

JOSÉ ROBERTO FILASSI<sup>1</sup>  
MARCOS DESIDÉRIO RICCI<sup>2</sup>  
ANGELA FRANCISCA TRINCONI<sup>2</sup>  
DANIELE CARVALHO CALVANO<sup>2</sup>  
LUCIANO DE MELO POMPEI<sup>2</sup>  
ADHEMAR LONGATTO FILHO<sup>3</sup>  
EDMUND CHADA BARACAT<sup>4</sup>

# Avaliação da sensibilidade dolorosa e fatores envolvidos na qualidade da amostra citológica do fluxo papilar: resultados preliminares da utilização de sistema automatizado de coleta

*Assessment of pain sensitivity and factors involved in the quality of the sample fluid cytologic papillary: preliminary results from the use of automated collection*

## Artigo original

### Palavras-chave

Neoplasias da mama/ patologia  
Mamilos/ secreção  
Citodiagnóstico  
Dor

### Keywords

Breast neoplasms/ pathology  
Nipples/ secretion  
Cytodiagnosis  
Pain

## Resumo

**OBJETIVO:** avaliar a sensibilidade dolorosa e os fatores envolvidos na produção de fluido papilar adequado para análise de citologia oncológica, por meio de sistema automatizado de coleta. **MÉTODOS:** foram selecionadas 50 mulheres assintomáticas, sem antecedente pessoal ou familiar de câncer de mama, fora do ciclo gravídico-puerperal para coleta de fluido papilar por meio de sistema automatizado. Foram registradas e relacionadas com a produção de fluido papilar a idade da paciente, tabagismo, antecedente de cirurgia mamária, paridade, amamentação, estado menopausal e idade da menarca. Todo o material coletado foi fixado em meio apropriado, e encaminhado separadamente para análise de citologia oncológica. A sensibilidade dolorosa do procedimento de coleta foi avaliada por meio da Escala Category-Ratio Scale (CR<sub>10</sub>) de Borg. **RESULTADOS:** a idade variou de 22 a 59 anos, média de 41,6±8,6 anos. Das 50 pacientes, 20 (40%) não apresentaram fluido papilar adequado para análise em nenhuma das mamas. Nasqueles pacientes que se obteve fluido papilar adequado para análise de citologia oncológica, a paridade esteve inversamente relacionada com a capacidade de obter amostra celular adequada, nível de significância estatística (p=0,035), OR=0,0032 (IC 95%=0,0001-0,1388). Em relação à sensibilidade dolorosa, o exame foi bem tolerado. **CONCLUSÕES:** o método automatizado de coleta de fluido papilar para análise de citologia oncológica foi bem tolerado pelas mulheres tendo produzido material analisável em 60% dos casos, esteve inversamente relacionado com a paridade.

## Abstract

**PURPOSE:** to evaluate painful sensitivity and factors involved in producing papillary fluid suitable for cytological analysis by means of automated collection. **METHODS:** we selected 50 asymptomatic women without a personal or family history of breast cancer, outside the pregnancy and childbirth cycle in order to collect papillary fluid by the automated system. We recorded and related to the production of papillary fluid patient age, smoking habit, previous breast surgery, parity, breastfeeding, menopausal status and age at menarche. All material collected was fixed in appropriate place, and sent separately for cytological analysis. The painful sensitivity of the collection procedure was assessed using the Borg Category-Ratio Scale (CR<sub>10</sub> Scale). **RESULTS:** patient age ranged from 22 to 59 years, mean 41.6±8.6 years. Of the 50 patients, 20 (40%) showed no papillary fluid suitable for analysis in the breasts. In those patients from whom appropriate fluid was obtained for analysis of papillary cytology, parity was inversely related to the ability to obtain suitable cell samples with a level of statistical significance of p=0.035, OR=0.0032 (95%CI=0.0001-0.1388). Regarding soreness, the exam was well tolerated. **CONCLUSIONS:** the automated method of fluid collection for analysis of papillary cytology was well tolerated by the women; thus producing analyzable material in 60% of cases, a rate was inversely related to parity.

### Correspondência:

Marcos Desidério Ricci  
Departamento de Obstetria e Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo  
Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 – 10º andar.  
CEP 05403-000 – Jardim Paulista  
Fone/Fax – (11) 3069-7621  
E-mail: desiderion@vol.com.br

### Recebido

12/7/10

### Aceito com modificações

6/10/10

Setor de Mastologia do Departamento de Obstetria e Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP – São Paulo, Brasil.

<sup>1</sup> Chefe do Setor de Mastologia da Disciplina de Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo – USP – São Paulo (SP), Brasil.

<sup>2</sup> Médico do Setor de Mastologia da Disciplina de Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo – USP – São Paulo (SP), Brasil.

<sup>3</sup> Pesquisador Científico do Laboratório de Investigação Médica (LIM-14) do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo – USP – São Paulo (SP), Brasil.

<sup>4</sup> Professor Titular da Disciplina de Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo – USP – São Paulo (SP), Brasil.

Equipamento fornecido pelo MEM Cirúrgica Ltda., representante no Brasil do (HALO™ Mamo Cito Test).

## Introdução

O rastreamento do câncer de mama por meio da mamografia continua sendo o principal instrumento de diagnóstico das lesões invasivas, pré-invasivas e precursoras, além de diminuir a mortalidade por câncer de mama das pacientes incluídas em programas de rastreamento<sup>1</sup>. Todavia, a mamografia tem baixa sensibilidade em mulheres jovens e naquelas com mamas densas. Exames como a ultrassonografia e a ressonância magnética demonstraram aumentar a taxa de detecção deste grupo particular, embora à custa de aumento no número de falsos positivos<sup>2</sup>.

Metodologia ainda pouco explorada como rastreamento do câncer de mama, a pesquisa de células do fluido papilar por sucção poderia fornecer importante material de análise das células de renovação ductal, uma vez que é na luz dos ductos que ocorre a principal via do processo da carcinogênese mamária e, portanto, o lugar mais provável de encontrarem células com alterações suspeitas.

O câncer de mama tem início na unidade ducto-lobular de onde se desenvolve e invade outros tecidos. Nos ductos mamários existem células do epitélio que se renovam através do surgimento de novas células e descamação daquelas que sofreram apoptose. As células neoplásicas que aí se origina podem alcançar a luz desses ductos<sup>3</sup>. A coleta de células do lúmen ductal pode, em determinadas situações, revelar alterações citológicas que auxiliam no rastreamento do câncer de mama, tendo sido explorada há vários anos<sup>4-6</sup>.

Métodos de avaliação citológica ductal têm sido matéria de ensaios clínicos como rastreamento de populações assintomáticas de risco elevado para câncer de mama, visando à instituição de medidas de prevenção primária. Dentre esses métodos podem ser citados a citologia oncótica o fluxo papilar (COFP), a punção aspirativa com agulha fina periareolar (PAAFP), e a lavagem ductal (LA). Tais métodos são reservados a mulheres assintomáticas sem lesões suspeitas ao exame clínico ou exames de imagem, que buscam o diagnóstico de lesões precoces antes de serem detectadas pelos métodos radiológicos disponíveis<sup>7-9</sup>.

Dentre as limitações da coleta de fluido papilar, o desconforto dos métodos disponíveis é fator de resistência a aderência das pacientes a esses programas específicos de rastreamento. Dentre os métodos mais utilizados, a lavagem ductal consiste na cateterização dos ductos papilares e injeção de soro fisiológico, removido em seguida por vácuo-aspiração. O produto coletado é centrifugado e o sedimento analisado citologicamente. Dentre as limitações tem-se a dificuldade na cateterização dos ductos e dor em virtude do caráter invasivo da técnica. A quantidade de células coletadas nem sempre justifica sua aplicação na prática clínica<sup>10,11</sup>.

Recentemente, foi desenvolvido um equipamento que consiste num dispositivo automatizado com sistema de aquecimento e massagem para coleta do conteúdo

intraductal. O diferencial deste em relação aos demais é que nele não há necessidade de cateterização ductal. A aspiração contempla todos os ductos, não é invasiva, e apresenta similaridade com as bombas a vácuo utilizadas pelas lactantes para coleta e armazenamento de leite<sup>12</sup>.

Atualmente, já existem condições para estudos que vão além da avaliação citológica, em que se destacam análises moleculares e proteômicas, que certamente permitirão em médio e longo prazo a identificação de algoritmos de diagnóstico, prognóstico e indicações de alvos terapêuticos específicos e individualizados<sup>13</sup>.

Este trabalho teve por finalidade avaliar a capacidade de essa metodologia proporcionar amostras citológicas analisáveis, em relação com algumas variáveis e o grau de desconforto.

## Métodos

O estudo, prospectivo observacional, incluiu 50 mulheres voluntárias, selecionadas com base nos seguintes critérios de elegibilidade: assintomáticas, fora do ciclo gravídico-lactacional no mínimo nos últimos 12 meses, sem história pessoal ou familiar de primeiro grau de câncer de mama, que não tenham feito uso de quimioprevenção com tamoxifeno, ou drogas indutoras de hiperprolactinemia. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Disciplina de Ginecologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. As mulheres foram incluídas no estudo no período de 1º a 17 de outubro de 2008, após serem informadas dos objetivos do trabalho e assinarem o termo de consentimento livre e informado.

As pacientes foram entrevistadas pelos médicos pesquisadores, e interrogadas acerca da idade, antecedente de cirurgia mamária prévia, paridade, amamentação, estado menopausal e idade da menarca. Quanto à paridade, foram designadas como nulíparas, e não nulíparas, termo reservado para aquelas com um ou mais filhos. Realizou-se exame físico geral e mamário para, então, realizar-se a coleta do fluido pela leve expressão ductal manual, seguida pela coleta pelo sistema automatizado. Todo o material coletado foi fixado em meio apropriado, e encaminhado separadamente para análise citológica pela técnica de Papanicolaou, em um único laboratório e sob os cuidados da mesma equipe restrita.

A coleta ficou sob responsabilidade de dois médicos, com a seguinte padronização:

- exame físico das mamas, incluindo os tempos de inspeção estática, inspeção dinâmica, palpação das mamas e vias de drenagem linfática – axila e fossa supraclavicular;
- limpeza do complexo aréolo-papilar com algodão embebido em álcool etílico a 90°, visando à remoção de resíduos de cosméticos, suor ou outras partículas;

- expressão manual da papila, seguida pelo registro da presença ou não de descarga ductal;
- posicionamento do sistema automatizado de coleta, que consiste na adequação das “tulipas” – porção cônica que cobre o mamilo, a partir da qual a força de sucção é colocada – previamente revestidas de uma proteção descartável estéril de látex;
- ajuste manual ao tamanho das mamas;
- início do ciclo com fases de aquecimento, compressão e sucção, tendo duração total de cinco minutos, seguido pelo desligamento automático do sistema.
- Retirada da tulipa, sequencialmente do lado esquerdo e direito, com remoção do material acumulado no mamilo e nas bordas da “tulipa”. A coleta do espécime a ser analisado foi feita com swab de algodão seco, ou embebido com solução fisiológica a 9% quando não foi visível o produto da sucção;
- a seguir foi realizado esfregaço em lâminas previamente identificadas com o número do registro da voluntária no estudo, e lateralidade da amostra;
- em todas as voluntárias, o procedimento foi realizado bilateralmente.

Para uma análise mais detalhada, os resultados foram subdivididos em dois grupos de acordo com a obtenção de amostra satisfatória, que correspondeu a 30 casos, e amostra insatisfatória, que correspondeu a 20 casos. Foram consideradas satisfatórias as amostras cuja análise microscópica revelou número igual ou maior que 10 células epiteliais.

Os espécimes foram analisados e classificados de acordo com a classificação inglesa da National Statistics and the National Health Service Breast Screening Programme (NHSBSP), modificada por King et al.<sup>9</sup>, relacionada a seguir: material insatisfatório; negativo para malignidade; indeterminado para células neoplásicas; suspeito para células neoplásicas; e maligno<sup>14-15</sup>.

A mamografia digital bilateral, bem como a ultrassonografia mamária foi aplicada a todas as voluntárias, nos 30 dias seguintes à coleta automatizada, e repetidos após 12 meses. Nesse período, as mulheres foram orientadas a retornar frente o aparecimento de qualquer anormalidade mamária detectada pelo autoexame mensal.

Ao término da coleta, as participantes foram questionadas quanto ao possível desconforto ocasionado pelo sistema de coleta, tendo de responder o grau de dor de acordo com a Category-Ratio Scale (Escala CR<sub>10</sub>) de Borg, em que cada número equivale a um valor referencial de dor, descrita a seguir: absolutamente nada; extremamente fraco; muito fraco; fraco; moderado; forte; muito forte; extremamente forte<sup>16</sup>.

Foi utilizado o teste de qui-quadrado, o teste exato de Fisher, e o teste *t* de Student para correlacionar as variáveis

estudadas com a qualidade da amostra do fluido papilar coletado, tendo como valor de significância  $p < 0,05$ . A análise de regressão logística foi utilizada para validar as variáveis que apresentaram nível de significância.

## Resultados

A idade das mulheres variou entre 22 e 59 anos, sendo a média de  $41,6 \pm 8,6$  anos. A idade média da menarca foi de  $12,5 \pm 1,9$  anos. No que tange ao estado menstrual, 37 (74%) estavam no menacme e 13 (26%) na menopausa. Os resultados para paridade revelaram que 13 mulheres eram nulíparas e 37 não nulíparas.

Ao exame físico das mamas os pesquisadores não registraram sinais diretos ou indiretos de nódulo mamário. A secreção papilar visível, promovida pela expressão manual foi anotada em sete (14%) voluntárias. Nessas pacientes, a secreção papilar foi coletada e analisada após a coleta automatizada, sendo incluídas no grupo das voluntárias com amostras satisfatórias.

Após aplicação do dispositivo de coleta automatizado observou-se, em relação às amostras com fluido visível ao exame, amostra macroscópica em 23/50 (46%) mulheres da mama direita, em 16/50 (32%) da mama esquerda, em pelo menos uma das mamas em 26/50 (52%), e em ambas as mamas em 13/50 (26%) mulheres.

Analisando microscopicamente o produto coletado por swab embebido em solução fisiológica a 9%, nos casos em que não se revelou amostra visível, o número de mulheres com amostra analisável, satisfatória, passou de 26 (52%) para 30 (60%), e o número de mulheres em que foi possível obter amostra analisável de ambas as mamas foi de 17 (34%). Em 20 (40%) mulheres o material foi insatisfatório para análise microscópica do produto da coleta (Tabela 1).

Não houve diferença estatisticamente significativa para tabagismo, antecedente de cirurgia mamária prévia, estado menopausal e idade. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) quando se avaliou a paridade, a idade da menarca e o antecedente de amamentação (Tabela 2). Após análise de regressão logística binária dos fatores com diferença estatisticamente significativa, de forma independente, o resultado final foi de que apenas

**Tabela 1** - Relação entre amostra microscópica e categorias citológicas

Microscopia	Categoria 0	Categoria II	Categoria III	Mista*	Total
Somente à direita	4	7	2	0	13
Somente à esquerda	9	4	0	0	13
Bilateral positiva	0	16	0	1	17
Bilateral negativa	20	0	0	0	20

Categoria 0: material insatisfatório; categoria II: negativo para malignidade; categoria III: indeterminado para células neoplásicas; e mista (\*): categoria II na mama esquerda e III à direita.

a paridade foi variável estatisticamente significativa na regressão logística.

Dentre as variáveis estudadas, portanto, apenas a paridade apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p=0,0028$ ) em predizer a obtenção de amostra celular pelo método e a associação foi inversa, de forma que a paridade diminuiu a chance de se obter amostra celular ( $OR=0,0032$ ;  $IC95\%=0,0001-0,1388$ ). Não houve significância para a variedade amamentação ( $p=0,1272$ ;  $OR=13,4472$ ;  $IC95\%=0,4766-379,4269$ ) e idade da menarca ( $p=0,0609$ ;  $OR=1,4405$ ;  $IC95\%=0,0001-0,1288$ ).

O rastreamento por meio da mamografia e ultrassonografia mamária, realizadas após a coleta e em 12 meses, não demonstraram lesões suspeitas passíveis de biópsia em 49 voluntárias. Uma voluntária retornou após oito meses com queixa de nódulo no quadrante superior lateral da mama direita. A investigação dessa lesão teve por diagnóstico histológico um carcinoma ductal invasivo, e a paciente foi encaminhada para tratamento apropriado iniciado pela cirurgia conservadora com biópsia do linfonodo sentinela.

**Tabela 2 - Avaliação dos diferentes fatores que podem interferir na produção do fluido papilar**

Análise	Amostra satisfatória	Amostra insatisfatória	Valor de p
<b>Tabagismo</b>			
Não	24 (80,0%)	16 (80,0%)	0,645**
Sim	6 (20,0%)	4 (20,0%)	
<b>Cirurgia mamária prévia</b>			
Não	24 (80,0%)	16 (80,0%)	0,645**
Sim	6 (20,0%)	4 (20,0%)	
<b>Amamentação<sup>1</sup></b>			
Não	0 (0%)	4 (22,2%)	0,046**
Sim	19 (100%)	14 (77,8%)	
<b>Paridade</b>			
Nulíparas	11 (36,7%)	2 (10%)	0,035*
Não nulíparas	19 (63,3%)	18 (90%)	
<b>Menopausa</b>			
Não	20 (66,7%)	17 (85%)	0,148*
Sim	10 (33,3%)	3 (15%)	
Menarca (idade)	13,0±1,7	11,9±2,1	0,042***
Idade	42,5±6,9	40,2±10,7	0,353***

\*Teste de qui-quadrado; \*\*teste exato de Fisher; \*\*\*teste t de Student; <sup>1</sup>apenas mulheres que tiveram filhos.

**Tabela 3 - Escala de dor CRT0 de Borg**

Escala CRT0 de Borg	n	%
0	-	
0,5	-	
1	16	32
2	13	26
3	15	30
5	6	12
7	-	
10	-	

n: número de pacientes; 0: absolutamente nada; 0,5: extremamente fraco; 1: muito fraco; 2: fraco; 3: moderado; 5: forte; 7: muito forte; 10: extremamente forte.

Essa paciente apresentou, no início do estudo, descarga papilar bilateral, com análise citológica de categoria II.

Analisando a sensibilidade dolorosa do método, 58% das voluntárias referiram dor de nível muito fraco ou fraco, em 30% delas a dor foi moderada e forte em 12%.

A Tabela 3 representa, com base na escala proposta, a expressão do grau de dor ou desconforto com o método.

## Discussão

Na população geral, formada por mulheres assintomáticas, sem risco elevado para câncer de mama, o fluxo papilar, na maioria das vezes, é provocado por alterações benignas<sup>17</sup>. Tem importância, tanto ao citopatologista como ao clínico, registrar se existe fluxo ou não, se é uni ou multidual e uni ou bilateral<sup>18</sup>. Merece atenção especial os sanguinolentos ou hialinos espontâneos, unidual e unilateral, pela possibilidade de estarem relacionados às lesões neoplásicas.

O fluido obtido pelos ductos papilares visa basicamente refletir o ambiente celular na luz do sistema ductal mamário, bem como esclarecer as mudanças nos processos de secreção da mama<sup>19</sup>. Isso permite a investigação não só das células, mas também do ambiente físico em torno das células. A citologia oncótica é a principal técnica aplicada ao produto do fluido papilar, sendo necessárias ao menos, dez células epiteliais para a obtenção de análises citológicas consideradas adequadas<sup>8</sup>.

Selecionando mulheres de elevado risco para câncer de mama, King et al.<sup>9</sup> obtiveram seus melhores resultados coletando amostras após massagem prévia de 5 a 10 minutos. Com essa estratégia, cerca de 78,2% das mulheres apresentaram produção de fluido após pelo menos cinco tentativas. A produção de fluido pode variar de 39 a 66% das mulheres de risco elevado e chega a 50 a 95% nas de altíssimo risco<sup>7</sup>. A produção de fluido parece ser mais frequente em mulheres de 30 a 50 anos, antes da lactação e nas não asiáticas<sup>9</sup>. No presente estudo, a porcentagem de mulheres, que apresentaram fluido papilar, esteve dentro do esperado para voluntárias sem risco elevado, ou seja, 26% de fluido produzido por ambas as mamas, e 52% de fluido produzido ao menos em uma das mamas. O percentual foi resultado da somatória dos valores registrados antes e após aplicação do método automatizado de coleta. Estudo realizado com o mesmo método automatizado de coleta, da qual participaram 500 mulheres assintomáticas, sem risco elevado, obteve 38% de fluxo papilar satisfatório para análise citológica<sup>12</sup>. Esses dados foram resultado da coleta do fluido papilar obtido na primeira tentativa, sem massagem prévia, podendo teoricamente elevar as porcentagens de espécime amostral se reproduzido após massagem ou em coletas consecutivas.

O número de amostras obtidas tem relação direta com aumento da sensibilidade do método. King et al.<sup>9</sup> realizaram coleta de fluido papilar semestralmente por dois anos, tendo registrado que após a primeira coleta, 6,7% das mulheres apresentavam células com alterações atípicas, enquanto após a quinta coleta, essa taxa foi de 18,2%. Para esses autores, uma interpretação citológica adequada é obtida após três ou mais coletas.

O presente estudo demonstrou valores em que análises entre as variáveis dividem-se claramente em dois grupos, com ou sem valor de significância para a obtenção de fluido papilar. As variáveis amamentação, paridade e menarca demonstraram significância estatística. Após análise de regressão logística, todavia, apenas a paridade demonstrou significado estatístico, possivelmente pela limitação decorrente do tamanho amostral.

Nosso estudo investiu na avaliação do potencial de um sistema de coleta de amostras de fluido ductal em um grupo sabidamente reservado, de pacientes clinicamente assintomáticas, sem risco elevado. Estudos que analisaram a citologia oncótica do fluxo papilar por meio da expressão, punção com agulha fina periareolar ou lavagem ductal, foram aplicados a populações de mulheres com risco elevado para câncer de mama, como estratégia de diagnóstico precoce<sup>7</sup>. Testamos o modelo de coleta em situação limítrofe, pois sabidamente o epitélio mamário normal, ou sem claras evidências de câncer, não sofre descamação significativa. Além dessa particularidade, que pode ter sido um dos determinantes da obtenção de amostras avaliáveis em menos da metade das voluntárias, é possível que os resultados fossem melhores se o método fosse aplicado após massagem prévia, ou reaplicado no

momento seguinte naquelas situações cuja amostra foi insatisfatória.

Não houve quaisquer restrições relacionadas ao método devido a eventual desconforto durante o procedimento de coleta. Ao contrário, a avaliação foi bastante positiva em relação a isso. Os outros métodos existentes, como a punção com agulha fina periareolar e a lavagem ductal são invariavelmente invasivos e estão associados a relatos de importante desconforto<sup>10</sup>. Além disso, os índices de aproveitamento diagnóstico não justificam a morbidade associada a esses métodos<sup>6</sup>.

O exame citológico do fluxo papilar apresenta baixos índices de sensibilidade, mas alta especificidade<sup>20</sup>. Esta especificidade pode, no entanto, ser comprometida nos casos com diagnóstico de células atípicas em pacientes com lesões papilíferas, sendo essa circunstância determinante da parcela de resultados falsos-positivos<sup>21</sup>. Quando a coleta do fluido ductal é feito por meio da ductoscopia, e a citologia oncótica é associada à ploidia, a especificidade pode atingir 100%<sup>21</sup>. Por outro lado, a técnica é de alta complexidade, não justificando sua aplicabilidade na rotina de rastreamento das pacientes de alto risco<sup>22,23</sup>.

Demonstramos que o sistema automatizado de coleta de fluido papilar pode obter amostras citológicas satisfatórias em até 60% das mulheres selecionadas da população em geral. Esse método de obtenção de fluido ductal é menos invasivo, com baixo desconforto, sem contraindicações. Estudos futuros com pacientes de risco moderado e elevado e a correlação entre os achados citológicos e todos os indicadores de risco usualmente avaliados poderão constituir num refinamento na seleção das pacientes candidatas a práticas farmacológicas ou cirúrgicas de redução de risco.

## Referências

- Göttsche PC, Nielsen M. Screening for breast cancer with mammography. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;(4):CD001877.
- Teifke A, Hlawatsch A, Beier T, Werner Vomweg T, Schadmand S, Schmidt M, et al. Undetected malignancies of the breast: dynamic contrast-enhanced MR imaging at 1.0 T. *Radiology*. 2002;224(3):881-8.
- Abdel-Fatah TM, Powe DG, Hodi Z, Reis-Filho JS, Lee AH, Ellis IO. Morphologic and molecular evolutionary pathways of low nuclear grade invasive breast cancers and their putative precursor lesions: further evidence to support the concept of low nuclear grade breast neoplasia family. *Am J Surg Pathol*. 2008;32(4):513-23.
- Vaughan A, Crowe JP, Brainard J, Dawson A, Kim J, Dietz JR. Mammary ductoscopy and ductal washings for the evaluation of patients with pathologic nipple discharge. *Breast J*. 2009;15(3):254-60.
- Masood S, Khalbuss WE. Nipple fluid cytology. *Clin Lab Med*. 2005;25(4):787-94.
- Beechey-Newman N, Kulkarni D, Kothari A, D'Arrigo C, Culora G, Hamed H, et al. Breast duct microendoscopy in nipple discharge: microbrush improves cytology. *Surg Endosc*. 2005;19(12):1648-51.
- Fabian CJ, Kimler BF, Mayo MS, Khan SA. Breast-tissue sampling for risk assessment and prevention. *Endocr Relat Cancer*. 2005;12(2):185-213.
- Wrensch MR, Petrakis NL, Miike R, King EB, Chew K, Neuhaus J, et al. Breast cancer risk in women with abnormal cytology in nipple aspirates of breast fluid. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93(23):1791-8.
- King EB, Chew KL, Hom JD, Miike R, Wrensch MR, Petrakis NL. Multiple sampling for increasing the diagnostic sensitivity of nipple aspirate fluid for atypical cytology. *Acta Cytol*. 2004;48(6):813-7.
- Loud JT, Beckjord EB, Nichols K, Peters J, Giusti R, Greene MH. Tolerability of breast ductal lavage in women from families at high genetic risk of breast cancer. *BMC Womens Health*. 2009;9:20.
- Tondre J, Nejad M, Casano A, Mills D, Love S. Technical enhancements to breast ductal lavage. *Ann Surg Oncol*. 2008;15(10):2734-8.

12. Proctor KA, Rowe LR, Bentz JS. Cytologic features of nipple aspirate fluid using an automated non-invasive collection device: a prospective observational study. *BMC Womens Health*. 2005;5:10.
13. Schmitt FC, Longatto-Filho A, Valent A, Vielh P. Molecular techniques in cytopathology practice. *J Clin Pathol*. 2008;61(3):258-67.
14. Gathani T, Bull D, Green J, Reeves G, Beral V; Million Women Study Collaborators. Breast cancer histological classification: agreement between the Office for National Statistics and the National Health Service Breast Screening Programme. *Breast Cancer Res*. 2005;7(6):R1090-6.
15. King EB, Chew KL, Petrakis NL, Ernster VL. Nipple aspirate cytology for the study of breast cancer precursors. *J Natl Cancer Inst*. 1983;71(6):1115-21.
16. Borg G. Perceived exertion as an indicator of somatic stress. *Scand J Rehabil Med*. 1970;2(2):92-8.
17. Page DL, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Carcinoma in situ and patients at high risk of breast cancer. *BMJ*. 1995;310(6971):39-42.
18. Lang JE, Kuerer HM. Breast ductal secretions: clinical features, potential uses, and possible applications. *Cancer Control*. 2007;14(4):350-9.
19. Klein PM, Lawrence JA. Lavage and nipple aspiration of breast ductal fluids: a source of biomarkers for environmental mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2002;39(2-3):127-33.
20. Carvalho MJ, Dias M, Gonçalo M, Fernandes G, Rodrigues V, de Oliveira CF. What is the diagnostic value of nipple discharge cytology and galactography in detecting duct pathology? *Eur J Gynaecol Oncol*. 2009;30(5):543-6.
21. Sauter ER, Klein-Szanto A, Macgibbon B, Ehya H. Nipple aspirate fluid and ductoscopy to detect breast cancer. *Diagn Cytopathol*. 2010;38(4):244-51.
22. Dooley WC. Breast ductoscopy and the evolution of the intra-ductal approach to breast cancer. *Breast J*. 2009;15 Suppl 1:S90-4.
23. Zagouri F, Sergentanis TN, Giannakopoulou G, Panopoulou E, Chrysikos D, Bletsas G, et al. Breast ductal endoscopy: how many procedures qualify? *BMC Res Notes*. 2009;2:115.