

BIOMETRIAI ADATOK SZEREPE AZ EMLŐMEGBETEGEDÉSEK ASPIRÁCIÓS CYTOLÓGIAI VIZSGÁLATÁBAN

BODÓ MIKLÓS, SZENTIRMAI ZOLTÁN, SUGÁR JÁNOS az orvostudományok doktora,
BAK MIHÁLY és SVASTITS EGON

Közlésre érkezett: 1981. VI. 2.

Az emlőrákos morbiditás és mortalitás az utóbbi években emelkedett annak ellenére, hogy a diagnosztikus módszerek finomodtak, a therápiás lehetőségek bővültek. Az emlődaganatok korszerű diagnosztikájában a hagyományos tapintás mellett különböző radiológiai eljárások (mammographia, xero-mammographia, ductographia stb.) ultrahang-diagnosztika, thermographia is helyet kapnak [Berg (1961, 1962); Zajicek (1974); Schöndorf (1977); Bodó és mtsai (1978)].

A klinikai diagnosztikai eljárásokon kívül újabban, mint praeoperatív, praeirradiatív eljárás, a solid, tapintható emlőelváltozások vizsgálatára alkalmas, ún. vékony-tű technikás aspirációs cytológiai eljárás terjedt el [Robbins és mtsai (1954); Berg (1961); Zajicek (1974); Zajdela és mtsai (1975, 1979)].

Az irodalomban közölt adatok [Berg (1962); Underwood (1972); Boquoi (1975); Bogaert (1977); Schöndorf (1977)], valamint saját tapasztalataink alapján bizonyítást nyert, hogy a cytológiai módszer tapasztalt kézben önállóan is 88—90%-ban valós diagnózist ad (szövetteni vizsgálat jelentette a kontrollt). Amennyiben a módszert együttesen, tapintással és mammographiával együtt alkalmazzuk, az emlőrák praeoperatív felismerése 94—96%-ra emelkedik.

Az eljárás diagnosztikus értékének bizonyításakor arra törekedtünk, hogy pontosan definiáljuk mind a benignusnak, mind a malignusnak körismézett jellemző cytomorphológiai elváltozásokat. Az egyes fénymikroszkópos diagnózis-csoportok további jellemzésére magátmérő és magterület, valamint sejtmag DNS cytophotometriás vizsgálatokat végeztünk.

Közleményünk megírásának célja az, hogy az emlő benignus és malignus megbetegedéseinek cytomorphológiai és biometriai differenciál-diagnosztikáját ismertessük.

Anyag és módszer

2180 pathológiás emlőelváltozással jelentkező beteget vizsgáltunk aspirációs cytologiai módszerrel (1. táblázat).

I. táblázat

Emlőtumorok aspirációs cytológiai vizsgálata
1974. I. 1—1979. XII. 31.

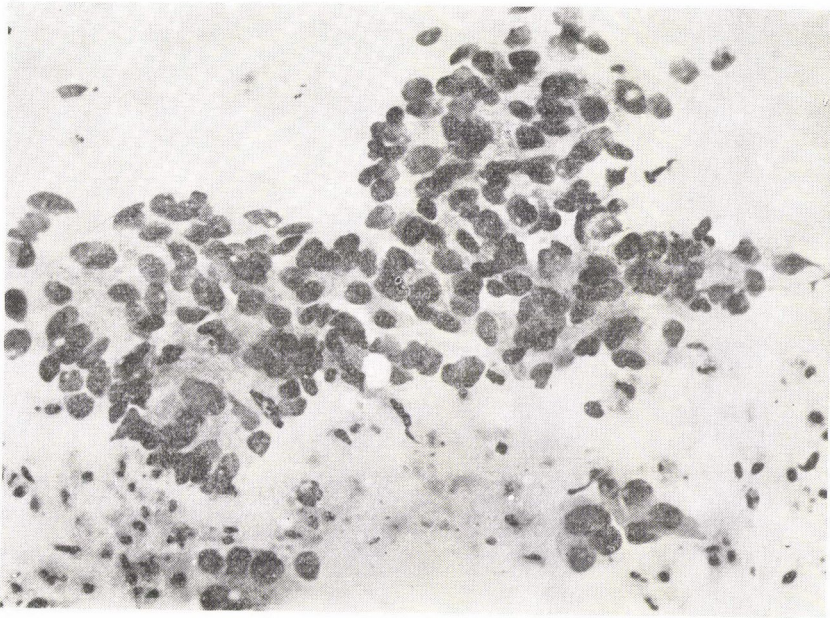
Cytológiai lelet	Esetszám	%
Negatív (egyszerű proliferatio)	1428	65,5
Suspect (atypusos proliferatio)	192	8,8
Pozitív (carcinoma)	431	19,8
Insufficiens	129	5,9
Összesen:	2180	100,0

A keneteket aether-alcohol fixálás után Haematoxylin-Eosinnal festettük.

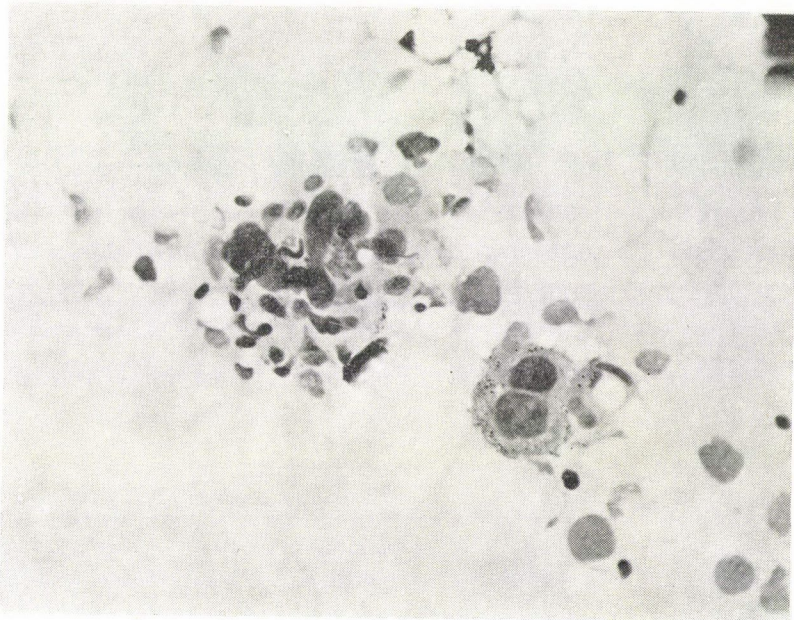
A cytologiai leletezésben negatívnak értékeltük (egyszerű proliferáció) azokat a keneteket, amelyekben a malignitás cytomorphologiai jeleit mutató sejteket nem találtunk. Ebbe a csoportba soroltuk a mastopathiákat, az aspecifikus, specifikus gyulladásokat és a fibroadenomákat. Gyanúsnek jelöltük azokat a keneteket (atypusos proliferatio), amelyekben atypusos sejteket észleltünk. Ezen sejtképek rendszerint kifejezett proliferatiót mutató mastopathia, sejtűs fibroadenoma, ductus papillomatosis, sclerosing adenosis szövettani diagnózis eseteknek feleltek meg. Carcinomának (pozitív) jelöltük a cytomorphologiai kép alapján a rosszindulatú daganatból származtatható daganatsejteket tartalmazó keneteket. Meghatároztuk a cytomorphologiai jelek alapján a differenciáltság fokát:

(a) *Jól differenciáltnak* jelöltük azon eseteket, amelyekben a daganatsejtek kifejezett secretios jeleket mutattak, a relatív monomorphia volt jellemző. A daganatsejtek szorosan egymás mellett való elhelyezkedése, mirigyformák, papillaris formák, kevés osztódó alak ugyancsak emellett szóltak (1. ábra).

(b) *Közepesen differenciált* csoportban a polymorphia kifejezett volt, secretios jelenség alig, vagy nem volt felismerhető. A sejtcsoportosulások kevésbé jellemzők, gyakrabban fordul elő oszló alak (2. ábra).



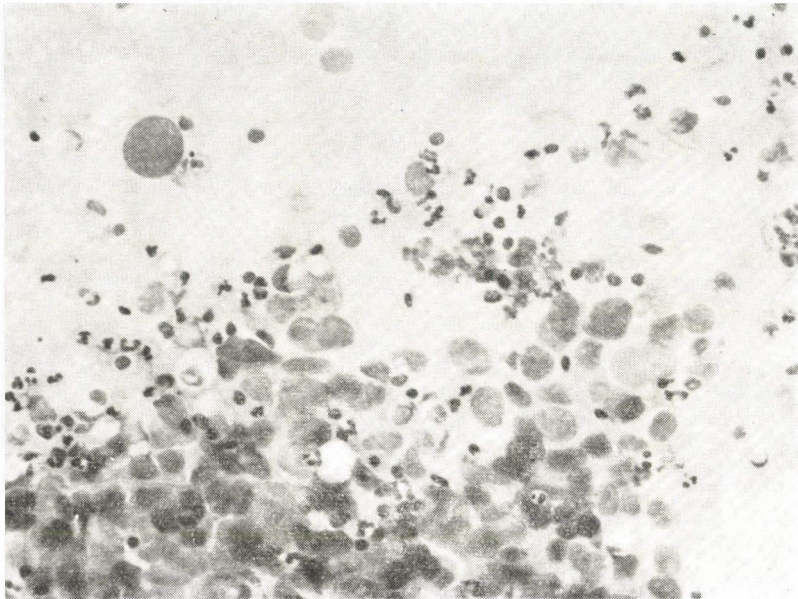
1. ábra



2. ábra

(c) *Alacsonyan differenciáltaknak* neveztük azon sejtképeket, ahol a sejtek egyrészt jellegtelenekek voltak, elszórtan, különállóan helyezkedtek el, másrészt az igen kifejezett polymorphiát, daganat óriássejteket is tartalmazó keneteket (3. ábra). Azokat az eseteinket, amelyeknél az elégtelen anyagvétel miatt cytológiai diagnózist nem tudtunk adni, insufficiensnek neveztük. A szövettani tipizálásnak megfelelő csoportosítást nem végeztünk.

Minden diagnózis-csoportban 5-5 esetben meghatároztuk 100-100 sejt-mag területét és ugyanazon 5-5 esetben azok DNS-tartalmát.

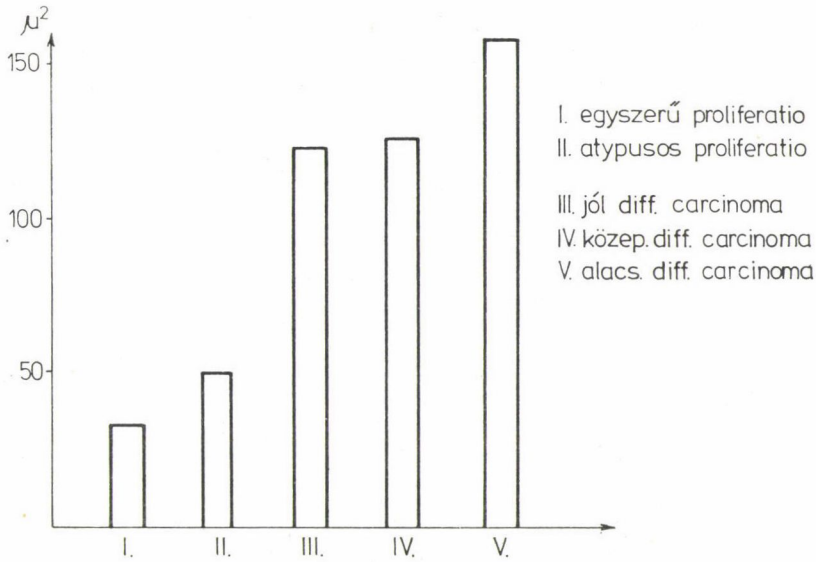


3. ábra

A mag-átmérőt Zeiss okular mikrométerrel mértük és a magterületet μ^2 -ban fejeztük ki. Ovális sejtmagok esetén a legnagyobb és legkisebb átmérőt figyelembe véve az $\frac{a \cdot b}{4} \cdot \pi$ összefüggés adta a területet. A sejtenkénti mag DNS-tartalom meghatározása Feulgen-festett keneteken $550 \text{ m}\mu$ hullámhosszúságú fényben Bar és Stroud gyártmányú integráló mikrodensitóméterrel történt. A diploid chromosoma számhoz tartozó $2c$ DNS-értéket a kenetekben előforduló leukocyták adták. A histogramok vizuális összehasonlításán kívül Genchi, Mori és Tanaka által leírt ambiguity function testet is alkalmaztunk [Bartels (1979)], ami a kontroll histogramtól való eltérést 0 és 1 közötti szám-értékkel objektíven fejezi ki.

Eredmények

Szövetteni vizsgálat a cytologiai vizsgálatot követően 967 esetben történt (44%). Adataink szerint a cytomorphologiai diagnózis találati aránya a különböző fokú differenciáltságot mutató emlőrákos esetekben 92%, az atypusos proliferációs diagnózis-csoportban 76%, az egyszerű proliferációs csoportban 89%; összesítve 85,6% volt.



4. ábra

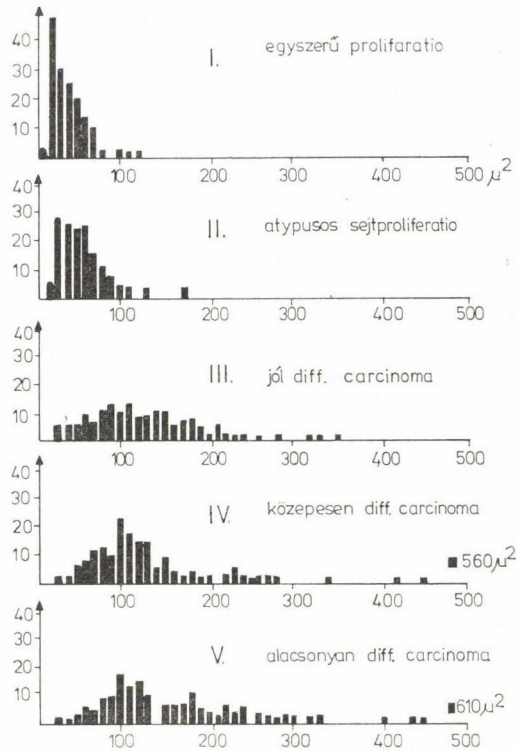
1. Magterület vizsgálatok (4. és 5. ábra)

Az egyes esetek átlag-, és szórásértékeinek figyelembevételével mellett fel-tüntetjük a gyakorisági histogramokat is. Ezek alakja további információkat nyújtott.

a) A *nem tumoros* esetekben a sejtmag területének meghatározásával jól elkülöníthető az egyszerű proliferációs és az atypusos proliferációs csoport.

Az egyszerű proliferációs csoportban a magok átlagos területe $33,32 \pm 19,58 \mu^2$ volt; az atypusos proliferációs csoportban ez az érték $50,92 \pm 24,89 \mu^2$ -ra nőtt; tehát a magterület átlagértéke és szórása megnövekedett, ami elkülönítési alapul szolgált.

Mindkét csoportban a magterület histogramja egycsúcsú, a magasabb értékek felé ferde eloszlást mutat. Jellemző azonban, hogy a kifejezett proliferációs csoportban nagyobb az eltérés az egyes sejtmagok között; tehát sok



5. ábra

nagyobb területű sejtmag fordul elő. Ez is magyarázza a korábbiakban szemléltetett atypusos cytomorphologiai képet.

b) *Roszzindulatú daganatoknál* (carcinomáknál) a differenciáció fokának függvényében eltéréseket találtunk a különböző csoportokban. A jól differenciált carcinomák sejtmagjainak átlagterülete $121,12 \pm 63,24 \mu^2$, a közepesen differenciált csoportban $124,68 \pm 75,03 \mu^2$, az alacsonyan differenciált csoportba sorolt daganatsejtek magjainak átlagterülete $156,84 \pm 98,23 \mu^2$ volt.

Adataink szerint a jól, és közepesen differenciált csoport sejtmagjainak átlagértékei között nincs lényeges különbség, de az alacsonyan differenciált csoportban lényegesen nagyobb a magvariabilitás, amit a megnövekedett szórásérték is mutat.

2. DNS cytophotometria

Ahhoz, hogy az egyes diagnózis-csoportokba tartozó esetek DNS-tartalmát összehasonlíthassuk, meg kellett vizsgálni, hogy ugyanazon csoporton belül a histogramok azonosak-e. Erre a DNS histogram szubjektív megítélésén túl az ún. ambiguity-érték ad felvilágosítást.

Minden egyes csoportban önkényesen kiválasztottunk egy-egy esetet, és ehhez hasonlítottuk a többit. Az A. értékek alapján az egyes diagnózis-csoportok homogénnek tekinthetők, bár a közepesen és alacsonyan differenciált carcinomák DNS histogramja egymástól, adott esetben, kismértékben különbözhet (2. táblázat).

2. táblázat

Az egyes diagnózis-csoportok homogenitása az A. értékek alapján

Diagnózis csoport	Kontroll eset	Ambiguity értékek			
		1	2	3	4
Egysz. prolif.	5180	0,9141	0,8494	0,9693	0,9696
Atyp. prolif.	5623	0,9700	0,9801	0,9857	0,9924
Jól. diff. ca.	5116	0,9953	0,9901	0,9887	0,9898
Közep. diff. ca.	4837	0,9581	0,8535	0,9628	0,6789
Alacsony diff. ca.	5714	0,8202	0,9648	0,9451	0,9718

Az A. értékeket a következőképpen számoljuk ki:

$$A = - \sum_{bj} \sum_{Ci} \Pr(bj) \Pr \left(\frac{Ci}{bj} \right) \log \Pr \left(\frac{Ci}{bj} \right)$$

ahol A — ambiguity érték a különbség számszerű kifejezésére;

C = az elkülönítendő profilok száma;

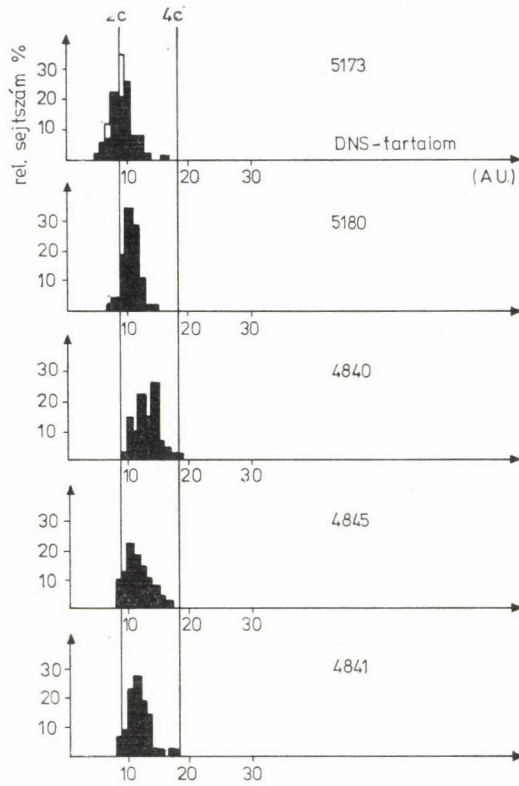
$\Pr(bj)$ = annak valószínűsége, hogy egy megfigyelés megtalálható-e egy bizonyos „j” intervallumban;

$\Pr \left(\frac{Ci}{bj} \right)$ = annak valószínűsége, hogy egy megfigyelés a „j” intervallumban a Ci kategóriából származó profilhoz tartozik.

AZ AMBIGUITY-ÉRTÉK JELENTÉSE:

- | | | |
|--------------------|---|----------------------|
| 1. A = 1: | TELJES AZONOSSÁG | KÉT KATEGÓRIA KÖZÖTT |
| 2. A = 0: | TELJES ELKÜLÖNÜLÉS | |
| 3. A = 0,95: | NAGYMÉRTÉKŰ AZONOSSÁG | |
| 4. A = 0,9–0,949: | A KÉT KATEGÓRIA GYAKORLATILAG AZONOS | |
| 5. A = 0,85–0,899: | KISFOKÚ KÜLÖNBSÉG (MEGKÜLÖNBÖZTETHETŐSÉG) | |
| 6. A = 0,8–0,849: | MEGFELELŐ KÜLÖNBSÉG | |
| 7. A = 0,7–0,79: | JELENTŐS KÜLÖNBSÉG | |
| 8. A = 0,6–0,69: | NAGY KÜLÖNBSÉG | |
| 9. A = 0,5–0,59: | IGEN NAGY KÜLÖNBSÉG | |
| 10. A = 0,499: | GYAKORLATILAG ELKÜLÖNÜLT | |

Az egyszerű proliferációs csoport DNS megoszlása egycsúcsú histogramot mutat (6. ábra), egy esetben kevés szórt értékkel 4c felé. A DNS-tartalom euploid, diploid. Polyploidizáció nincs, a kép kismértékű, lassú sejtprolif.



6. ábra

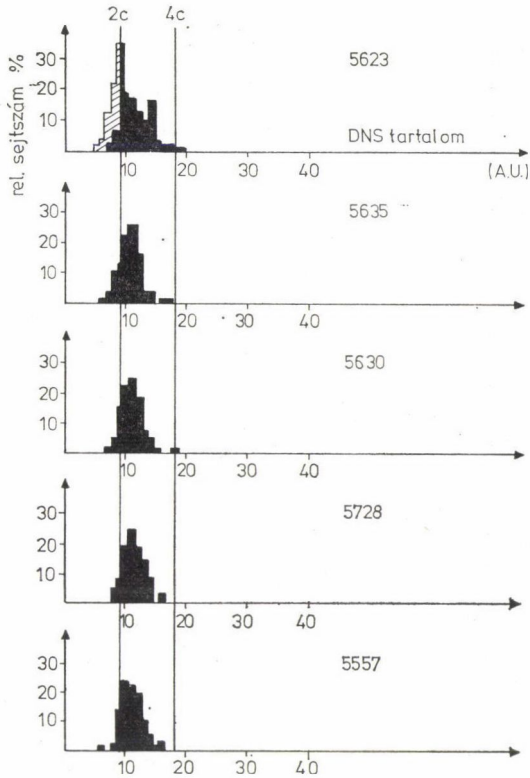
feratiora utal, kivéve a 4840. esetet, amelyet a histogram formája és az A. érték alapján inkább a kifejezett proliferatios csoportba lehetett volna sorolni.

A kifejezett (atypusos) proliferatios csoportban általában egycsúszú ferde histogramot látunk (7. ábra). Megfigyelhető, hogy az első, a legkifejezettebb csúcs a 2c DNS értéknél magasabb. Ezt a csoportot tehát hyperdiploid aneuploid DNS-tartalom jellemzi.

Lényegesen eltér a korábbi csoportoktól a rosszindulatú daganatok histogramja (8., 9., 10. ábra). A sejtek DNS-tartalma túlnyomóan 4c DNS érték felett van, a histogram szélesen elnyúlt, szétszórt. Nincs kifejezett első csúcs, a kép aneuploid, polyploid DNS megoszlásnak felel meg.

A jól, közepesen, alacsonyán differenciált rákoknál a histogram formája, jellege nagyjából hasonló, de a polyploidia fokában eltérés van. Legkifejezettebb a polyploidizáció az alacsonyán differenciált csoportban (summatios histogram) (11. ábra).

Mindezeket jelzi az A. érték is. Élesen elkülönül a jóindulatú folyamatoktól a daganatos csoport 0,0796; 0,0652; 0,0968 A. értékkel (3. táblázat).



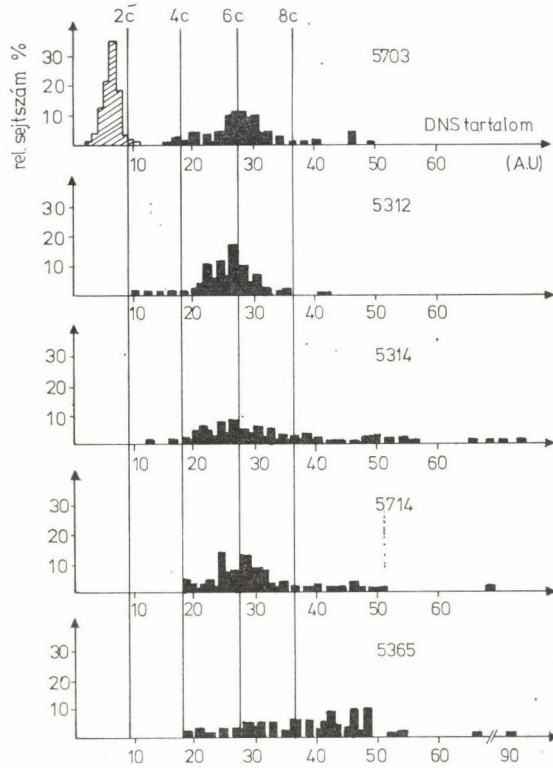
7. ábra

3. táblázat

A különböző diagnózis csoportokba tartozó esetek DNS-tartalmának összehasonlítása

Diagnózis csoport		A. U.
Egyszerű proliferatio		Kontroll csop.
Atypusos proliferatio		0,9970
Rák	Jól differenciált	0,0796
	Közepesen differenciált	0,0652
	Alacsonyan differenciált	0,0968

Az egyszerű proliferatios és kifejezett proliferatios csoport között az alkalmazott statisztikai módszerrel számszerűleg kifejezhető, értékelhető eltérés nincs (0,9970).

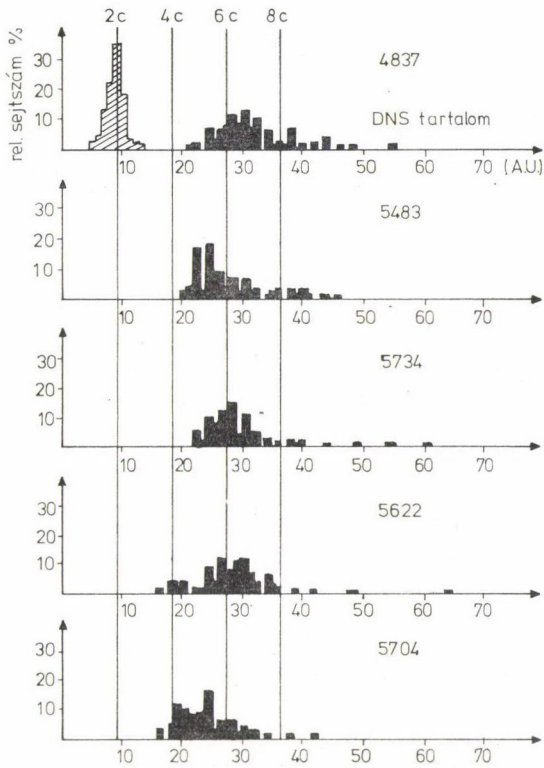


8. ábra

4. táblázat

A különböző emlőelváltozások biometriai jellemzői

Diagnózis csoport	Magterület átlag \pm szórás μ^2	DNS histogram	DNS ploidia
Egyszerű proliferatio	$33,32 \pm 19,58$	egycsúcsú	euploid
Kifejezett proliferatio	$50,92 \pm 24,89$	egycsúcsú, szórt értékkel a 4c felé (2, 2c)	enyhén aneuploid hyperdiploid
Jól differenciált carcinoma	$121,12 \pm 63,24$	sokcsúcsú, szórt értékek (4, 5c)	hypertetraploid aneuploid
Közepesen differenciált carcinoma	$124,68 \pm 75,03$	szórt értékek kifejezett csúcs nincs (5c)	hypertetraploid aneuploid polyploid
Alacsonyan differen- ciált carcinoma	$156,84 \pm 98,23$	erősen szórt értékek, kifejezett csúcs nincs (6c)	aneuploid erősen polyploid



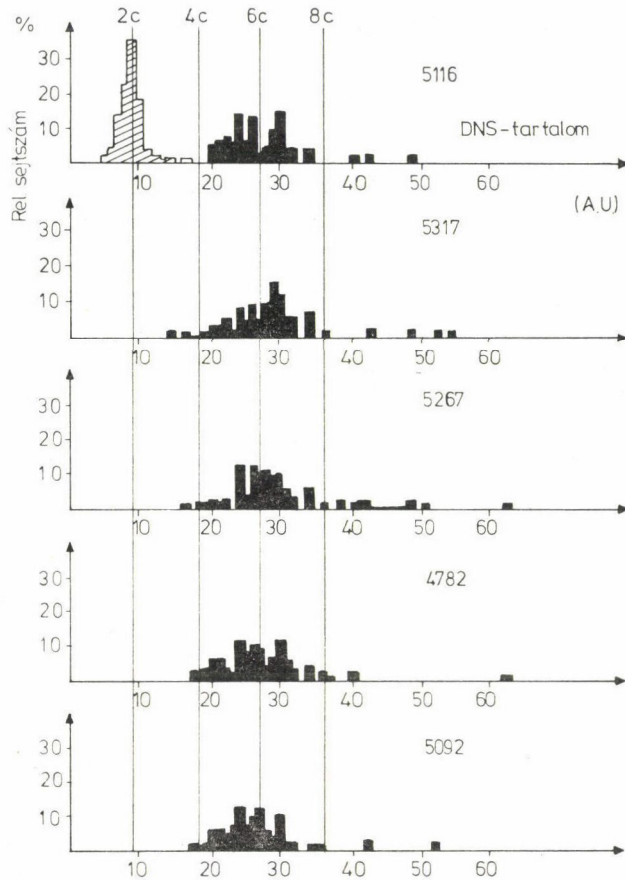
9 ábra

A 4. táblázat összefoglalva mutatja a vizsgált paramétereket, melyek jól jellemzik és egymást kiegészítve jól elkülönítik a cytomorfológiai kép alapján meghatározott diagnosztikus csoportokat.

Megbeszélés

Vizsgálataink során bebizonyosodott, hogy az emlőspirációs cytológiai módszer az esetek 85,6%-ában korrekt praeeoperatív, praeradiatív diagnózist adott.

Mind a sejtmag átmérőjének vagy területének meghatározása, mind a sejtenkénti DNS-tartalom vizsgálata segít; így gyakran alkalmazott módszer a benignus és malignus folyamatok, határesetek elkülönítése [Underwood (1972); Zajicek és mtsai (1973); Boquoi és mtsai (1975); Dziura és mtsai (1979); Sprenger és mtsai (1979); Auer és mtsai (1980); Bogaert és mtsai (1980); Dobrova és mtsai (1980); Olszewski és mtsai (1981)], és a rosszindulatú daganatos betegség lefolyásának predictiojára [Wallgren és mtsai (1976); Zajdela és mtsai (1975, 1979)].



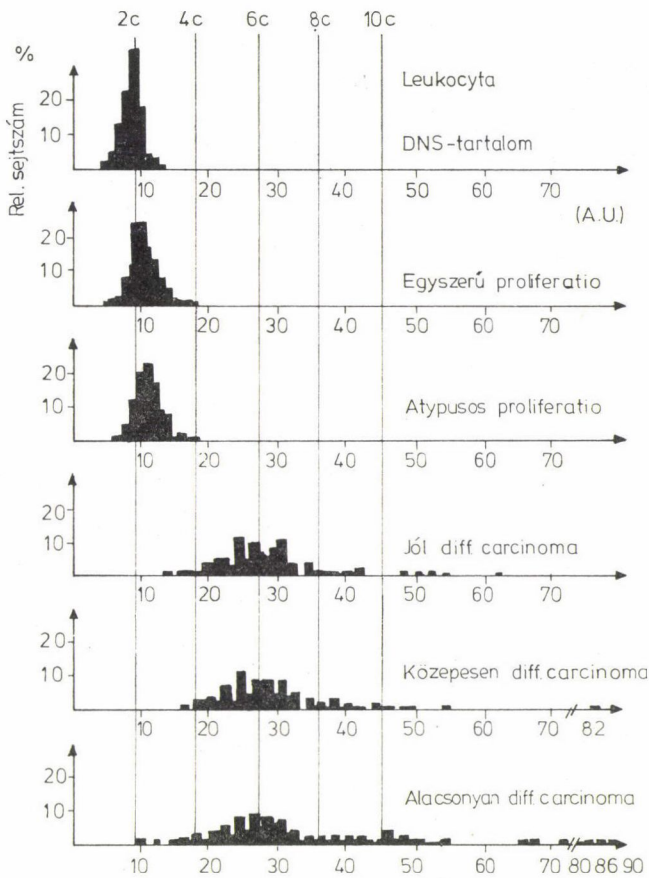
10. ábra

A DNS-tartalom alapján történő daganat-diagnózis (mely jelenleg feladatunk volt) a DNS ploidia meghatározásán alapul. Euploid, diploid az a DNS histogram, amelynek első legkifejezettebb csúcsa egybeesik valamely normál sejtpopuláció, pl. a leukocyták histogramjának csúcsával. Ezt a DNS histogramon a 2c érték jelenti.

Nyugvó, normál sejtek histogramja egyescsúszú, a csúcs a diploid chromosoma-számhoz tartozó 2c DNS értéknél van.

Proliferáló sejtek esetében a histogram alakja utal a proliferatio sebességére is. Lassú proliferációknál a histogram ferde, egyescsúszú, szórt értékkel a 4c mennyiség felé. Gyorsan osztódó sejteknél a histogram kétescsúszú, a második csúcs a 4c értéknél található.

A 4c érték feletti DNS-tartalmú sejtek általában dysplasiákban és tumorokban fordulnak elő (polyploid sejtfrakció), euploid polyploidizáció azonban megtalálható hormonális hyperaktivitás jeleként néhány hormon dependens



11. ábra

szervben, továbbá postnatalis májszövetben, vagy hypertrophiás szívizom-ban [Böhm és mtsai (1975)].

A polyploidizáció mellett dysplasiára és rákra utal az aneuploid DNS-tartalom is, tehát az a jelenség, hogy a DNS histogram első legkifejezettebb csúcsa nem a diploid chromosoma-számnak megfelelő 2c DNS-értéknél van, hanem gyakrabban a nagyobb, ritkábban a kisebb DNS mennyiségnél eltolva található.

Rosszindulatú daganatoknál a differenciáltság fokától függően az aneuploidia és a polyploidia foka más és más. A differenciálatlan daganatok sokkal inkább polyploid DNS-tartalommal rendelkeznek, mint a differenciált daganatok.

Anyagunkban az alábbi jellemző különbségeket találtuk:

1. Az egyszerű proliferatios csoportban diploid DNS-tartalom van, kevés proliferáló sejttel, és relatíve kicsi magterülettel.

2. A kifejezett (atypusos) proliferációs csoportban a proliferáló sejtek száma megnő, a DNS „stem line” kissé eltolódik a magasabb értékek felé, és megnövekedett magterület található. Dysplasiákban megfigyelt hasonló jelenségek alapján ezt a csoportot egészében rákmegelőző állapotnak tekintjük.

3. A carcinomaráknál szórt histogramot látunk, differenciálatlan rákoknál kifejezett csúcs nincs; jelentős fokú aneuploidia van polyploidizációval, azaz nagyszámú tetraploid érték feletti sejtmaggal. A polyploidizáció mértéke a differenciáltság fokának csökkenésével párhuzamosan emelkedik, és ugyancsak emelkedik a magterület átlagértéke és szórása is.

Az általunk választott paraméterek vizsgálata általánosan elfogadott a különböző folyamatok differenciálására. Az automatizált cytológiai rendszerekben is ezen adatok figyelembevételével történik a folyamat biológiai természetének megítélése.

Az egyszerű és kifejezett (atypusos) proliferációs csoport elkülönítésében a magterület vizsgálata általában nagyobb segítséget ad, de a DNS értékek meghatározása a minimális aneuploidia kimutatásával gyakran jellemzi az utóbbi csoportot.

Meg kell jegyezni, hogy az aneuploidia megjelenése — bár gyakori — nem minden esetre érvényes. Eseteink közül egy (5557) nem mutatta ezen sajátságokat, pedig a magterület és a cytomorphológiai kép alapján a kifejezett proliferációs csoportba soroltuk.

A különböző differenciáltságú rákok eseteiben mind a magterület meghatározás, mind a DNS cytophotometria értékes segítséget nyújt a folyamat differenciáltsági fokának megítélésében.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy az egyes diagnózis-csoportok jól elkülöníthetők a jellemző cytomorphológiai, morfometriai és DNS cytophotometriai sajátosságok alapján, ezáltal az osztályozásban rejlő szubjektív hibák csökkenthetők. Ez megkönnyíti a határesetek diagnózisát, valamint a tumork differenciáltsági fokának meghatározását és segítséget nyújthat a helyes terápiá, illetve betegkövetés módszerének megválasztásában.

Összefoglalás

Szerzők 2180 emlőelváltozással jelentkező betegnél végzett cytológiai vizsgálat eredményeiről számolnak be. A cytomorphológiai kép alapján a diagnosiseket egyszerű proliferatio, atypusos proliferatio, valamint carcinoma (jól, közepesen és alacsonyan differenciált forma) csoportokra bontották. 967 esetben a cytológiai vizsgálat után szövettani feldolgozás is történt. A cytológiai módszer diagnosztikus értéke (a cytológiai diagnózis és a szövettani diagnózis összevetése) összesítve 85,6%-nak felelt meg.

A diagnosis pontosítására, az egyes csoportok elkülönítésére minden diagnosis-csoportban 5—5 esetben magterület és mag DNS-tartalom meghatározást is elvégeztek. Az egyes csoportok jellemző biometriai ismérveit részletesen és összehasonlítva is tárgyalják. Megállapítják, hogy azon esetekben, ahol a cytomorphologiai kép alapján a folyamat hovatartozását illetően nem lehet egyértelműen állást foglalni, a pontos diagnosis érdekében a magterület-meghatározást és DNS cytophotometriás vizsgálatokat el kell végezni.

IRODALOM

- Auer, G. U., Caspersson, T. O. és Wallgren, A. S.: *Anal. Quant. Cytol.* **2**, 161 (1980).
 Bartels, P. H.: *Anal. Quant. Cytol.* **1**, 153 (1979).
 Berg, J. W.: The aspiration biopsy smear. (Ed.: Koss, L. G.) In: *Diagnostic cytology and its histopathologic bases*. pp. 311—321. Lippincott, Philadelphia, (1961).
 Berg, J. W. és Robbins, G. F.: *Cancer* **15**, 826(1962).
 Bodó, M., Döbrössy, L. és Sugár, J.: *Orv. Hetil.* **118**, 983 (1977).
 Bodó, M., Döbrössy, L. és Sugár, J.: *Acta Cytol.* **22**, 1 (1978).
 Bodó, M., Döbrössy, L., Daubner, K. és Rahóty, P.: *Magy. Onkol.* **22**, 59 (1978).
 Bogaert van, L. J. és Mazy, G.: *Acta Cytol.* **21**, 60 (1977).
 Bogaert van, L. J. és Muyllder de, C.: *Anal. Quant. Cytol.* **2**, 55 (1980).
 Boquoi, E., Krebs, S. és Kreuzer, G.: *Acta Cytol.* **19**, 326 (1975).
 Böhm, N. és Sandritter, W.: DNA in human tumours: a cytophotometric study. (Ed.: Grundmann, E.) In: *Current Topics in Pathology*, pp. 151—219 Springer (1975).
 Dobreva, P. és Draganov, I.: *Arch. Geschwulstforsch.* **50**, 332 (1980).
 Furnival, C. M., Hughes, H. E., Hocking, M. A. és Reid, M. M. W.: *The Lancet* 446 (1975).
 Geier, G. R., Körner, B. H. és Schumann, R.: *Exp. Cell. Biol.* **45**, 167 (1977).
 Robbins, G. F., Brothers, J. H., Eberhart, W. F.; és Quan, S.: *Cancer (Philad.)* **7**, 774 (1954).
 Schöndorf, H.: *Die Aspirationszytologie der Brustdrüse*. (Schattauer, Stuttgart, 1977).
 Sprenger, E., Ulrich, H. és Schöndorf, H.: *Anal. Quant. Cytol.* **1**, 29 (1979).
 Underwood, J. C. E.: *Brit. J. Cancer* **26**, 234 (1972).
 Wallgren, A. és Zajicek, J.: *Acta Cytol.* **20**, 479 (1976).
 Zajdela, A., Ghossein, N. A., Pilleron, J. P. és Ennuyer, A.: *Cancer* **35**, 499 (1975).
 Zajdela, A., Saravia, de la Riva, L., és Ghossein, N. A.: *Acta Cytol.* **23**, 75 (1979).
 Zajicek, J., Bartels, P. H., Bahr, G. F., Bibbo, M., Jakobsson, P. és Wied, G. L.: *Acta Cytol.* **17**, 179 (1973).
 Zajicek, J.: *Aspiration biopsy cytology. Part I. Cytology of supradiaphragmatic organs*. (Karger, 1974).