

## DIE ANWENDUNG DER ZYTOLOGISCHEN METHODE ZUR FESTSTELLUNG DER STRAHLENEMPFFINDLICH- KEIT DER CARCINOMA COLLI UTERI

Gy. RUZICKA und I. BERTA

(Eingegangen am 20. Juli, 1955)

Die Untersuchung der im karzinomatösen Gewebe (in den Tumorzellen und im Stroma) unter Strahleneinwirkung (Radium, Röntgen) vor sich gehenden Veränderungen, ist gleichaltrig mit der therapeutischen Anwendung der Röntgenstrahlen. Von den gynäkologischen Erkrankungen wurde in erster Reihe das Collumkarzinom untersucht, da dieses infolge seiner anatomischen Lage im Laufe der ganzen Strahlenbehandlung gut zugänglich ist. Es wurde oftmals der Versuch gemacht, die durch die Strahlenbehandlung verursachten Veränderungen im Laufe der Behandlung mit Hilfe von wiederholten Probeexzisionen nachzuweisen und diese Veränderungen zur Feststellung der Strahlenempfindlichkeit des Tumors, der Strahlenwirkung und dadurch auch der Prognose zu benützen (FRANKL und AMREICH 1921, DUSTIN 1927, MEIGS und PARKER 1930, FROLA 1933, WARREN 1939, FARROW und STEWART 1940, GLÜCKSMANN und SPEAR 1945.). Die Ausbildung der Strahlenwirkung, die unter Strahlenwirkung entstandene Veränderungen in den Tumorzellen und im Stroma wurden vor, während und nach der Bestrahlung mit serienweise durchgeführter Biopsie (histologisch) untersucht. Diese histologische Untersuchungsmethode der Strahlenwirkung wurde auch in neuerer Zeit von vielen Forschern, so von GLÜCKSMANN, LAX, CUSSMANO, FENDL, LIMBURG und anderen zur Anwendung gebracht.

Mit der Einführung der zytologischen Karzinomdiagnostik von PAPANICOLAOU entwickelte sich eine neue Untersuchungsmethode, die sich zum Studium der Strahlenwirkung auf dem Gebiete des Collumkarzinoms als besonders geeignet erwies. Die in den vaginalen Abstrichen während und nach der Strahlenbehandlung beobachteten Veränderungen versuchte man — neben anderen Gesichtspunkten — gleichfalls zur Bestimmung der Prognose zu verwerten. MEIGS und Mitarbeiter (1945) untersuchten die zytologisch nachweisbaren Veränderungen der Strahlenwirkung in während der Strahlentherapie hergestellten vaginalen Abstrichen, später machte R. M. GRAHAM (1947) die Beobachtung, dass bei Patienten, bei denen die zytologisch nachweisbare Besserung nur langsam einsetzte, die Strahlenwirkung auch ungünstiger war. Laut A. M. NIELSENS (1952) zytologischen Studien bei mit Radium und Röntgen behandeltem Collumkrebs besteht eine Möglichkeit für die individuelle Prognose während der Strahlen-



behandlung. LIMBURG, NAPP und WILDBRAND (1952) untersuchten während der Bestrahlung gleichzeitig das histologische Bild und die Vaginalzytologie und fanden die Methode prognostisch verwertbar. Sie betonen, dass die Strahlenresistenz des Karzinoms nicht nur von dem biologischen Verhalten des Karzinoms, sondern in grossem Masse auch von der Strahlendosierung abhängt. COLMEIRO, LAFORET (1953) heben hervor, dass die Feststellung der Strahlenempfindlichkeit grosser klinischer Bedeutung sei, da sich auf diese Weise die Möglichkeit für eine rechtzeitige chirurgische Behandlung bieten würde. Während der Bestrahlung werden die Vaginalabstriche täglich untersucht. In strahlenempfindlichen Fällen wurden, neben immer zahlreicheren intakten und kaum alterierten vaginalen Epithelzellen, nur degenerierte Tumorzellen gefunden. H. J. MOHR (1954) gibt eine sehr gründliche kritische Übersicht der diesbezüglichen Literatur und vertritt die Ansicht, dass auf Grund der zytologischen Veränderungen im Vaginalabstrich eine entsprechend verlässliche Beurteilung der der Prognose der Strahlenbehandlung nicht möglich wäre.

Ähnlich der Beobachtung von R. M. GRAHAM stellte A. M. NIELSEN fest, dass nach Röntgenbehandlung allein die Tumorzellen noch längere Zeit zu finden sind, während nach Anwendung von Radium dieselben schnell verschwinden. Nicht nur die Tumorzellen, sondern auch die normalen Epithelzellen der Umgebung zeigen eine bestimmte Veränderung. Im ersten Drittel der Bestrahlung entsteht die Vergrösserung, sowohl des Zytoplasmas als auch des Kerns der Normalzellen. Diese Erscheinung eine starke Vergrösserung der normalen Zellen infolge der Bestrahlung, wird von GRAHAM als »Blowing-up« bezeichnet und vom Standpunkt der Strahlenempfindlichkeit sowie der Prognose als verwertbar betrachtet. Der Vergrösserung der Zellen folgt der Farbenwechsel des Zytoplasmas, Färbung nach PAPANICOLAOU. Die azidophilen Zellen färben sich bräunlichgrün, während die basophilen Zellen rostig-grün werden. Vakuolenbildung und Erscheinen von perinukleären Höfen sind nur später zu beobachten. Im letzten Drittel der Bestrahlung entwickeln sich Kernveränderungen, atypische Teilungen, vielkernige Zellen und Zellen von bizarrer Form. In dem der Strahlenwirkung ausgesetzten Gebiet reagieren sowohl die Normalzellen als auch die atypischen Zellen mit ähnlichen Veränderungen: Vergrösserung, Vakuolenbildung, Kernzerfall treten in Erscheinung. Laut GRAHAM kann von einer sog. guten Strahlenempfindlichkeit dann gesprochen werden, wenn von 100 Normalzellen wenigstens 10 oder mehr Zellen typische Bestrahlungsveränderungen aufweisen. GRAHAM betont nicht das Verschwinden der Tumorzellen, sondern die prognostische Bedeutung der Strahlenreaktion des Normalepithels. Nach Beendigung der hier zu berichtenden eigenen Untersuchungen erschien die Arbeit von BERGER und BREITNER (1955), die sich der von LIMBURG empfohlenen Methode bedienen welche sie als zweckentsprechend beurteilten. Eine ungünstige Diagnose ist demnach zu stellen, wenn nach 50% der Strahlendosis in dem grösseren Teil der Tumorzellen keine Veränderung nachweisbar ist und wenn nach



einer 75—100%igen Dosis noch intakte Tumorzellen vorhanden sind. BERGER und BREITNER waren bei der serienweisen Untersuchung der Abstriche (ein Jahr hindurch zweimonatliche Kontrolle, auch nach der Bestrahlung) auf mehrere Umstände bedacht. Sie registrierten die Bestrahlungsveränderungen der normalen und der atypischen Zellen, das Verschwinden der Tumorzellen, das Erscheinen der normalen Basalzellen. Von einer günstigen Strahlenwirkung und so auch von einer günstigen Prognose kann dann gesprochen werden, wenn ungefähr um die Mitte der Strahlenbehandlung wenigstens 50% der Tumorzellen und ein Drittel der Normalzellen eine Strahlenreaktion zeigen und gleichzeitig eine Vermehrung der Basalzellen zu beobachten ist. *Am Ende* der Strahlenbehandlung ist das zytologische Bild dann als günstig zu bezeichnen, wenn intakte Tumorzellen nicht zu finden sind, sondern alle Bestrahlungsveränderungen aufweisen und noch eine Vermehrung der Basalzellen festgestellt werden kann. P. STÜPER (1954) empfiehlt zur Nachuntersuchung des bestrahlten Collumkarzinoms die Anwendung der Zytodiagnostik, da diese infolge ihrer Empfindlichkeit geeignet ist, selbst im Falle eines negativen klinischen, ja sogar eines negativen histologischen Befundes, auf die latente lokale Rezidive in der Vaginalwand (in dem Vaginalstumpf) oder auf dem Gebiete des strahlenbehandelten und scheinbar epithelisierten Ulcus im voraus hinzuweisen.

In unseren eigenen Untersuchungen wurde bei 30 Patienten, die sich im II Stadium des Collumkarzinoms befanden (nur histologisch verifizierte Fälle von epidermoiden Karzinom), die Kontakt-Röntgenbestrahlung (van der Plaats-Phillips-Apparat) der Portion durchgeführt. In der ersten Hälfte der Bestrahlungsserie wurden die unter Behandlung stehenden Patienten mit der zytologischen Methode in zwei Gruppen — günstig und nicht günstig reagierende — geteilt. Da der van der Plaats-Phillips-Apparat eine grosse Dosis von Oberflächenbestrahlung ermöglicht, schien er uns geeignet, um die in chronologischer Reihenfolge schnell vor sich gehenden Veränderungen in den Zellen der Tumoroberfläche schon von Anfang der Behandlung an beobachten zu können. Ähnlich der Radiumwirkung konnte auch hier in den oberflächlichen Schichten des Tumors mit einer schnell — innerhalb von 2—4 Tagen — vor sich gehenden intensiven Veränderung der Zellen gerechnet werden. Diese wollten wir nur als eine Anfangsreaktion registrieren, ohne dass die Absicht bestanden hätte, daraus vorläufig weitgehende praktische, klinische Folgerungen zu ziehen. Das Ziel der eigenen Untersuchungen war in erster Reihe das zytologische Studium der Strahlenwirkung.

Nach dem Standpunkt unserer Klinik wird — bei den jetzigen technischen Gegebenheiten der Strahlenbehandlung — im I. Stadium des Collumkarzinoms ein operativer Eingriff mit postoperativer Strahlenbehandlung angewendet. Davon wird nur ganz ausnahmsweise — im Falle von histologischer Strahlenresistenz und allgemeiner Kontraindikation — Abstand genommen. Für unsere zytologischen Untersuchungen schienen jene Patienten im II. Stadium des



Collumkarzinoms geeignet, bei denen die karzinomatöse Ulzeration noch mehr mit ausgedehntem Zerfall einherging. Vom klinischen Standpunkt aus können diese Patienten in das II. a. Stadium eingereiht werden; Parametrium oder Scheidengewölbe sind bereits infiltrierte, vermutlich infolge einer karzinomatösen Infiltration, aber im Bindegewebe rings um das Collum Uteri ist der tumorartige Prozess noch umgrenzt. Diese Patienten müssen demnach einem ausgedehnten Eingriff mit erhöhter Gefahr ausgesetzt werden. Bei der Strahlenbehandlung dieser Kranken wäre es deshalb von ganz besonderer Wichtigkeit, wenn prognostische Angaben bezüglich Strahlenwirkung zur Verfügung stehen würden. Natürlich ändert sich diese Anschauung, wenn auch wir, auf Grund der heute bereits bekannten günstigen Resultate, im allgemeinen dem Prinzip der Strahlenbehandlung des Collumkarzinoms beipflichten. Dazu ist jedoch die vollständige technische Ausrüstung der modernen Strahlenbehandlung nötig.

In den nach obigen Gesichtspunkten ausgewählten 30 Fällen wurde noch vor Bestrahlung der äusseren Felder mit der Kontakt-Röntgenbehandlung der Portion begonnen und nach jeder Bestrahlung wurden serienweise Abstrichpräparate hergestellt. Von dem Ulcus und dem mit verhältnismässig unversehrtem Epithel bedeckten Randteil, sowie von dem zentralen Tumorteil wurden gesonderte Abstriche hergestellt, die in gefärbten Präparaten, sowie in nativer Zellsuspension mit Phasenkontrastmikroskop untersucht wurden. Vor Beginn der Behandlung und später nach der Anwendung von 600—1200—2000—2800 r Kontakt-Röntgen wurden 4—8—12—24- und 48stündlich wiederholt Abstriche gefertigt. Unsere Fälle standen zwecks Feststellung des Effektes der Strahlenwirkung nur zwei Jahre lang unter Beobachtung.

In Fortsetzung der obigen Kontakt-Behandlung (van der Plaats-Apparat) erhielten die Patienten eine Kontaktdosis von 15—20 000 r und eine entsprechende tieftherapeutische Tumordosis. (Siemens Stabilivolt Röntgen-Apparat, 170 kV, 5 mA, 0.5 mm Cu Filter, im  $10 \times 10$  cm Bestrahlungsfeld, in 30 cm Luft gemessen, mit der üblichen Kreuzfeuertechnik, Percutanbestrahlung in 4 Unterleibsfeldern, jedes Feld erhielt 4000 r). Für unsere Untersuchungen experimentellen Charakters hielten wir diese verkürzte, zweijährige Beobachtungszeit deshalb für genügend, da den Beobachtungen nach, sich die Prognose der fünfjährigen Heilung bereits innerhalb der ersten zwei Jahre ausbildet.

Bei allen Kranken waren strahlenbedingte Veränderungen der ruhenden Tumorzellen mit der zytologischen Untersuchung bereits nach der ersten Kontaktbehandlung nachweisbar, obwohl Teilungsformen noch immer zu finden waren. 24 Stunden nach der zweiten Kontaktbehandlung konnten in 17 Fällen keine Teilungsformen mehr, sondern nur degenerierte, zerfallene Tumorzellen festgestellt werden. In den nach der dritten Bestrahlung hergestellten 24- und 48-stündigen Abstrichen konnte in 23 Fällen keine Tumorzelle mehr nachgewiesen werden. Unserer Ansicht nach ist das damit zu erklären, dass das Wachstum der Tumoroberfläche durch die günstige Strahlenwirkung in dem Masse beein-



flusst wird, dass die desquamierenden Tumorzellen zum Zeitpunkte der Untersuchung nicht mehr auf die Oberfläche gelangen. Nach der Strahlenwirkung werden die zerfallenden, nekrotisierenden Tumorzellen massenhaft von Leukozyten umgeben und phagozytiert. Da dies eine bekannte Erscheinung ist, wurden bei unseren eigenen Untersuchungen nur die sich gut färbenden und mit Bestimmtheit erkennbaren Zellen als Tumorzellen betrachtet. In sieben Fällen wurden selbst noch nach der dritten Kontaktbestrahlung Tumorzellen, ja sogar auch Teilungsformen festgestellt. Diese Erscheinung wurde von uns als Ausdruck der Strahlenresistenz des Tumors gewertet.

Während der zweijährigen Beobachtungszeit zeigte sich in den dreissig untersuchten Fällen, die sich im II. Stadium des Collumkarzinoms befanden, in 17 Fällen eine ausgesprochene Propagation (36,6%). Von diesen 17 Fällen wurden 6 am Anfang der Behandlung zytologisch negativ (54,5%), die anderen 5 Fälle blieben, trotz intensiver Kontaktbestrahlung, zytologisch positiv. In diesen fünf Fällen (45,5%) war also nicht einmal ein vorübergehendes Verschwinden der Tumorzellen zu beobachten.

Während der zweijährigen Beobachtungszeit zeigte sich bei diesen 30 Patienten in 19 Fällen eine Besserung bzw. Heilung (63,4%). In dieser Gruppe der Geheilten bzw. auf Strahlenwirkung vermutlich günstig Reagierenden, wurde der zytologische Befund von 17 Kranken bereits am Anfang der Behandlung, unter Einwirkung der Kontaktbestrahlungen negativ wie er auch im weiteren Verlauf der Behandlung (89,5%) verblieb. In dieser Gruppe wurde am Anfang nur in zwei Fällen ein positiver zytologischer Befund festgestellt. In diesen zwei Fällen verschwanden die Tumorzellen erst am Ende der Strahlenbehandlung (10,5%).

Unsere Erfahrungen bezüglich des prognostischen Wertes der zytologischen Untersuchung des Oberflächenabstrichs während Kontaktbestrahlung waren so ermutigend, dass es uns empfehlenswert scheint, diese an einem weiteren, grösseren Krankengut zu erproben.

Die sich am Anfang der Kontaktbehandlung zeigende Hemmung des Tumorwachstums, das Verschwinden der oberflächlichen Tumorzellen deuten auf eine günstige Prognose, auf die Tatsache, dass die mesenchymale Abwehr in gesteigertem Masse zur Geltung kommt. Die gesteigerte Phagozytose der strahlengeschädigten Zellen, die in erhöhtem Masse zur Geltung kommende fermentative Wirkung der Leukozyten — ein Umstand, der in dem massenhaften Erscheinen der mit Leukozyten überschwemmten Tumorzellen zum Ausdruck kommt — sind unseres Erachtens gleichfalls als Anzeichen der günstigen Strahlenwirkung zu werten. Ein Vorteil dieser Methode ist, dass sie die Hemmung des Tumorwachstums gerade am Anfang der Bestrahlung ziemlich deutlich erkennen lässt. Es konnte festgestellt werden, dass zwischen der innerhalb der zweijährigen Beobachtungszeit entstandenen Propagation und dem am Anfang der Strahlenbehandlung (nach 2—3000 r Kontakten) festgestellten zytologischen



Befund ein gewisser Zusammenhang zur Beurteilung der Prognose besteht. Dieser Zusammenhang kann auch eine praktische Verwendung ermöglichen.

In der *zweiten* Gruppe untersuchten wir die am Ende der Bestrahlung entstehenden Veränderungen der Zellen des in der Nachbarschaft des karzinomatösen Ulcus befindlichen verhältnismässig unversehrten Portion- und Vaginal-epithels. Während der vollständigen intravaginalen Kontaktbestrahlungen (15—20 000 r), doch hauptsächlich *am Ende* der Bestrahlung, als in dem karzinomatösen Gebiet bereits auch die Röntgenstrahlenwirkung der äusseren Felder zur Geltung kommt, entnahmen wir aus der Nachbarschaft, aus den scheinbar unversehrten Oberflächen der Portion einen Zellabstrich bzw. eine Zellsuspension. Wie in der Einleitung bereits hervorgehoben wurde, deutet die unter Strahlenwirkung eintretende Veränderung des Normalepithels gleichfalls auf Strahlenempfindlichkeit, von einem anderen Standpunkt aus ist die sich im Abstrich massenhaft zeigende Basalzellenreaktion ein Anzeichen der günstigen Regeneration des unversehrten Epithels.

Sehr bedeutend ist die Strahlentoleranz der Vaginalwand. KEPP schätzt sie auf 30 000 r. Die Versuche von TISCHER zeitigten dasselbe Resultat. Jedes Gewebe verfügt über eine charakteristische Strahlentoleranz. Eine diese überschreitende Strahlenbelastung kann das Gewebe ohne ernste und dauernde Schädigung nicht ertragen. Wird diese Toleranzgrenze von uns nicht berücksichtigt, so erhöht sich die Schädigung des unversehrten Gebietes, es besteht sogar die Gefahr einer Nekrose, im gegebenen Fall auch die einer Fistelbildung. Im Zusammenhang mit der intravaginalen Bestrahlung wurde oft die Frage untersucht, wie es möglich wäre, diese Toleranzgrenze entsprechend und rechtzeitig zu bestimmen. Die zytologischen Untersuchungen von TISCHER und SCHÜLLER boten uns neue Gesichtspunkte bei der weiteren Untersuchung dieses Problems.

Auch unsere eigenen Beobachtungen beweisen, dass bei der Kontaktbestrahlung, selbst bei sorgfältigster Dosierung, auf der benachbarten Oberfläche von Portion und Vagina bzw. im Grundgewebe, eine die gewünschte an Stärke übertreffende Reaktion entstehen kann, die sich bereits an der Grenze der Nekrobiose des Normalgewebes befindet. Durch diese Gewebsschädigung kann die schnelle Epithelisierung des Kraters verhindert werden. (Unsere Beobachtungen beziehen sich nur auf Kontaktbestrahlung, bezüglich des Radiums stehen uns keine Erfahrungen zur Verfügung).

Die unter der Strahlenwirkung entstehenden Veränderungen entwickeln sich niemals sofort. In dem histologischen Bild treten diese viel später in Erscheinung und deshalb ist die auf histologischer Grundlage erfolgte Feststellung der Gewebsschädigung mehr oder weniger utopistisch, wobei auch der mit Probeexcision des geschädigten Gewebes verbundene weitere Läsion berücksichtigt werden muss. Deshalb fällt der zytologischen Methode bei der Feststellung der Strahlentoleranz des unversehrten Epithels eine bedeutend wichtigere Aufgabe



zu. TISCHER und SCHÜLLER empfahlen zum Nachweis der Strahlenschädigung des unversehrten Epithels die systematische zytologische Kontrolle und die Herstellung von serienweise verfertigten Abstrichen. Nach ihrer Auffassung kann mit einer nach den einzelnen Bestrahlungen durchgeführten zytologischen Untersuchung die intravaginale Bestrahlung individuell dosiert werden.

Die Frage der Strahlenschädigung der unversehrten Gewebe tritt bei dem radikal operierten Collumkarzinom nicht nur in den Vordergrund, sondern ist hier — besonders nach einer vaginalen Uterusexstirpation — von äusserster Wichtigkeit, da Blase und Rectum unmittelbar an den kurzen Vaginalstumpf anliegen. In solchen Fällen erhöht sich, wenn auf dem Gebiete des Stumpfes auch eine Kontaktbestrahlung erfolgt oder Radium verwendet wird, die Gefahr der Fistelbildung in bedeutendem Masse. Es ist also begründet, sich mit der Zytologie des Vaginalepithels zu beschäftigen, besonders wenn auf dem Gebiete des Stumpfes postoperativ eine Kontaktbestrahlung verabreicht wurde. Im Sinne der Untersuchungen von TISCHER und SCHÜLLER ist die Toleranz des Vaginalepithels den Röntgenstrahlen gegenüber dann erreicht, wenn in der basalen Zellschicht noch keine irreversiblen Schädigungen entstanden sind. Zeigen sich jedoch in 10% der Basalzellen Zeichen von Strahlenschädigung, darf die Bestrahlung nicht fortgesetzt werden. GRAHAM beschrieb die Veränderung der Zellen der Vaginalwand nach Radiumbehandlung, die — wie auch zu erwarten — im wesentlichen mit der nach intravaginaler Röntgenbestrahlung beobachteten übereinstimmt. Die laut Papanicolaou gefärbten Zellen der Oberfläche verlieren ihre hauptsächlich basophile Färbung und nehmen — als Zeichen der in Zytoplasma vor sich gehenden histochemischen Umwandlung — eine grünlichbraune Tönung an. Die Zellen sind grösser als die normalen Epithelzellen, infolge der Grössenzunahme ändert sich die Relation zwischen Kern und Plasma. Vor irreversiblen Zellschädigungen kann mit Sicherheit gesprochen werden, wenn im Plasma riesige Vakuolen und hyperchrome Kerne sich entwickeln; diese Veränderungen zeigen sich also infolge der Strahlenschädigung der Basalzellen des gesunden Epithels. Die einfachen doppelkernigen Zellen können sich noch zurückentwickeln, doch das Erscheinen kleiner Nebenkern in der Zelle deutet bereits auf eine irreversible Schädigung. Darauf weisen die partielle Zytolyse und das Erscheinen bizarrer Zellformen. Im übrigen entspricht das zytologische Bild des Vaginalepithels nach Radikaloperation bzw. nach Strahlenbehandlung (im Falle des rezidivfreien, als geheilt zu betrachtenden Collumkarzinoms), bereits dauernd dem Kastrationstyp. Auch ZINSER hebt hervor, dass infolge der unter Einwirkung der Bestrahlung ausfallenden Ovarialfunktion und der gesteigerten Ablösung des Vaginalepithels, die Zellen der tiefen Schichten massenhaft an die Oberfläche gelangen und hauptsächlich basale, parabasale und intermediäre, abgerundete Zellformen erscheinen.

*Untersuchungsmethodik:* Den in zwei Richtungen vor sich gehenden Untersuchungen entsprechend, wurde das zytologische Material dem Ulcus des



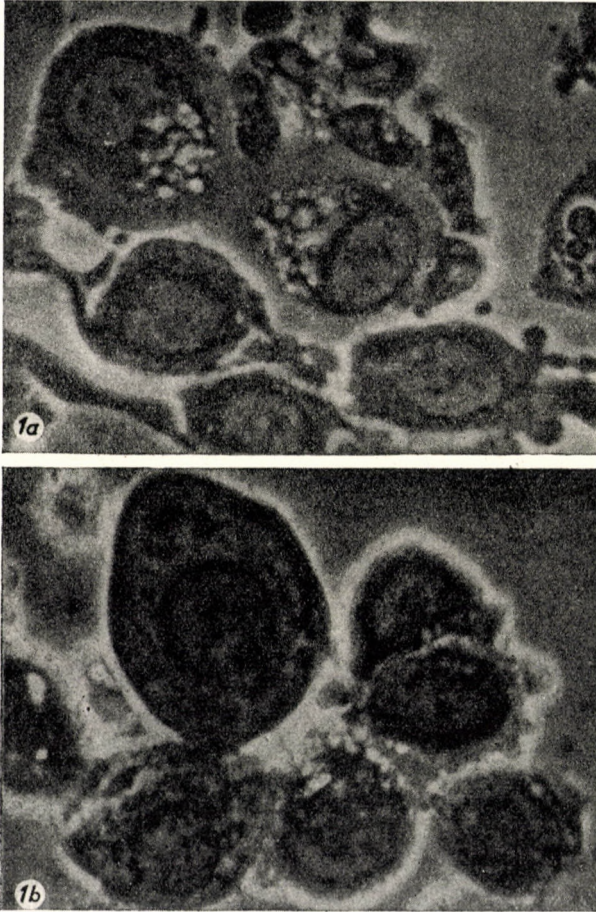
Collumkrebs bzw. den benachbarten — wie vermutet — noch unversehrten, relative normalen Epithelgebieten entnommen, die der Strahlenwirkung noch ausgesetzt waren. Die Technik der Zellgewinnung ist in dieser Methode deshalb wichtig, da andere Methoden, wo nur die in der hinteren Fornix angesammelten desquamierten Zellen untersucht werden, für diesen Zweck nicht verwendet werden können. In den zwecks Zellentnahme in Frage kommenden verschiedenen Portionbereichen wurden die Zellverbände der Oberfläche mit einer elastischen, aber stumpfen Spatel abgeschabt. In Analogie zu der gezielten Probeexzision, wurde die gezielte, auf die verschiedenen Portionteile lokalisierte Zellentnahme verwendet, um auf diese Weise die zu untersuchenden Zellen von beiden untersuchten Gebieten gesondert zu erhalten. Mit diesem Verfahren können nur wenige Zellen enthaltende, kleine (1–2 cm<sup>2</sup>) Abstriche hergestellt werden, doch auch in diesen sind zur Untersuchung geeignete Zellen reichlich zu finden. Die Abstriche wurden auf mehreren Objektträgern hergestellt und mit Harris-Hämatoxylin-Eosin, Feulgenscher Nucleinsäure-Färbung und in einigen Fällen auch laut Papanicolaou behandelt. Die meisten unserer Beobachtungen wurden jedoch mit Hilfe einer Leica-Aufsatzkamera durchgeführt und auf diese Weise die durch das Phasenkontrast-Mikroskop beobachtete Zellstruktur sofort, noch während der Beobachtung, mikrographisch festgehalten.

Vor der Besprechung unserer Resultate wollen wir noch einige literarische Angaben über die durch Strahlungsenergie verursachte Schädigung der Zytstruktur erwähnen. Bei Bestrahlung des Uteruskarzinoms beobachtete HECHT schon nach 24 Stunden eine Veränderung in den Zellen; die Kerne schwoilen sehr stark an, ihre Chromatinmasse verdickte sich unregelmässig und ballte sich zusammen. NIELSEN und GRAHAM beobachteten dies am 8–9. Tag nach der Bestrahlung. Hingegen fanden ZEITZ und FENDEL bereits 4 Stunden nach der Bestrahlung schwer deformierte Zellen im Vaginalabstrich. Vermutlich wird das zytologische Bild und gerade das Erscheinen der ersten Veränderungen, durch Menge und Qualität der Strahlendosis wesentlich beeinflusst. ZEITZ und FENDEL beobachteten das erste Zeichen der Schädigung bei radiumbestrahlten Mäuse-Aszites-Tumorzellen bereits zwei Stunden nach der Bestrahlung. Die Mäuse-Aszites-Tumorzellen zeigten eine schwache Neigung zum Zerfliessen, Plasma-Protuberantien treten auf und nach vier Stunden löste sie Kernmembran an mehreren Stellen auf, die Mitochondrium-Granulen gruppierten sich rings um die in Auflösung begriffene Kernmembran, der Nucleolus vergrösserte sich und auch im Kern waren Vakuolen zu beobachten. Zehn Stunden nach der Bestrahlung zeigte sich eine Verschiebung in der Kern-Plasma-Relation, ein grosser Nucleolus und helles Nucleoplasma waren zu sehen. Zu diesem Zeitpunkt hat sich der Aszites bereits zurückentwickelt, die Tumor-Propagation war also beendet.



*Besprechung unserer eigenen zytomorphologischen Resultate*

Bereits nach der ersten Bestrahlung (600 r Kontakt-Röntgen) waren mit dem Phasenkontrastmikroskop stark Vakuolisierte Tumorzellen in grosser Anzahl zu finden (Abb. 1). Nach 8–12 Stunden sind diese Veränderungen in den

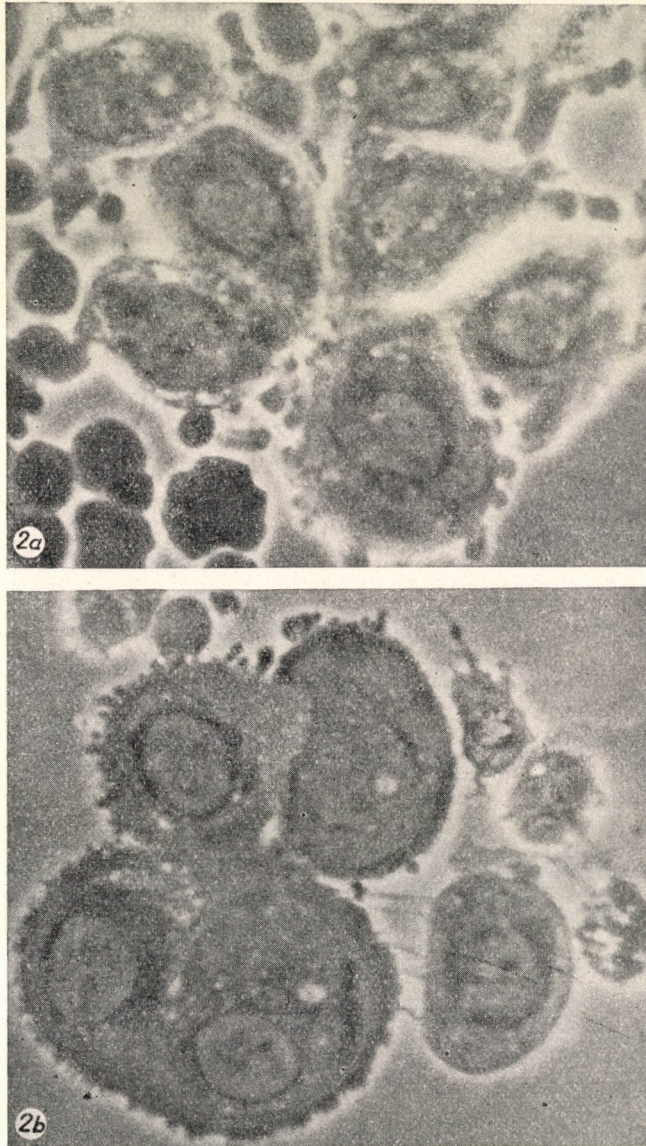


*Abb. 1.* Collumkarzinom. Nach 600 r Kontakt-Röntgen. Phasenkontrast-Aufnahme mit Immersion. Tumorzellen nach Beendigung der Teilung. Im Zytoplasma sich rings um die Kernmembran konzentrierende grosse Vakuolen-Gruppen

gefärbten Abstrichen noch nicht zu beobachten, doch in den nativen, überlebenden karzinomatösen Zellen ist die Vakuolisierung des Zytoplasmas bereits so stark, dass die Kernmembran ungleichmässig, der Kern deformiert wird und das Zytoplasma amöboide Peripherie zeigt (Abb. 2). Nach der zweiten Bestrahlung (1200 r Kontakt-Röntgen) können im überwiegenden Teil der Tumorzellen



bereits schwere zytomorphologische Veränderungen festgestellt werden. Die scharfe Grenze der Kernmembran wird verschwommen, das Zytoplasma zeigt



*Abb. 2.* Collumkarzinom. 12 Stunden nach 600 r Kontakt-Röntgen. Phasenkontrast-Aufnahme mit Immersion. Die Vakuolisierung im Zytoplasma der Tumorzellen ist gesteigert. Anzeichen von Kernmembranauflösung und amöboide Unregelmässigkeit des marginalen Zytoplasmas

eine starke Granulierung und diese körnigen Plasmabestandteile sammeln sich rings um die Kernmembran. Zur selben Zeit wird die Randzone des Zytoplasmas



heller, lockert sich auf und amöboide Plasmafortsätze sowie losgelöste Plasmateile verlassen die Zelloberfläche (Abb. 3). Diese Erscheinung erklären wir damit, dass unter Einwirkung der Strahlungsenergie in der Zelle eine schwere Störung im Stoffwechsel entsteht und die mit der Störung kämpfende Zelle bestrebt ist, sich von ihren Randzonen zu befreien, um auf diese Weise ihre aktive Masse zu verringern. Diese Erscheinung ist bereits nach der dritten Bestrahlung deutlich zu erkennen: sowohl in den Abstrichen, als auch im Phasenkontrastbild



Abb. 3. 24 Stunden nach 1200 r Kontakt-Röntgen. Das Zytoplasma ist stark granuliert, der zentrale Teil ist um den Kern konzentriert, die Randzone bildet Plasmafortsätze und schnürt sich von der Zelloberfläche ab

sind grosse Mengen von schwer geschädigten Tumorzellen zu beobachten. In den vermutlich schlecht reagierenden Fällen sind jedoch auch Tumorzellen mit noch unversehrter Struktur anzutreffen. Die Kernmembran der strahlengeschädigten Zellen löst sich fast vollständig auf. In einzelnen Fällen ist nur ein blasser Kernschatten zu sehen, der von dem grobkörnigen Zytoplasma nicht scharf abgegrenzt ist. Infolge der Teilungshemmung in der Tumorzelle, die nach unseren Beobachtungen bei obiger Dosierung des Kontakt-Röntgens bereits sehr schnell in Erscheinung tritt, entwickelt sich ein Zellgigantismus. Das monströse überentwickelte Zellplasma ist bestrebt, sich durch Fragmentation von der teilungsunfähigen — sehr stark vermehrten — Zellmasse zu befreien



(Abb. 4). Bei unseren neuartigen Beobachtungen (Phasenkontrastbild von nativen Tumorzellen) ergab es sich, dass die Tumorzelle, neben dem unter Einwirkung der Strahlungsenergie entstehenden Zellgigantismus, nicht ihre vollständige Reproduktionsfähigkeit verliert. Es konnte wiederholt beobachtet, ja sogar während der Bewegung in den suspendierten Zellen festgestellt werden, dass sich infolge der Fragmentation der amöboiden Plasmafortsätze in den losgelösten Plasmaklumpen ein Zellkern entwickelte und sich auf diese Weise



Abb. 4. 12 Stunden nach 2000 r Kontakt-Röntgen. Gesteigerte Vakuolenbildung der strahlengeschädigten Tumorzelle. Die Auflösung der Kernmembran ist beendet

kleinere, aber der Struktur nach noch lebensfähige Tumorzellen von der nekrobiotischen Grundzelle mit aufgelöster Kernsubstanz ablösen (Abb. 5 und 6).

Auf die Ausbildung der aus der Abschnürung von Plasmateilen entstehenden neuen Zelle und auf das Erscheinen des sich innerhalb derselben — ohne Teilung — entwickelnden Kerns bzw. auf die Möglichkeit einer derartigen Zellvermehrung wurde nach Röntgenbestrahlung auch bei den Zellen des menschlichen Ovariumkarzinoms bereits hingewiesen (RUZICKA und RODÉ 1945). Die endoamitotische Teilung der Tumorzelle beginnt mit dem Erscheinen der sich an der Peripherie der Plasmasubstanz entwickelnden Kernsubstanz und die neue Zelle löst sich, ohne dass sich der Kern der Tumorzelle teilen würde, von der Oberfläche der alten Zelle ab. Mit dieser Form der Teilung erklärten wir die



rapide Vermehrung der Aszites-Tumorzellen. Nach allgemeiner Beurteilung wird diese Erscheinung als degenerativer Zerfall der Zelle betrachtet und die Möglichkeit einer derartigen Entstehung der Zelle zurückgewiesen. Unsere Untersuchungen stimmen jedoch im grossen und ganzen mit den Beobachtungen

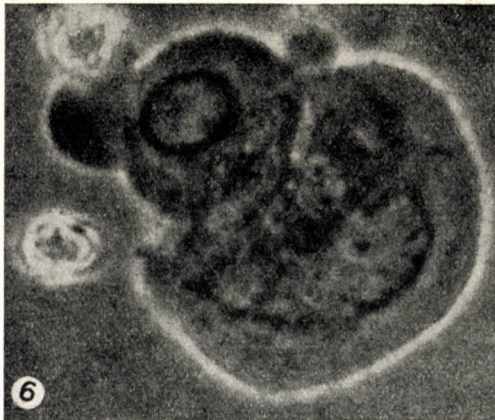
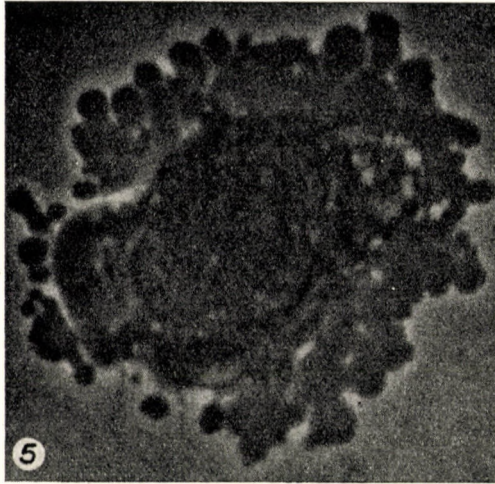


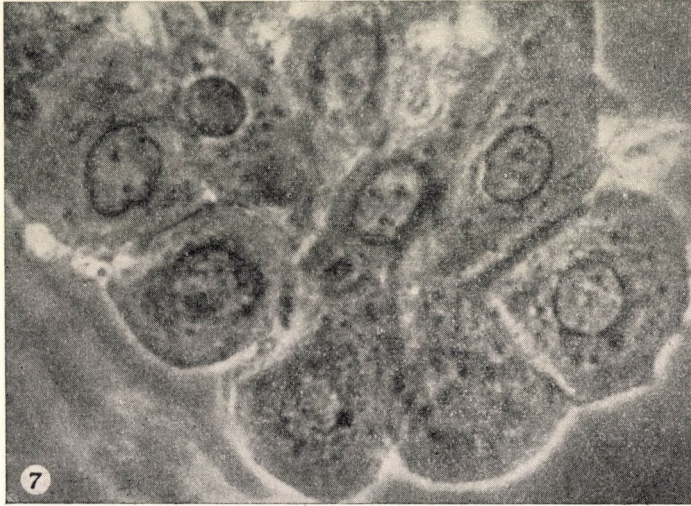
Abb. 5. 48 Stunden nach 2800 r Kontakt-Röntgen. In Zerfall begriffene Tumorzelle. Der grössere Teil der Zelle ist zerstört, doch auf einem der Pole hat sich eine kleine Tumorzelle mit scharfem Kern abgeschnürt

Abb. 6. 48 Stunden nach 2800 r Kontakt-Röntgen. Zellgigantismus, die Kernsubstanz der Grundzelle ist aufgelöst; die sich von der Randzone abschnürende neue Zelle hat eine scharf umgrenzte Kernsubstanz

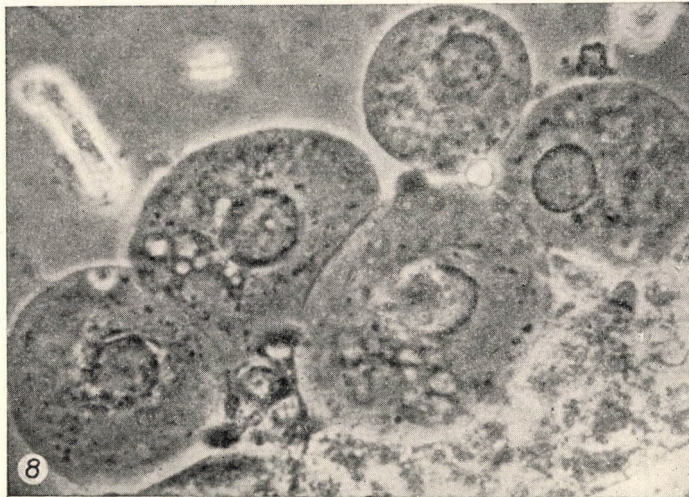
von REWUTZKAJA überein, die aus den frei sedimentierten und in vitro gezüchteten Elementen von menschlicher karzinomatösen Aszitesflüssigkeit Kulturen herstellte und die Entstehung neuer Zellen aus den von den Tumorzellen der Aszitesflüssigkeit sich loslösenden, keine Zellstruktur aufweisenden lebenden



Plasmateilen als erwiesen betrachtet. I. FODOR (1955) bestätigt unsere Beobachtungen in bezug auf die Teilung der suspendierten Tumorzellen. Auch er beobachtete die Erscheinung, wonach sich in dem von der Zelloberfläche loslösenden

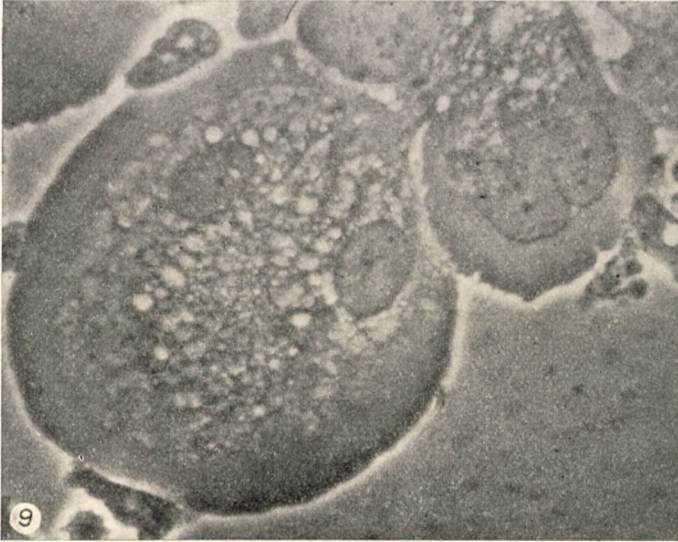


*Abb. 7.* Nach 8000 r Kontakt-Röntgen. Flächenepithelzellen vom Oberflächen- und parabasalen Typ aus der Nachbarschaft des karzinomatösen Gebietes. Schädigung der Kernmembran und grobkörnige Umwandlung des Zytoplasmas können bereits beobachtet werden

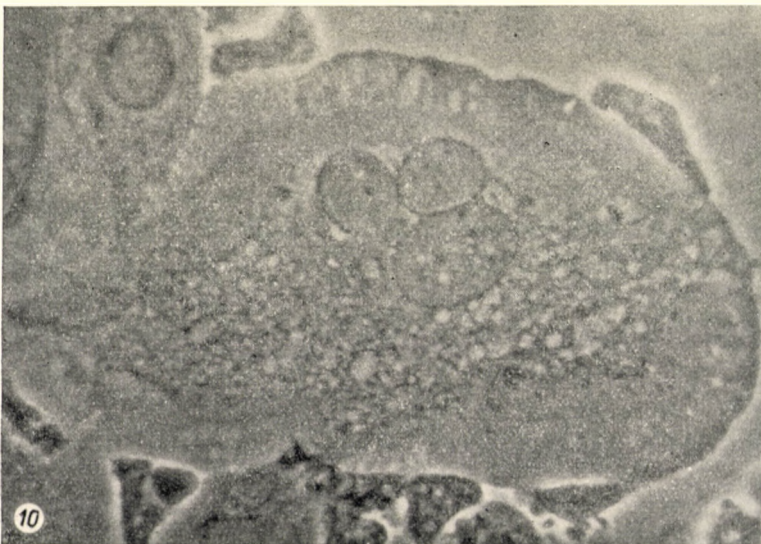


*Abb. 8.* Nach 10 000 r Kontakt-Röntgen. Aus der mit dem bestrahlten Gebiet benachbarten, scheinbar unversehrten Epitheloberfläche stammende basale Epithelzellen. Erhöhte Vakuolenbildung, Schädigung des Kerns, Entwicklung des perinukleären Hofes deuten auf die Strahlenwirkung





*Abb. 9.* Nach 15 000 r Kontakt-Röntgen. Von der der Strahlenwirkung ausgesetzt, scheinbar unversehrten Portion-Epitheloberfläche stammende parabasale Zellen. Auch auf dem verhältnismässig unversehrten Flachenepithel kommt die Teilungshemmung zur Geltung. Viele zweiker-nigen Zellen



*Abb. 10.* Nach 20 000 r Kontakt-Röntgen. Aus dem Gebiete des unversehrten Flachenepithels stammende parabasale Zelle. Die mehrkernige, gigantische Zellform weist auf eine Teilungshem-mung in der strahlengeschädigten Zelle



Zytoplasma eine selbständige Kernsubstanz entwickelt und sich die neue Zelle auf diese Weise abschnürt.

Die Bedeutung der endomitotischen Teilungsformen — Zweiteilung der im Umbau begriffenen Kernsubstanz ohne Teilung des Zellkörpers (GEITLER, 1941, JAKOBY 1941) — zeigt sich besonders beim Tumorwachstum (HOMANN, 1954). Die andere Form der Tumorzellteilung ist die Amitose, wenn sich die Kernsubstanz — ohne Umgruppierung des Chromosoms — durch Abschnürung direkt teilt (BERGMANN, 1948). Die Amitosen sind selten mit einer synchronen Zytoplasmateilung verbunden. In den grossen Kernen können gleichzeitig, oder fast gleichzeitig, mehrere amitotische Abschnürungen entstehen, so dass sich äussert bizarre Zellformen entwickeln. Der Nucleolus gibt, vor der Teilung die entstandene Kernsubstanz durch Sekretion, an das Zytoplasma weiter (ALTMANN, 1952). Im Zusammenhang mit dem Tumorwachstum entwickelte sich in bezug auf das Vorkommen und die Bedeutung der Amitosen noch kein einheitlich gültiger Standpunkt, obwohl das Wachstum bei Karzinom sehr häufig ist, was auch durch HOMANN bei experimentellem Mäuse-Krebs bestätigt wurde. Unseren eigenen Beobachtungen nach ist das Erscheinen der sich entwickelnden Kernsubstanz und damit auch der neuen Zelle in den abgeschnürten Zytoplasmateilen der unter der Strahlenwirkung in der Teilung gehemmten Tumorzelle, eine solche völlig neue Form der Zellvermehrung, die begriffsmässig mit der Amitose nicht identisch ist.

In der zweiten Gruppe unserer Untersuchungen, in der wir die Strahlenschädigung des vermutlich unversehrten Vaginal- bzw. Portioneepithels in dem Randteil der Bestrahlungszone beobachteten, wurde festgestellt, dass auch schon kleinere Strahlendosen in den abgerundeten Basalzellen eine nachweisbare Veränderung verursachen. Die Basal- und Parabasalzellen sind vergrössert, ihr Zytoplasma zeigt eine gröbere Granulierung, im Zellplasma erscheinen die Vakuolen in zusammenhängenden Gruppen (Abb. 7 und 8). Nach Verabreichung der vollständigen Strahlendosis konnten die gigantischen und degenerativen Zellformen der mit der Randzone des Tumors benachbarten Zellen des Flächeneithels im allgemeinen nur am Ende der Kontakt- und äusseren Bestrahlung, nach der Entwicklung der maximalen Strahlenwirkung, beobachtet werden. Zu diesem Zeitpunkt verschwanden in den als strahlenempfindlich zu bezeichnenden Fällen die Tumorzellen aus dem Abstrich, doch die Teilungshemmung kam auch in den an der Grenze der Strahlenschädigung befindlichen unversehrten Epithelzellen zur Geltung, so dass zwei-, ja sogar dreikernige Formen entstanden. Diese Veränderung deutet vermutlich bereits auf die Grenze der irreversiblen Strahlenschädigung (Abb. 9 und 10). Im eigenen Krankengut wurde — unter Anwendung der erwähnten Strahlungstechnik — eine dauernde Schädigung der unversehrten Gewebe nicht beobachtet. Dadurch wird auch die Ansicht von H. CRAMER bestätigt, wonach das Vaginalepithel im allgemeinen relativ strahlenunempfindlich ist.



Nach der Röntgenbehandlung wurden in den gefärbten Abstrichen einige solche Beobachtungen gemacht, deren gemeinsame Untersuchung uns bei der Feststellung der Strahlenempfindlichkeit bzw. der Prognose behilflich sein kann. Die Auswertung dieser Beobachtung wird den Gegenstand einer weiteren Arbeit bilden. Eine solche zur Registrierung geeignete Veränderung ist der Nachweis der in den Zellabstrichen der Portion und Vagina vorhandenen lokalen Eosinophilie. Die Vermehrung der eosinophilen Leukozyten wurde als Zeichen einer guten Gewebeabwehr gewertet. Durch Zählung der Eosinophilen in gefärbten Zellabstrichen erhielten wir ein Vergleichsbild bezüglich der Eosinophilie der unter Bestrahlung stehenden Tumoroberfläche. GILL (1944) sieht in dem Ansteigen der Eosinophilie im Gewebe ein günstiges prognostisches Zeichen. Bei Collumkarzinom ist die starke eosinophile Leukozyteninfiltration des Stromas eine längst bekannte und beschriebene Erscheinung. Häufig sind die Eosinophilen in solchen Massen zu beobachten, dass von einer Eosinophilphlegmone gesprochen werden kann. In neuerer Zeit unterzog A. DÖDERLEIN (1955) diese Frage einer Nachuntersuchung, doch fand er zwischen dem Erscheinen und dem Grad der Gewebe-Eosinophilie und dem Verhalten des Uterus-Collum-Karzinoms keinen Zusammenhang. Nach unseren Beobachtungen steigert sich im Gewebe des rasch zerfallenden Karzinoms die Eosinophilie sowohl infolge von Infektion, die auch unter Einwirkung der Bestrahlung. Die Eosinophilie auf der unter Bestrahlung stehenden Oberfläche des Karzinoms kann mit der zytologischen Methode gut nachgewiesen und zur Beurteilung des Regressionsgrades des Tumors verwendet werden.

In den Abstrichen kann während der Bestrahlung die Phagozytose der Tumorzellen ständig und in steigendem Masse beobachtet werden. Beim Menschen wurde nach der Bestrahlung eine starke Leukozyteninvasion festgestellt (ENGELMANN, GRAHAM). Aus den Leukozytenanhäufungen um den zerfallenden Tumorzellen ergibt sich ein Zusammenhang zur Registrierung der leukozytären Abwehr und der reparativen zellulären Reaktionen. Die Zunahme der phagozytierten Tumorzellen kann gleichfalls als günstiges Zeichen gewertet werden. Wir heben noch hervor, dass die Phagozytose der Tumorzellen auch in dem Zytogramm des nicht strahlenbehandelten Karzinoms — wenn auch nicht in dem Masse — zu finden ist. Die über starke Vitalität verfügende Tumorzelle leistet der Leukozyteninvasion guten Widerstand. Nur hier und da sind von Leukozyten überschwemmte Tumorzellen anzutreffen, deren Anzahl mit fortschreitender Strahlenbehandlung zunimmt.

#### Zusammenfassung

In der ersten Gruppe unserer Untersuchung wurde mit dem Phasenkontrastmikroskop die zytologische Veränderung der unter Strahlenwirkung stehenden Tumorzelle untersucht. Die erste Veränderung der Tumorzelle ist im Zytoplasma zu beobachten. Das Ungleichmässigkeit des rings um die Kernmembran konzentrierten körnig strukturierten Zytoplasmas und der Kernmembran deutet auf eine Hemmung des Stoffwechsels zwischen Kern und Plasma.



Unter Strahlenwirkung entsteht rasch eine Vergrößerung der Körnchen der zentralen Plasmastruktur, eine Kondensation der Plasmagranulen und Mitochondrien, später eine Vakuolisierung des Zytoplasmas. Gleichzeitig beginnt auch die Absonderung der homogenen strukturarmen Teile im peripheren Zytoplasma. Erst jetzt erfolgt das monstruöse Wachstum der unter Mitosenhemmung stehenden Tumorzelle und die zentrale, schon bedeutendere Vakuolisierung des Zytoplasmas. Nachher folgt eine Abschnürung, Fragmentation des homogenen marginalen Zytoplasmas. Das stark vermehrte Plasma ist bestrebt, sich in der zur Mitose bereits unfähigen Zelle, durch Fragmentation des marginalen Zytoplasmas von der überschüssigen Zellmasse zu befreien. Es wurde die neuartige Beobachtung, dass die Strahlenwirkung auch in den ruhenden Tumorzellen sehr ausgesprochen ist. Ferner stellten wir durch Phasenkontrastmikroskopie von nativen Zellen fest, dass die Tumorzellen — neben dem unter Einwirkung der Strahlungsenergie entstehenden Zellgigantismus — ihre Reproduktionsfähigkeit noch nicht zur Gänze verlieren. In den durch Fragmentation der Randteile des amöboiden Plasmas sich loslösenden Plasmaklumpen entsteht ein Zellkern und so können sich auch noch aus der strahlengeschädigten Zelle Tumorzellen entwickeln.

In der zweiten Gruppe unserer Untersuchungen wurde die Frage analysiert, welche zytologische Veränderung durch die am Ende der Intravaginalbestrahlung verabreichte totale Strahlendosis in den der Strahlenwirkung ausgesetzten (mit dem Tumor unmittelbar benachbarten) Zellen des mit unversehrt zu betrachtendem Vaginal- bzw. Portion-Epithel bedeckten Gebietes verursacht wird. Aus diesem Grunde wurde nach Beendigung der Strahlenbehandlung das nötige Untersuchungsmaterial mit obiger Methode diesem Gebiete entnommen. Es wurde festgestellt, dass auch schon kleinere Strahlendosen in den abgerundeten Basalzellen eine nachweisbare Veränderung verursachen. Schon unter Wirkung der Anfangsbestrahlung vergrößern sich die basalen und parabasalen Zellen, das Zytoplasma zeigt eine eher gröbere Granulierung und im Zellplasma erscheinen zusammenhängende Gruppen von Vakuolen. Nach Verabreichung der vollen Strahlendosis kommt die Teilungshemmung auch in den Basalzellen des mit der Randzone des Tumors benachbarten Epithels stark zur Geltung. Infolgedessen sind die zweikernigen Formen sehr häufig, ja sogar auch dreikernige, im übrigen unversehrte Zellen sind anzutreffen. Das Erscheinen der letzteren kann bereits als eine irreversible Form der Zellregeneration und als Anzeichen der Strahlenschädigung gewertet werden. In diesem Sinne mahnt uns das rechtzeitige Erkennen der Zellen auch an die Möglichkeit einer Fistelbildung.

Die Anwendung der Phasenkontrastmethode ermöglicht also, wenn sie auch die Verwendung der gefärbten Abstriche nicht überflüssig macht, einen wertvollen und von vielen Standpunkten aus feineren Einblick in die strukturellen Vorgänge des Zellstoffwechsels, als die bisherigen Verfahren.

Im Sinne unserer Beobachtungen kann die Anwendung der zytologischen Methode auch schon während der Strahlenbehandlung des Collumkarzinoms mit einer gewissen Sicherheit prognostisch verwendet werden.

Bei Anwendung der Kontaktbestrahlung deuten die Abnahme und das Verschwinden der desquamierenden Tumorzellen — auf Grund des zytologischen Bildes — bereits am Anfang der Bestrahlung auf eine Wachstumshemmung der Tumoroberfläche. Im Falle eines günstigen Resultates der zytologischen Kontrolle kann erwogen werden, ob die Strahlenbehandlung als präoperativ zu betrachten und im gegebenen Fall ein chirurgischer Eingriff zu empfehlen ist.

## LITERATUR

1. ANDERSEN, S.: (1949). Morphological Changes in Malignant Tumours Following therapeutic Irradiation with X-rays and Radium. Munksgaard, Copenhagen. — 2. ARNESON A. N. and STEWART, F. W.: (1935). Clinical and Histological Changes Produced in Carcinoma of the cervix by different Amount of Roentgen Radiation. Arch. Surg. 31, 542. — 3. BERGER, J.: (1954). Oncologia 7, 130. — 4. BERGER, J. und BREITNER, J.: (1955). Der Wert des Vaginalabstriches für die prognostische Beurteilung des Genitalkarzinoms. Gynaecologia 140, 258. — 5. BESSERER, G. und SMOLKA, H.: (1953). Strahlenther. 89, 442. — 6. COLMEIRO-LAFORET: (1953). Radiumsensitivity of cervix cancers and colpocytology. Gynec. pract. 12, 113. — Ref.: Excerpta med. (1954.) Sect. X, 7, 45. — 7. CRAMER, H.: (1951). Über die Grenzen der cytologischen Krebsdiagnostik mit der Vaginalen und cervicalen Smearmethode. Arch. Gyn. 179, 635. — 8. DÖDERLEIN, A.: (1955). Spezielle Untersuchungen über eosinophile Leukocyten beim Krebs. Arch. Geschwulstf. 8, 2. — 9. DUSTIN, A. P.: (1927). Contribution à l'étude radiobiologique des epithéliomas du col uterin traitées par la télécuriethérapie. Bull. Acad. méd. Belg. 7, 237. — 10. FODOR, I.: (1955). Feltűnő morfológiás jelenségek rákbetegek exsudatumában található sejtekben. (Auffallende morphologische Erscheinungen



in den im Exsudat der Krebskranken befindlichen Zellen.) (Ungarisch.) *Orv. Hetil.* 22, 593. — 11. FRANKEL, O. and AMREICH, J.: (1921). The Histological Changes Incident to Radium and x-ray Treatment of Uterine Carcinoma. *Surg. Gynec. Obst.* 33, 162. — 12. FROLA, G.: (1933). Etude histologique et radiobiologique des Tumeurs de col uterin traitées par la radiothérapie. — *Arch. internat. méd. exper.* 8, 289. — 13. GILL, A. J.: (1944). Local Eosinophilia in Malignant Neoplasms. *J. Lab. Clin. Med.* 29, 820. — 14. GLÜCKSMANN, A. und SPEAR, F. G.: (1945). The Qualitative and quantitative Histological Examination of Biopsy Material from Patients treated by Radiation for Carcinoma of cervix uteri. *Brit. J. Radiol.* 18, 313. — 15. GRAHAM, R. M.: (1947). The effect of Radiation on Vaginal Cell in Cervical Carcinoma. I. Description of cellular Changes. II. Prognostic Significance. *Surg. Gynec. Obst.* 153, 166. — 16. GRAHAM, I. B. and MEIGS, I. V.: (1952). *Amer. J. Obstet.* 64, 908. — 17. HOMANN, V.: (1955). Die Amitose als Zellteilungsform in bösartigen Geschwülsten. *Ztschr. Krebsforsch.* 70, 283. — 17. LIMBURG, H., NAPP, J. H. und WILDBRAND, U.: (1952). Die prognostische Beurteilung des Collumkarzinoms nach Strahlenbehandlung durch Probenentnahme und Scheidenabstrich. *Geb. u. Frauenh.* 12, 723. — 19. MEIGS, I. V. and PARKER, F.: (1930). The Effect of Radium on Cancer of the Cervix. — *New Engl. J. Med.* 203, 247. — 20. MOHR, H. J.: (1954). Grundsätzliche Fragen zur Beurteilung zytologischer Bestrahlungsveränderungen aus dem »Vaginal Smear.« Gynäkologische Zytologie (H. Runge). Steinkopf, Dresden. — 21. NIELSEN, A. M.: (1952). Cytological changes in Vaginal smears in Radium and Roentgen irradiation of uterine carcinoma and their prognostic significance. — *Acta Radiol.* 37, 479. — 22. REWUTSKAJA, P. S.: (1953) Sejtes elemek ujonnan képződése rákos ascites folyadékban és rákos daganatokban. (Neubildung von Zellelementen in karzinomatöser Aszites-Flüssigkeit und in Krebsgeschwülsten.) (Ref.: ungarisch. *Orv. Tud. dok. közp. Onkologia I.*) — 23. ROTH: (1951). Aussprache, siehe No. 28. *Arch. Gynäk.* 180, 64. — 24. RUZICKA, GY. und RODÉ, GY.: (1954). Punctatum és szövetaspiratum szövettani és cytologiai vizsgálatával elért eredményeink a nőgyógyászati diagnosztikában. (Unsere mit histologischer und zytologischer Untersuchung des Punktat und des Gewebeatpirats erreichten Resultate in der gynäkologischen Diagnostik.) (Ungarisch.) *Orv. Hetil.* 37, 986. — 25. STÜPER, F.: (1954.) Die Cytodiagnostik bei Nachuntersuchungen bestrahlter Collumkarzinome. *Arch. Gyn.* 184, 643. — 26. TISCHER, H. und SCHÜLLER, E.: (1953). Zytologie der intravaginal-Bestrahlung. *Strahlenther.* 39, 456. *Zbl. Gynäk.* 63, 409. — 27. WARREN, SHIELDS, MEIGS, I. V. SEVERANCE, ALVIN und JAFFE: (1939). The Significance of the Radiation Reaction in Carcinoma of the Cervix Uteri. — *Surg. Gynec. Obst.* 79, 645. — 28. WIED, G. L. Aussprache: GRÜNBERGER, V.: (1951). Die Prognosestellung der Radiumwirkung auf des Collumkarzinom auf Grund zytologischer Veränderungen nach Glücksmann. *Arch. Gynäk.* 180, 54. — 29. ZEITZ und FENDEL: (1953). Frühveränderungen an radiumbestrahlten Mäuse-Ascites-Tumorzellen. *Ztschr. Krebsforsch.* 59, 516.

## ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

ДЬ. РУЗИЧКА и И. БЕРТА

В первой группе своих исследований авторы исследовали цитоморфологические изменения опухолевой клетки на действие лучей методом фазового контраста. Первое изменение опухолевой клетки наблюдается в цитоплазме, причем зернистая структурная цитоплазма, накапливающаяся вокруг ядерной оболочки, также как и неровность ядерной оболочки указывают на задержку процессов обмена веществ между ядром и плазмой. На действие лучей зернышки центральной структурной плазмы весьма скоро становятся более крупными, зернышки плазмы и митохондрии сгущаются, а затем наблюдается повышение вакуолизации в цитоплазме. Одновременно начинается отделение гомогенных, бедных структурой частей краевой цитоплазмы. Только после этого следует уродливый рост опухолевой клетки, находящейся под действием торможения митоза, и повышенная центральная вакуолизация цитоплазмы. Затем происходит отшнуровывание, фрагментация краевой гомогенной цитоплазмы. Уродливо, чрезмерно нарастающая клеточная плазма — в неспособном к митозе клетке — стремится освободиться от ставшей гигантской массы клетки путем фрагментации краевой цитоплазмы. Новым является то наблюдение авторов, согласно которому действие лучей весьма значительное и на покоящиеся опухолевые клетки, далее и то, что на основании наблюдений выживших клеток методом фазового контраста, при образующемся на действие лучистой энергии гигантизме, опухолевые клетки не утрачивают полностью свою воспроизводительную способность. В плазматиче-



ческих частях отделяющихся при фрагментации краевых масс амебоидной плазмы образуется клеточное ядро, благодаря чему опухолевые клетки могут образоваться даже из поврежденных лучами клеток.

Во второй группе своих опытов авторы анализировали вопрос о том, какие цитологические изменения вызываются примененной в конце внутривагинального облучения полной дозой рентгеновских лучей в клетках покрытой плоским эпителием области (в непосредственном соседстве опухоли), рассматриваемой еще неповрежденной. С этой целью авторы при окончании радиотерапии взяли материал для исследования из этой области вышеописанным образом. Они установили, что уже небольшие дозы рентгеновских лучей вызывают в округленных базальных клетках выявляемые изменения. Базальные и парабазальные клетки увеличиваются уже вследствие начальных воздействий лучей, их цитоплазма становится грубозернистой и в клеточной плазме появляются связанные между собой группы вакуоль. После полной дозы рентгеновских лучей в базальных клетках плоского эпителия, соприкасающихся с краевыми зонами опухоли, также сильно проявляется торможение деления клетки, причем часто наблюдаются двуядерные формы, и даже трехядерные, впрочем повидимому неповрежденные клетки. Появление последних можно рассматривать необратимой формой дегенерации клеток и признаком поражения лучами. В этом смысле их опознание во время обращения привлекает внимание на возможность образования свища.

Итак, применение способа фазового контраста, хотя и не делает излишним применение окрашенных мазков, но все же является весьма ценным методом и предоставляет с ряда точек зрения возможность для более тонкого выяснения структуральных процессов клеточного обмена веществ, чем применяемые до сих пор методы.

Согласно наблюдениям авторов цитологическим методом можно пользоваться уже во время лучевого лечения рака шейки матки для оценки прогноза с определенной вероятностью. В случае применения контактной терапии уменьшение и исчезновение сливающихся опухолевых клеток указывает уже в начале облучения на основании цитологической картины на задерживание нарастания опухолевой поверхности, а в тех случаях когда результаты цитологического контроля оказываются неблагоприятными, следует рассматривать лечение лучами уже преоперативным способом и при данных условиях советовать операцию.

## APPLICATION D'UNE MÉTHODE CYTOLOGIQUE A L'ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ À L'IRRADIATION DU CANCER DU COL DE L'UTERUS

GY. RUZICKA et I. BERTA

Dans le premier groupe de nos recherches nous avons étudié — à l'aide de la méthode des contrastes de phases — les changements cytomorphologiques des cellules tumorales sous l'influence de l'irradiation. Le premier changement se voit dans le cytoplasme, l'inégalité du cytoplasme à structure granulée entourant la membrane nucléaire ainsi que l'inégalité de cette membrane même démontrent l'altération du processus métabolique entre le noyau et le plasma. Sous l'influence de l'irradiation on assiste rapidement à l'accentuation des granulations cytoplasmiques centrales, à la condensation de ces granulations plasmatiques ainsi que des mitochondries, et bientôt à la vacuolisation progressive du cytoplasme. Ce n'est qu'ensuite que surviennent l'accroissement gigantesque de la cellule tumorale — incapable de mitose — et la vacuolisation encore plus accentuée du cytoplasme central, et puis la fragmentation, le détachement du cytoplasme homogène périphérique. Le plasma cellulaire gigantesque — dans une cellule devenue incapable de division mitotique — tente de se débarrasser de la masse cellulaire devenue énorme par la fragmentation du cytoplasme périphérique. Nous avons fait la constatation nouvelle selon laquelle l'influence de l'irradiation est très accentuée même sur les cellules tumorales au repos. Nous avons également constaté (sur des cellules tumorales survivantes à l'aide de la méthode des contrastes de phases) qu'avec le gigantisme cellulaire développé sous l'influence de l'irradiation les cellules tumorales ne perdent pas encore totalement leur aptitude de se reproduire. Dans les parties du plasma détachées par la fragmentation des masses cytoplasmiques périphériques amoéboïdes, un noyau se développe ; ainsi des cellules tumorales peuvent encore provenir de cellules détériorées par l'irradiation.

Dans la deuxième série de nos recherches nous avons étudié quelles sont les altérations cytologiques que l'on peut constater à la fin de l'irradiation vaginale, après administration de la dose totale, sur les cellules des territoires recouverts d'épithélium pouvant être considéré comme intact. (Il s'agit du territoire voisin du la tumeur, qui lui aussi est soumis à l'irradiation.) Nous



avons fait donc des prélèvements de ces régions et nous les avons examinés à l'aide de la même méthode. Nous avons constaté que même des doses plus petites de radiations déterminent des altérations démontrables sur les cellules basales arrondies. Déjà sous l'influence des irradiations initiales les cellules basales et parabasales s'agrandissent, les granulations de leur cytoplasme s'accroissent et les vacuoles du plasma cellulaire présentent des groupes contigus. Après administration de la dose totale, on constate sur les cellules basales de l'épithélium touchant la zone périphérique de la tumeur une forte action empêchant les mitoses et c'est ainsi que l'on peut constater la présence de cellules à deux, et même à trois noyaux, cellules qui par ailleurs paraissent normales. Nous pouvons considérer ce dernier phénomène comme une forme déjà irréversible de la régénération cellulaire et comme un symptôme de l'effet nocif des radiations. La connaissance de ces faits peut attirer notre attention sur la possibilité de la formation des fistules.

L'utilisation de la méthode de contrastes de phases qui ne rend pas inutile l'étude des frottis colorés est néanmoins une méthode précieuse, car elle permet une observation plus fine du métabolisme cellulaire que les procédés utilisés antérieurement.

Selon notre avis la méthode cytologique peut être utilisée avec profit au cours même des irradiations pour établir le pronostic du cancer du col de l'utérus. En utilisant l'irradiation de contact, la diminution et la disparition des cellules tumorales desquamées signale dès le début de l'irradiation l'arrêt de l'accroissement de la surface tumorale et dans les cas où les résultats de ces contrôles cytologiques sont défavorables nous pouvons éventuellement dès ce moment considérer l'irradiation comme préopératoire et le cas échéant recommander une intervention chirurgicale.

Dr. Gyula RUZICKSA }  
Dr. István BERTA } Debrecen, 12. Szülészeti klinika, Ungarn