

## ÜBER METHODISCHE FRAGEN DER KERNVARIATIONS- STATISTIK VI. BEWERTUNG DER GRUPPIERUNGS- METHODEN

G. INKE, M. PALKOVITS und I. GYÁRFÁS

(Eingegangen am 4. Dezember 1957)

Methodische Verfahren haben nur dann praktischen Wert, wenn sie  
1. leicht durchführbar sind, 2. wenige Fehlerquellen aufweisen und wenn sich  
3. die von verschiedenen Untersuchern gewonnenen Resultate leicht vergleichen  
lassen.

Mit den Fehlermöglichkeiten der Kernvariationsstatistik haben wir uns  
in mehreren Mitteilungen [10, 11, 12, 13, 14] beschäftigt und zur Vereinfachung  
der Methodik Nomogramme konstruiert (FISCHER—INKE [3]).

Nachfolgend wollen wir unsere eigene Gruppierungsmethode mitteilen  
und mit den in der Literatur beschriebenen vergleichen.

### Besprechung unserer Methode

Die Gruppierungsmethoden können auf zwei Einteilungen, der arithmetischen oder logarithmischen, beruhen.

Die arithmetische Einteilung entspricht laut HINTZSCHE [7, 8, 9] nicht den Anforderungen, weil nicht die Kernvolumen, sondern ihre Logarithmen normal verteilt sind, so dass es sich um eine lognormale Verteilung handelt. Eine ausführliche Kritik der arithmetischen Gruppierung enthält auch die Arbeit von ARNOLD [2].

Wir befürworten ebenfalls die logarithmische Gruppierung. In der bisherigen Praxis hat man den Ausgangspunkt der Gruppierung in allen Fällen empirisch bestimmt. Wir bestimmen diesen Ausgangspunkt nicht empirisch, sondern nehmen einen konstanten Wert an:  $2,15 \log (142 \mu^3)$ . Dieser Wert stimmt mit dem von JACOB [15] als  $K^1$  (Regelklasse) bezeichneten häufigsten Wert des Volumens der Diploidkerne annähernd überein.

Die Konstanz des Ausgangspunktes der Gruppierung ist mit folgenden Vorteilen verknüpft: 1. Die errechneten oder einfach von den Nomogrammen abgelesenen Werte kann man ohne vorherige Berechnungen in die Gruppen einreihen. (Bisher geschah die Bestimmung des Ausgangspunktes folgendermaßen: 1. Die Kernvolumen reihte man in provisorische arithmetische Gruppen (in der Ausdehnung  $20-40 \mu^3$ ), bestimmte 2. den Mittelwert und

3. dessen Logarithmus. Dieses Verfahren ist schwerfällig und beansprucht viel Rechenarbeit.)

2. Die Ergebnisse mehrerer Autoren kann man (wenn sie die gleiche Einteilung benutzen) leichter miteinander vergleichen.

Bei den Gruppierungen mit variierendem Ausgangspunkt lassen sich die Angaben der Autoren ohne Kenntnis der ursprünglichen — meistens nicht mitgeteilten — Werte nur schwer und oft überhaupt nicht vergleichen. Darüber hinaus hat unser Verfahren den Vorteil, dass die durch nicht ganz übereinstimmende histologische Methoden bedingten Differenzen an den Kurven unmittelbar in Erscheinung treten.

3. Der Gebrauch der zur Bezeichnung der Klasse angewandten, im absoluten Wert nicht genau übereinstimmenden Benennungen  $K_1$ ,  $K_2$  usw. wird überflüssig.

4. Das Durchführungsverfahren der Kernvariationsstatistik passt sich auf diese Weise der allgemeinen biometrischen Praxis an.

Gegen die Aufstellung dieses Standard-Ausgangspunktes lassen sich folgende Einwände anführen:

1. Wenn der angenommene Ausgangspunkt mit dem effektiven Mittelwert nicht übereinstimmt, so kann sich die Form der Kurve verändern.

2. Der Spitzenwert fällt nicht in die dem Ausgangspunkt — als Mittelwert — entsprechende Gruppe.

Zwecks Nachprüfung dieser Einwände sowie zur empirischen Bestimmung der Anzahl der möglichen Unterklassen haben wir 3 verschiedene Beispiele folgendermassen ausgewertet:

800 Leberzellkerne deren Logvolumendurchschnitt 2,2812,

270 Aszitestumorzellkerne, deren Logvolumenmittelwert 2,2574, und

300 glatte Muskelzellkerne, deren Logvolumendurchschnitt 2,0010

ausmacht, reichten wir in auf vier verschiedene Weise gebildete Gruppen ein.

Es wurden folgende Gruppierungen vorgenommen:

1. Von 2,15 log ausgehend, zeigen die Unterklassen die Ausdehnung  $\pm 0,05 \approx \frac{\log 2}{6}$ ,

d. h. zwischen dem Grundwert 2,15 log ( $142 \mu^3$ ) und seinem doppelten Wert 2,45 log ( $284 \mu^3$ ) bzw. seiner Hälfte 1,85 log ( $71 \mu^3$ ) bildeten wir zwei Unterklassen.

2. Von 2,15 log ausgehend, haben die Unterklassen eine Ausdehnung von  $+0,375 \approx \frac{\log 2}{8}$  (WILFINGSSEDER [19]), d. h. zwischen dem Grundwert und seinem doppelten bzw.

halben Wert haben wir drei Unterklassen untergebracht.

3. In Übereinstimmung mit der bisherigen Praxis stellten wir, vom jeweiligen Mittelwert ausgehend eine Gruppierung mit der Ausdehnung  $\pm 0,05 \approx \frac{\log 2}{6}$  (mit 2 Unterklassen)

und

4. eine solche von der Ausdehnung  $\pm 0,0375 \approx \frac{\log 2}{8}$  (mit 3 Unterklassen) her.

Die von den Nomogrammen (FISCHER—INKE [3a]) abgelesenen log V-Werte wurden diesen Klassifizierungen entsprechend gruppiert.

Der empirische (d. h. der jeweilige geometrische) Mittelwert kann sich im Vergleich zu den vorher angenommenen und immer konstanten Gruppierungsmittelwerten auf drei verschiedene Arten verhalten: a) mit diesen nahezu übereinstimmen, b) der oberen oder unteren Gruppengrenze nahe kommen, c) zwischen den angenommenen Mittelwert und die Gruppengrenze fallen. (In letzteren Fällen kann an der Kurve künstliche Asymmetrie entstehen.)

Bei den Leberzellkernen (Abb. 1) fällt der Mittelwert nach der 1. Gruppierungsmethode zwischen die angenommene Gruppenmitte und die obere Gruppengrenze, bei den Aszitestumorzellkernen (Abb. 2) nahe zur Klassenmitte, bei den glatten Muskelzellkernen (Abb. 3) nahe zur unteren Klassengrenze.

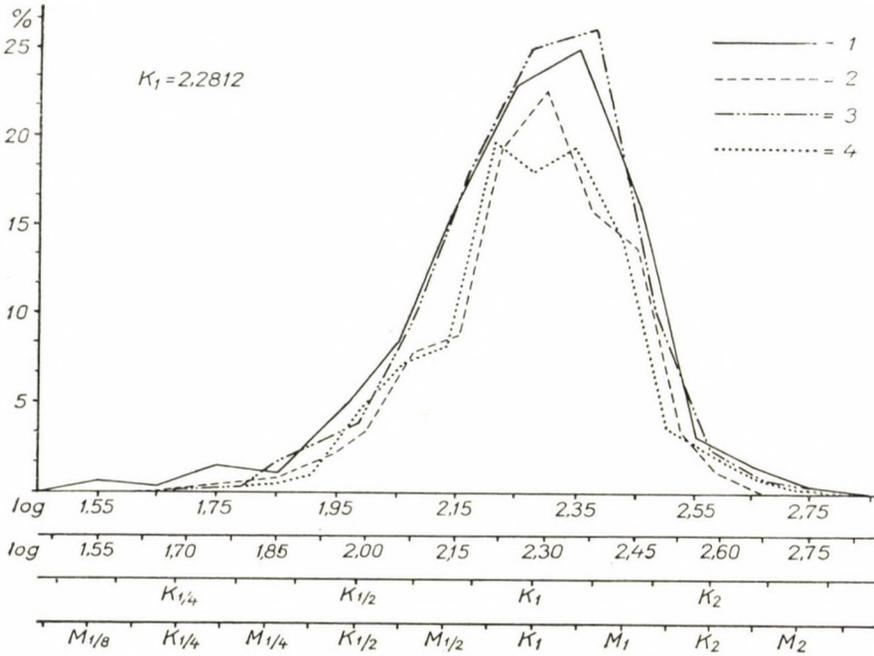


Abb. 1. 800 Leberzellkerne, berechnet auf Grund der Formel  $V = \frac{\pi}{6} LB^2$ , nach verschiedenen Gruppierungen (s. im Text)

Bei der 2. Gruppierungsmethode fällt der Durchschnittwert der Leberzellkerne in die Mitte zwischen den Mittelwert und die Grenze einer Unterklasse, der Durchschnittwert der Aszitestumorzellkerne nahe zur Klassengrenze, der der glatten Muskelzellkerne nahe zur Klassenmitte.

Bei der 3. und 4. Gruppierungsmethode fällt der Mittelwert naturgemäss stets mit der Klassenmitte zusammen.

Betrachten wir die Kurven der 1. Gruppierungsmethode, so sehen wir, dass sie sich bei dem der Klassenmitte nahekommenden echten Mittelwert (Abb. 2, Kurven 1 und 3) beinahe überdecken.

Bei dem zwischen Klassenmitte und Klassengrenze fallenden Mittelwert (Abb. 1, Kurven 1 und 3) und auch dem nahe zur Klassengrenze fallenden Mittelwert (Abb. 3, Kurven 1–3) weichen die Kurven nur unwesentlich voneinander ab.

Nach der 2. Gruppierungsmethode überdecken die Kurven einander, wenn der Mittelwert nahe zur Klassenmitte fällt (Abb. 3, Kurven 2 und 4); wenn der echte Mittelwert in die Klassenmitte fällt, laufen die Kurven ziemlich ununterschiedlich (Abb. 1, Kurven 2 und 4); bei dem nahe zur Klassengrenze fallenden echten Mittelwert unterscheiden sich die Kurven, von der Lage des Spitzenwertes abgesehen, wenig (Abb. 2, Kurven 2 und 4).

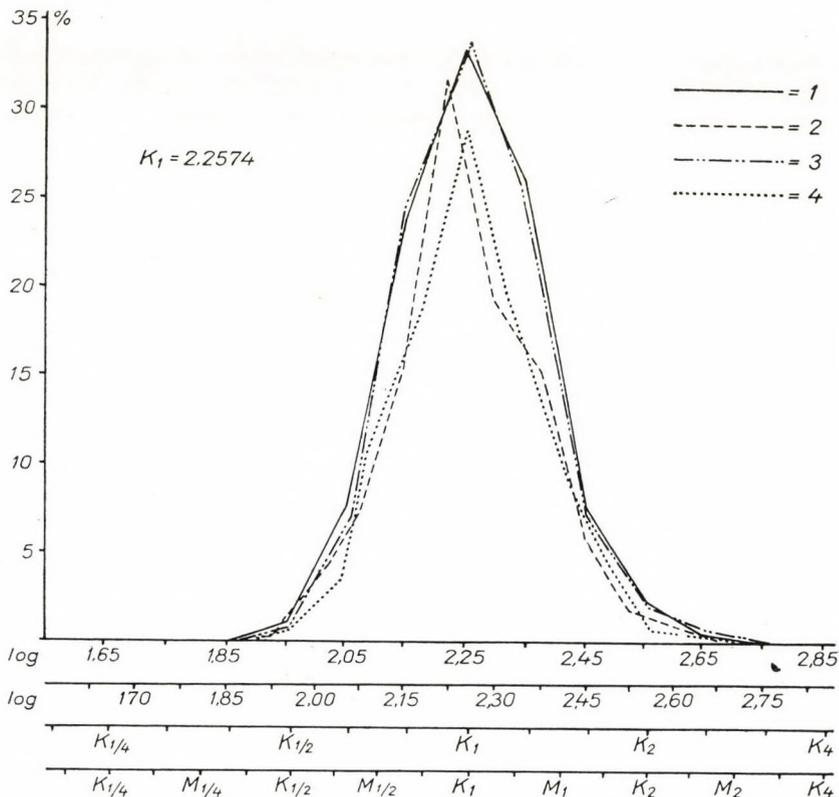


Abb. 2. 270 Aszitestumorzellkerne, ebenso bewertet wie in Abb. 1

### Besprechung

HINTZSCHE [7] hat für die Gruppierung 4 Postulate aufgestellt, die wir nachfolgend anführen, obwohl wir mit ihnen nicht in jeder Hinsicht einverstanden sind.

1. *Postulat*: »Biologisch gleichwertige Schritte müssen als solche in Rechnung und Darstellung zutage treten.«

Dieser Forderung entspricht die unserseits verwendete vierfache Einteilung (wie jede logarithmische Gruppierung).

2. *Postulat* : »Die Klasseneinteilung muss so gewählt werden, dass die Gipfelwerte, also Regelklasse und deren Verdoppelungs- und Halbierungswerte, mitten in eine Klasse hineinfallen.«

Dieser Forderung vermag nicht einmal die von HINTZSCHE und anderen empfohlene Gruppierungsmethode unter 3—4 in allen Fällen Genüge zu leisten. So fällt z. B. das grösste prozentuale Vorkommen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pankreaszellen im Material von ARNOLD [2] in eine Unterklasse über der Regelklasse.

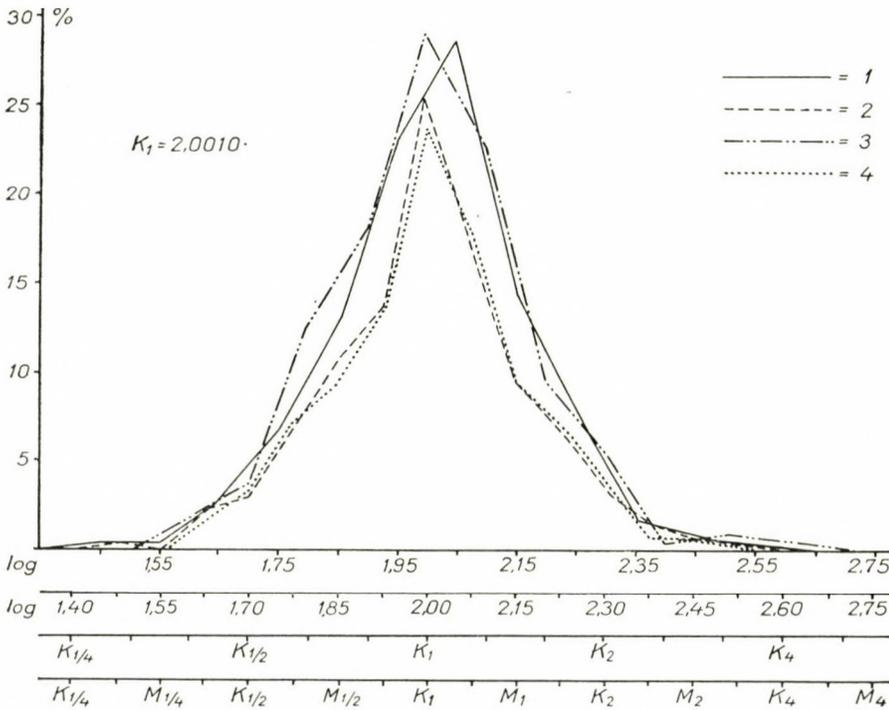


Abb. 3. 289 glatte Muskelzellkerne, ebenso bewertet wie in Abb. 1

3. *Postulat* : »Zur Erfassung feinerer Einzelheiten der Verteilung sollen kleinstmögliche Zusammenfassungen (Unterklassen) gebraucht werden.«

4. *Postulat* : »Es soll womöglich auch der Mittelwert zwischen zwei Klassen wieder mitten in eine Zusammenfassung (Unterklasse) hineinfallen.«

Der 3. und 4. Forderung vermag man nur dann Genüge zu tun, wenn man zwischen zwei Klassen drei Unterklassen bildet.

Da HINTZSCHE die Bildung der kleinstmöglichen Unterklassen gerade zur Untersuchung der Verteilung fordert, wollen wir an unserem Material untersuchen, wie sich die feineren Gruppierungen (2—4) auf die Normalitäts- und Symmetrieverhältnisse auswirken.

Auf den ersten Blick sieht man, dass die Kurven 2—4 auf sämtlichen Abbildungen am wenigsten symmetrisch sind, viel weniger als die Kurven 1—3.

Bei der mathematisch-statistischen Analyse betrachtet man es noch als akzeptierbare Gruppenzahl, wenn das Material in 10—12 Klassen eingeteilt wird. Die auf Grund des 3. und 4. Postulates gebildeten drei Unterklassen halten wir daher nicht für notwendig und statt dessen die Aufnahme von zwei Unterklassen für besser. Die Bildung von drei Unterklassen finden wir insbesondere bei kleineren Kernen mit Durchschnittswerten  $K_{1/2}$  von ungefähr  $1,85 \log (72 \mu^3)$  deshalb nicht vorteilhaft, weil auf diese Weise die Ausdehnung der Klassen in den Bereichen zwischen  $36$  und  $72 \mu^3$  ( $1,55$  und  $1,85 \log$ ) und  $72$ — $144 \mu^3$  ( $1,85$ — $2,15 \log$ ) im Verhältnis zu den Messungsfehlern zu eng wird (s. Tabelle I).

Der Zeichenfehler kann mit  $5\%$ , die Auflösungsfähigkeit des Mikroskopes im besten Falle mit  $0,2 \mu$  angenommen werden.

Selbst wenn wir annehmen, dass sich diese Fehler ausgleichen (d. h. keine einseitige Verzerrung vorhanden ist), erscheint die bisher benutzte Klasseneinteilung im Vergleich zu diesen Fehlern in diesem Bereich als zu fein. Es könnte den Eindruck erwecken, dass es nachteilig sei, zwischen zwei Klassen lediglich zwei Unterklassen zu bilden, weil die sog. Mittelklasse in diesem Fall nicht existiert. Die Bedeutung dieses Umstandes besteht allein in der Erkennung des sog. Faktors  $\sqrt{2}$  (Oberflächenvergrößerungsfaktor). Fällt der Spitzenwert in die sog. »Mittelklasse«, so kann man daraus laut HERTWIG [6] folgern, dass sich die Kernoberfläche verdoppelt, hingegen das Volumen im Verhältnis  $\times \sqrt{2}$  verändert hat. Die diesbezügliche Literatur wurde von ARNOLD [2] sowie ALFERT und Mitarbeitern [1] ausführlich besprochen. ALFERT und Mitarbeiter legen dem indirekten Rückschluss auf den Faktor  $\sqrt{2}$  keine besondere Bedeutung bei. Diese Auffassung wird durch unsere Untersuchungen [13] bestätigt, nach denen es von der histologischen Technik abhängt, in welche Klasse der Spitzenwert fällt. Das Wachstum des Zellvolumens im Verhältnis  $\sqrt{2}$  tritt indessen nur bei kugelförmigen Kernen ein, bei Rotationsellipsoidformen ist die Oberflächenveränderung von der Exzentrizität abhängig (LUDI, [17]). Da die unmittelbare Berechnung der Oberflächenveränderung viel beweiskräftiger ist, haben wir — zur Vereinfachung der Berechnung nach komplizierten Formeln — Nomogramme hergestellt (INKE—FISCHER [15]), bei deren Gebrauch dieser Nachteil entfällt.

#### Zusammenfassung

Eine der biometrischen Praxis besser entsprechende, einfache und konstante logarithmische Gruppierungsmethode wird beschrieben, bei der auf die Errechnung des als Ausgangspunkt der Gruppierung dienenden empirischen Mittelwertes verzichtet und statt dessen als Ausgangspunkt  $2,15 \log (142 \mu^3)$  angenommen wird, was mit dem Jacobyschen  $K_1$ -Wert ungefähr übereinstimmt. Zwischen der Hälfte bzw. Verdoppelung des Ausgangswertes ( $1,85 \log$

**Tabelle I**

Mittelwerte und Grenzen der Klassen, Kerndurchmesser ( $D_1, D_2$ ) sowie die Differenz zwischen den Durchmessern ( $D_2 - D_1$ ) bei der Gruppierung in 3 Unterklassen

Benennung	log. Mittelwert	log. Grenzen	Mittelwert	Grenzen	Durchmesser	
					$D_1, D_2$	$D_2 - D_1$
$K_{1/4}$	1,55	1,5125 1,5875	36	33	3,93	0,23
				38,5	4,16	
Z	1,6250	1,5875 1,6625	42	38,6	4,16	0,29
				46	4,45	
$M_{1/4}$	1,70	1,6625 1,7375	51	46,1	4,45	0,24
				54	4,69	
Z	1,7750	1,7375 1,8125	60	54,1	4,69	0,26
				65	4,95	
$K_{1/2}$	1,85	1,8125 1,8875	71	65,1	4,95	0,32
				77	5,27	
Z	1,9250	1,8875 1,9625	84	77,1	5,27	0,33
				92	5,60	
$M_{1/2}$	2,00	1,9625 2,0375	100	92,1	5,60	0,32
				109	5,92	
Z	2,0750	2,0375 2,1125	119	109,1	5,92	0,32
				130	6,24	
$K_1$	2,15	2,1125 2,1875	142	130,1	6,24	0,41
				154	6,65	

Dieselbe Angaben bei der Gruppierung in 2 Unterklassen

$K_{1/4}$	1,55	1,50	36	32	3,93	0,30
		1,60		40	4,23	
	1,65	1,60 1,70	45,5	40,1 51	4,23 4,60	0,37
$K_{1/2}$	1,75	1,70	57,4	51,1	4,60	0,35
		1,80		64	4,95	
	1,85	1,80 1,90	71	64,1 80	4,95 5,35	0,40
$K_1$	1,95	1,90	90	80,1	5,35	0,41
		2,00		100	5,76	
	2,05	2,00 2,10	113	100,4 126	5,76 6,22	0,46
$K_1$	2,15	2,10	142	126,1	6,22	0,50
		2,20		159	6,12	

bzw. 2,45 log) werden zwei Unterklassen mit der Ausdehnung  $\pm 0,05$  gebildet. Dies erscheint vorteilhafter als der Gebrauch von 3 Unterklassen, weil die normal verteilten Messungsfehler an den Kurven weniger Verzerrungen verursachen.

Die Konstanz des Ausgangswertes ist von grossem Vorteil, weil es sich erübrigt, bei der Untersuchung jeder Probe eine neue Klasseneinteilung herzustellen, weil die Ergebnisse verschiedener Autoren leichter verglichen werden können und die mehrmalige Gruppierung der Resultate nicht erforderlich ist, so dass sich die durch Rechenfehler bedingten Irrtümer verringern.

## LITERATUR

1. ALFERT, M., BERN, H., KAHN, R.: (1955) Hormonal influence on nuclear synthesis (IV. Karyometric and microspectrophometric studies of rat thyroid nuclei in different functional states) *Acta Anat.*, 23, 185—205. — 2. ARNOLD, A.: (1951) Beitrag zur quantitativen Histologie des Alloxandiabetes der Albinoratte; die Kerngrößen der Inselzellen. *Acta Anat.*, 12, 396—428. — 3. FISCHER, J., INKE, G.: (1956) Nomogramme zur Berechnung des Kernvolumens. *Acta morph. Ac. Sci. Hung.*, 7, 141—165. — 4. GÁTI, É., INKE, G., PALKOVITS, M.: (1956) Changes in cell and nuclear volume in ascites carcinoma upon the effect of colchicine and podophyllin. *Acta morph. Acad. Sci. Hung.* 7, 335—341. — 5. GÁTI, É., INKE, G., BAJTAI, A., GYÁRFÁS, I.: (1956) Cytological changes in ascites carcinoma cells on the effect of nitrogen Mustard, TEM or BCM, with special reference to changes in nuclear volume. *Acta morph. Acad. Sci. Hung.* 7, 343—350. — 6. HERTWIG, G.: (1942) Der volumetrische Nachweis von Verdoppelungs- und Zwischenklasse an den Zellkernen des Zentralnervensystems des Menschen. *Z. mikr. anat. Forsch.* 51, 807—107. — 7. HINTZSCHE, E.: (1945) Statistische Probleme aus der Kerngrößenforschung. *Experientia*, 1, 103. — 8. HINTZSCHE, E.: (1946) Über Normalkurven der Kerngrößenverteilung. *Mitt. Naturforsch. Ges. Bern*, N. F. 4, 19—27. — 9. HINTZSCHE, E.: (1946) Biologische Statistik durch materialgerechte Klasseneinteilung. *Schweiz. Z. Volkswirtschaft u. Statistik* 82, 433—443. — 10. INKE, G., PALKOVITS, M.: (1958) Über methodische Fragen der Kernvariationsstatistik. I. Die Volumenveränderung des Zellkerns in der zentralen und peripheren Zone des Schnittes auf Wirkung histologischer Verfahren. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.* (305—310). — 11. INKE, G., PALKOVITS, M., GYÁRFÁS, I.: (1958) Über methodische Fragen der Kernvariationsstatistik. II. Einfluss der Fixierungsdauer auf die Kerngröße. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.* 311—315). — 12. INKE, G., PALKOVITS, M., BAJTAI, A., GYÁRFÁS, I.: (1958) Über methodische Fragen der Kernvariationsstatistik. III. Einfluss der Schnittstärke auf die Messergebnisse. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.* 317—323). — 13. INKE, G., PALKOVITS, I., GYÁRFÁS, I., BAJTAI, A.: (1958) Über methodische Fragen der Kernvariationsstatistik. IV. Wirkung der verschiedenen Fixier- und Einbettungsmethoden auf das Kernvolumen. *Acta morph. Acad. Sci. Hung.* 8, 233—251 — 14. INKE, G., PALKOVITS, M., GYÁRFÁS, I., BAJTAI, A.: (1958) Über methodische Fragen der Kernvariationsstatistik. V. Bewertung der verschiedenen Formeln bei variierenden Exzentrizitäten und Bestimmung des durchschnittlichen Betrachtungswinkels im Verhältnis zur Hauptachse. *Acta morph. Acad. Sci. Hung.* 8, 252—262 — 15. INKE, G., FISCHER, J.: (1958) Über methodische Fragen der Kernvariationsstatistik. VII. Nomogramme zur Bestimmung der Kernoberfläche (erscheint demnächst). — 16. JACOB, W. (1925) Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens. *Arch. Entw. Mech.* 106, 124—192. — 17. LUDI, P. (1951) Kernvolumetrische Untersuchungen an Ganglienzellen im Rauten- und Mittelhirn des Menschen. *Z. Zellforsch.*, 36, 476—522. — 18. LUDWIG, K. S.: (1951) Das Zellkernvolumen in der Schilddrüse normaler sowie mit Thiouracil und Thyroxin behandelter Ratten. *Acta Anat.* 11, 146—151. — 19. WILFINGSEDER, P.: (1947) Über die Bedeutung der Zellgrößen beim Kropf und im besonderen beim Adenom. (Zitiert nach Arnold). *Forsch. Tiroler Ärzteschule*, 1945—47, 342—402.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ЯДЕРНО-ВАРИАЦИОННОГО СТАТИСТИЧЕСКОГО СПОСОБА VI. ОЦЕНКА СПОСОБОВ КЛАССИФИКАЦИИ

Г. ИНКЕ, М. ПАЛКОВИЧ и И. ДЬАРФАШ

Авторы излагают свой простой и постоянно логарифмический метод классификации, лучше всего соответствующий биометрической практике. Минувя исчисление эмпирической средней величины, служащей исходной точкой при классификации, они применяют вместо нее в качестве исходной точки для классификации величины  $2,15 \log (142 \mu^3)$ , которая в общем и целом совпадает с величиной  $K_1$  Якоби. Между половиной исходной величины или же двукратной исходной величиной ( $1,85 \log$ , или  $2,45 \log$ ) они размещают два подкласса, измерением  $\pm 0,05$ . Авторы считают этот способ более подходящим, чем применение 3 подклассов, так как особенно при исчислении ядер с объемом ниже  $142 (2, 15 \log)$  ошибки при измерении вызывают на кривых меньшее искажение.

Постоянство исходной величины является весьма пригодным, ибо при исследовании каждой новой пробы отпадает новое разделение на классы, данные различных авторов легко можно сравнивать и не следует проводить многократной группировки данных, вследствие чего уменьшается возможность ошибок при исчислении.

## METHODICAL PROBLEMS OF KARYOMETRY. VI. APPRECIATION OF CLASSING METHODS

G. INKE, M. PALKOVITS and I. GYÁRFÁS

A simple and constant logarithmic classing method, suitable for biometrical practice, is described. Computation of the empirical mean is dispensed with. Instead of this,  $2,15 \log (142 \mu^3)$  is taken as the initial point of classing, which roughly agrees with Jacoby's value for  $K_1$ . Between half, resp. double, the initial value ( $1,85 - 2,45 \log$ ), two subclasses of  $\pm 0,05$  extension are ranged. This is more advantageous than the use of the 3 subclasses, because, especially in the calculation of a nuclear volume of less than 142 ( $2,15 \log$ ), the errors of measurement cause a slighter distortion of the curves.

The constancy of the initial value is most advantageous, it being unnecessary to make a new classing at the examination of each new sample. In this way the data of different authors are easily comparable, repeated grouping of the data is superfluous and thus the possibility of miscalculations becomes less.

Dr. Gábor INKE	}	Budapest, IX., Tűzoltó u. 58. Ungarn
Dr. Miklós PALKOVITS		
Dr. Iván GYÁRFÁS		