302-1306.
17. Buhmeida A, Kuopio T, Collan Y. Nuclear size and shape in fine needle aspiration biopsy samples of the prostate. *Anal Quant Cytol Histol* 2000;22:291-298.
18. Dey P, Ghoshal S, Pattari SK. Nuclear image morphology and cytologic grade of breast carcinoma. *Anal Quant Cytol Histol* 2000;22:483-485.

19. Boon ME, Trott PA, van Kaam H, Kurver PJ, Leach A, Baak JP. Morphometry and cytodiagnosis of breast lesions. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1982;396:9-18.
20. Tahlan A, Nijhawan R, Joshi K. Grading of ductal breast carcinoma by cytomorphology and image morphometry with histologic correlation. *Anal Quant Cytol Histol* 2000;22:193-198.
21. Wolberg WH, Street WN, Heisey DM, Mangasarian OL. Computer-derived nuclear "grade" and breast cancer prognosis. *Anal Quant Cytol Histol* 1995;17:257-264.
22. Tuczek HV, Fritz P, Schwarzmann P, Wu X, Mähner G. Breast carcinoma. Correlations between visual diagnostic criteria for histologic grading and features of image analysis. *Anal Quant Cytol Histol* 1996;18:481-493.
23. Mommers EC, Page DL, Dupont WD, Schuyler P, Leonhart AM, Baak JP, et al. Prognostic value of morphometry in patients with normal breast tissue or usual ductal hyperplasia of the breast. *Int J Cancer* 2001;95:282-285.
24. Baak JP, Van Dop H, Kurver PH, Hermans J. The value of morphometry to classic prognosticators in breast cancer. *Cancer* 1985;56:374-382.
25. Kronqvist P, Kuopio T, Collan Y. Morphometric grading of invasive ductal breast cancer. I. Thresholds for nuclear grade. *Br J Cancer* 1998;78:800-805.
26. King EB, Chew KL, Duarte L, Hom JD, Mayall BH, Miller TR, Petrakis NL. Image cytometric classification of premalignant breast disease in fine needle aspirates. *Cancer* 1988;62:114-124.
27. Wittekind C, Schulte E. Computerized morphometric image analysis of cytologic nuclear parameters in breast cancer. *Anal Quant Cytol Histol* 1987;9:480-484.
28. Norris HJ, Bahr GF, Mikel UV. A comparative morphometric and cytophotometric study of intraductal hyperplasia and intraductal carcinoma of the breast. *Anal Quant Cytol Histol* 1988;10:1-9.
29. Cross SS, Bury JP, Stephenson TJ, Harrison RF. Image analysis of low magnification images of fine needle aspirates of the breast produces useful discrimination between benign and malignant cases. *Cytopathol* 1997;8:265-273.
30. Beerman H, Veldhuizen RW, Blok RA, Hermans J, Ooms EC. Cytophotometry as quality control for fine needle aspiration. A study in 321 breast lesions. *Anal Quant Cytol Histol* 1991;13:143-148.
31. Kaushik N, Sardana S, Das DK, Luthra UK. Quantitative analysis of nuclear area variation in benign and malignant breast fine needle aspirates. *Indian J Cancer* 1991;28:202-207.
32. Mapstone NP, Zakhour HD. Morphometric analysis of fine needle aspirates from breast lesions. *Cytopathol* 1990;1:349-355.
33. Elzagheid A, Collan Y. Fine needle aspiration biopsy of the breast. Value of nuclear morphometry after different sampling methods. *Anal Quant Cytol Histol* 2003;25:73-80.