

D O K T O R I É R T E K E Z É S

KÁLCIUM-FOSZFÁT ÉS KÁLCIUM-OXALÁT KRISTÁLYOK MEGJELENÉSE
KÓROSAN ELVÁLTOZOTT EMBERI SZÖVETEK BEN: UJ DIAGNOSZTIKAI
LEHETŐSÉGIrtta: *UGOCSAI GYULÁNÉ ROZSA MELINDA*/Szeged m. Városi Tanács Kórház- Rendelőintézet
Intenzív Osztály/

1 9 8 6 .



B 5110



E 2.681

TARTALOMJEGYZÉK

	<i>Oldal</i>
<i>KÖSZÖNETNYILVÁNITÁS</i>	
<i>I. BEVEZETÉS - - - - -</i>	<i>1</i>
<i>II. CÉLKITŰZÉS - - - - -</i>	<i>12</i>
<i>III. AZ EMLŐBETEGSÉGEK KALCIFIKÁCIÓINAK ÖSSZETÉTELET VIZSGÁLÓ KORÁBBI KUTA- TÁSOK ÁTTEKINTÉSE - - - - -</i>	<i>15</i>
<i>1. Az eredmények ismertetése - - - - -</i>	<i>15</i>
<i>2. Kritikai elemzés - - - - -</i>	<i>18</i>
<i>IV. ANYAG ÉS MODSZER - - - - -</i>	<i>21</i>
<i>1. Fénymikroszkópos vizsgálatok - - - - -</i>	<i>21</i>
<i>2. Mikroanalitikai vizsgálatok - - - - -</i>	<i>24</i>
<i>3. Kombinált fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatok - - - - -</i>	<i>26</i>
<i>V. EREDMÉNYEK - - - - -</i>	<i>29</i>
<i>1. Fénymikroszkópos vizsgálatok - - - - -</i>	<i>29</i>
<i>2. Pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok - - - - -</i>	<i>40</i>
<i>3. Mikroanalitikai vizsgálatok - - - - -</i>	<i>47</i>
<i>VI. DISZKUSSZIÓ - - - - -</i>	<i>59</i>
<i>1. Fénymikroszkópos vizsgálatok - - - - -</i>	<i>59</i>
<i>2. Pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok - - - - -</i>	<i>62</i>
<i>3. Mikroanalitikai vizsgálatok - - - - -</i>	<i>64</i>
<i>VII. ÖSSZEFOGLALÁS - - - - -</i>	<i>71</i>
<i>VIII. IRODALOMJEGYZÉK - - - - -</i>	<i>73</i>

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki Kovács Kálmán professzornak a munka feltételeinek biztosításáért, a dolgozat készítése során felmerülő problémák megoldásában nyújtott segítségért. Köszönet illeti az SZBK ITC Igazgatóságát és a Biofizika Intézetben a Dr. Joó Ferenc vezetése alatt álló Neurobiológiai Csoportot a munka formai feltételeinek biztosításáért. Külön köszönöm Siklós László dr. jelentős segítségét a gyakorlati problémák megoldásában és a mérések kivitelezésében.

Köszönöm a SZOTE Kórbonctani Intézet vezetőjének, Ormos Jenő professzornak a munka végzése során adott tanácsait.

Pintér Katalinnak a mintaelőkészítés során nyújtott lelkiismeretes munkáját köszönöm.

Köszönöm a JATE Közöttani Tanszék dolgozóinak, külön Szónoky Miklósnak a fénymikroszkópos vizsgálatok során nyújtott segítségét.

Végezetül a Szeged MV. Tanács Kórház-Rendelőintézet Vezetőségének, valamint Dr. Ugocsai Gyula és Dr. Szabó Mihály főorvosoknak mondok köszönetet, hogy lehetővé tették a témában való részvételemet.

I. BEVEZETÉS

A különböző típusu emberi szövetek meszesedése gyakori jelenség - gondoljunk csak az érlemeszesedéssel összefüggő betegségek magas számára. Ismeretes a meszes göbcok más szövetekben történő kialakulása is /pl. vese tubulus vagy Bowman-tok bazális membrán/, amely kapcsán sokoldalú vizsgálatok folytak: vajon van-e összefüggés a kalcifikáció jellege és a betegség fajtája között /33, 34/? A mikromeszesedések előfordulása azonban ezekben a betegségekben elég ritka, így ha adódik is a kórisme megerősítésére felhasználható adat, az eredmény diagnosztikai értéke a kis gyakoriság miatt csekély. Más betegségeket viszont; így különösen a női emlő daganatos elváltozásait gyakran kíséri kalcifikáció-képződés /50-70 %/. Következésképpen ha a meszesedés jellege, elemi összetétele hordoz egyáltalán diagnosztikai értékű információt, felhasználásuk ezekben a betegségekben már gazdaságos. Ezt a szándékot az emlő tumoros betegségeinek elterjedtsége, súlyossága külön-külön is indokolttá teszi.

Statisztikai adatokból ismeretes, hogy az emlőrák a civilizált országokban a felnőtt lakosság halálozási arányszámait tekintve a vezető helyen áll. Gyakoriságát

csupán a szív és keringési eredetű, illetve balesetből származó elhalálozással lehet összemérni. Így pl. egy 5 éves periódusban /1965-1969/ 100 000 női lakost tekintve Angliában 41, Hollandiában 34, Olaszországban 23, Magyarországon 22 egyén emlőrák áldozata volt. Ezek a számok azt jelentik, hogy az emlőrák a 35-54 éves korosztályban az első a halált kiváltó okok között /31/. Ennek tükrében teljesen természetes, hogy minden országban óriási szellemi és anyagi erőfeszítéseket tesznek a rák korai felismerésére, a diagnózis pontositása és a betegség gyógyítása érdekében. Dolgozatunkban ezeken a területeken kifejtett kutatásunk eredményeit összegezzük.

Mint minden betegség, így az emlőrák gyógyítása során is az első helyen a betegség felismerése áll. A betegség elterjedtségével arányban az emlőrák diagnózisára tekintélyes, a legegyszerűbbektől a legmodernebbekig terjedő fegyvertár áll rendelkezésre. Így pl. a tumor felismerésének mindeki által végezhető módszere az emlő önvizsgálata, melyet a fejlett országokban a nők számára minden nap elvégzendő feladatként ajánlanak /56/. Megbízhatóbb az eljárás, ha az emlő fizikális vizsgálatát orvos végzi, mégpedig minden olyan esetben, ha a veszélyeztetett korban levő nő bármilyen panasszal hozzáfordul. Sajnos a módszer találati biztonsága meg-

lehetősen alacsony, 40-50 %. Ez más szavakkal azt jelenti, hogy a tumor csak durván minden második esetben tapintható ki, ha jelenléte egyébként más diagnosztikai eszközzel meggyőzően igazolható. További hátrányként kell említeni, hogy a módszerrel a jó és rosszindulatú daganatok nem különíthetők el. Így a fizikális vizsgálat során, ha az orvos valamilyen eltérést talál, akkor dönt helyesen, ha kétsédelem nélkül továbbküldi a beteget valamilyen műszeres vizsgálatra, mellyel lehetőség nyílik nemcsak a betegség jellegének meghatározására, hanem a tumor emlőn belüli pontos lokalizációjára is. Ezek a /széles körben elterjedt és sebészi beavatkozást nem igénylő/ vizsgálati módszerek: az emlő ultrahangos vizsgálata, a termográfia és a mammográfia.

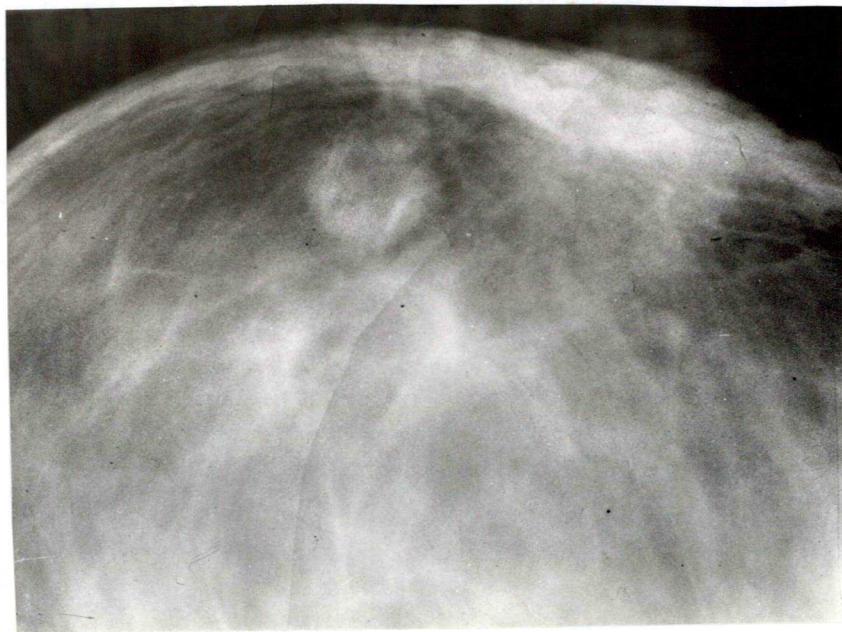
A termográfiai vizsgálatok alapja, hogy a rosszindulatú daganatok hőmérséklete magasabb, mint a környező szöveté, s a vizsgálat során az emlő hőmérséklet-térképének elkészítésével ez kimutatható. A módszer megbízhatósága elég jó: az így felállított diagnózis 85-97%-ban később megerősítést nyer /i/, de bizonyos esetekben /pl. "hideg" daganatok vagy egyszerű gyulladásos betegségek esetén/ félrevezető lehet.

Az ultrahangos vizsgálatok ujabban kerültek bevezetésre, számos technikai nehézséggel járnak, de biztató

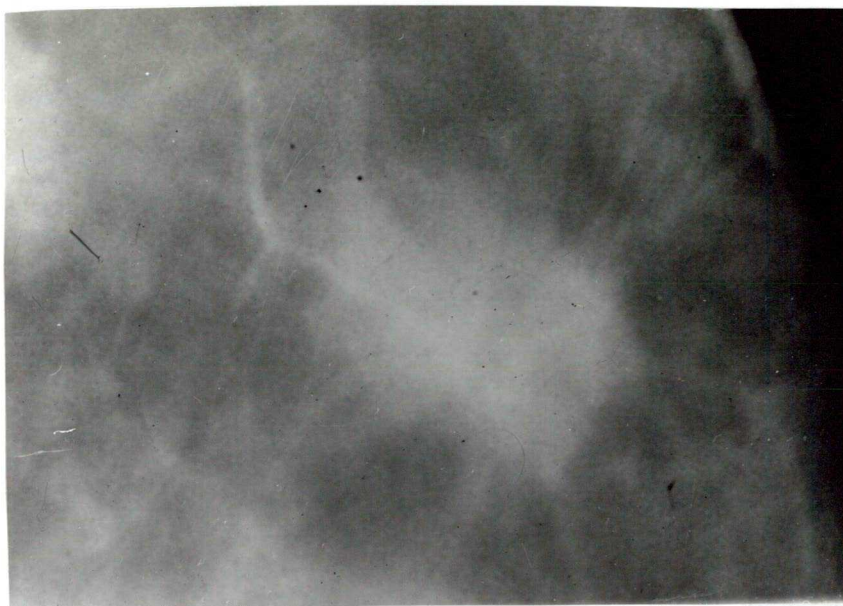
eredményeket várnak tőlük /25/. Már az eddigi kísérletek alapján is a megbízhatósági szint elég magas, 86 %, de a jó és a rosszindulatu elváltozások elkülönítésén túlmenően a módszertől a két fő típusba tartozó betegségek további differenciálása is várható.

A fent említett módszereket még a magas megbízhatósági szint ellenére sem alkalmazzák egyedül, csak a mammoográfias vizsgálatok kiegészítéseképpen. Az emlő Rtg-átvilágításos vizsgálata /vagyis a mammoográfia/ a módszer megalapozásától kezdve /15, 43/ robbanás-szerűen elterjedt és azóta is az emlő daganatos betegségeinek fő diagnosztikai eszköze maradt. Erényei között kell említeni, hogy egyszerű, gyorsan és tömegméretekben végezhető eljárás, így rendszeres szűrővizsgálatokra is alkalmas. A jó és a rosszindultu daganatok alakjuk alapján viszonylag könnyen elkülöníthetők /1., 2. ábra/, sőt többirányu felvétellel a daganat emlőn belüli pozíciója is egyszerűen meghatározható, ha a további sebészi beavatkozás ezt megkívánja.

A módszer még önmagában alkalmazva is elég pontos: egy gyakorlott röntgenológus diagnosztikai tévedését mindössze 10-15 %-ra becsülik /20, 39, 52, 53/. Lényeges segítséget jelentett a mammoográfian alapuló diagnózis felállításában a kalcifikációk felismerése /29/. A jó,



1. ábra: Jóindulatu emlőelváltozás mammogramja.
Fő jellemzője a sima felszíni körülhatárolható tumorárnyék.

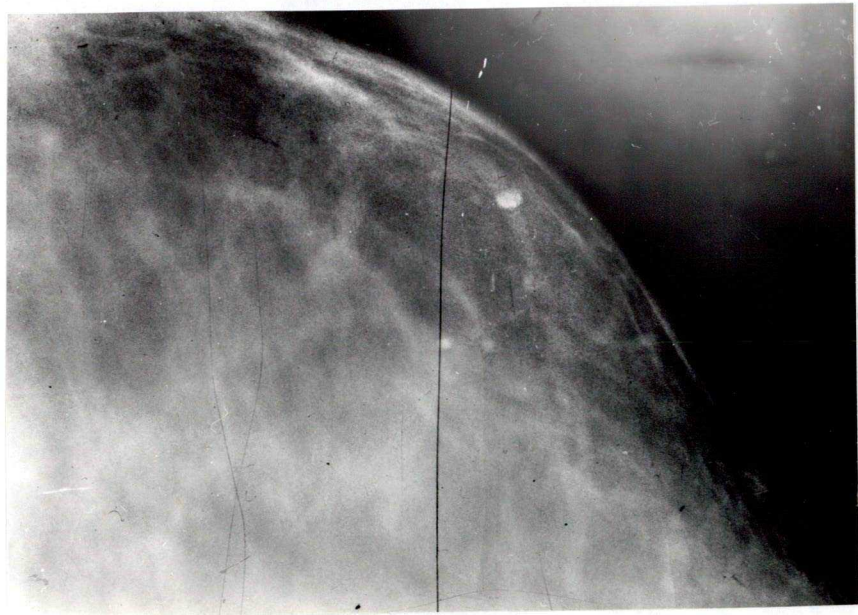


2. ábra: Rosszindulatu emlődaganat mammogramja.
A durva felszíni csomóból kiinduló fonalaszerű nyulványokat figyelhetünk meg.

illetve rosszindulatu daganatok kalcifikációinak mam-
mográfiai megjelenése annyira jellegzetes, hogy a mam-
mográfia mellé kiegészítő diagnosztikai eszközként
használták /3., 4. ábra/, /21, 26, 30, 41/.

Mint hogy gyakran előfordul, hogy a mammogramon tumor-
árnyék egyáltalán nem figyelhető meg, csupán a kalci-
fikációk láthatók ilyen esetekben, a röntgenológusok
egyedül a kalcifikációk formájára és térbeli eloszlásá-
ra szorítkozhatnak a diagnózis felállításakor /18, 28,
40, 51/. Természetesen a kalcifikációk makroszkópikus
megjelenési formájára alapított diagnosztikai elválto-
zások bizonyos esetekben nehezen választhatók el /9, 30,
37/, sőt műtéti beavatkozás után visszamaradt heges sző-
vet /46/ vagy meszesedett érfal /32/ Rtg-képe is rossz-
indulatu daganat kalcifikációinak jelenlétét sugallhat-
ja. Ezekből a képekből - melyek téves diagnózis felállí-
tását okozhatják - az alábbiakban néhányat bemutatunk
/5/a, 5/b valamint 6. és 7. ábra/.

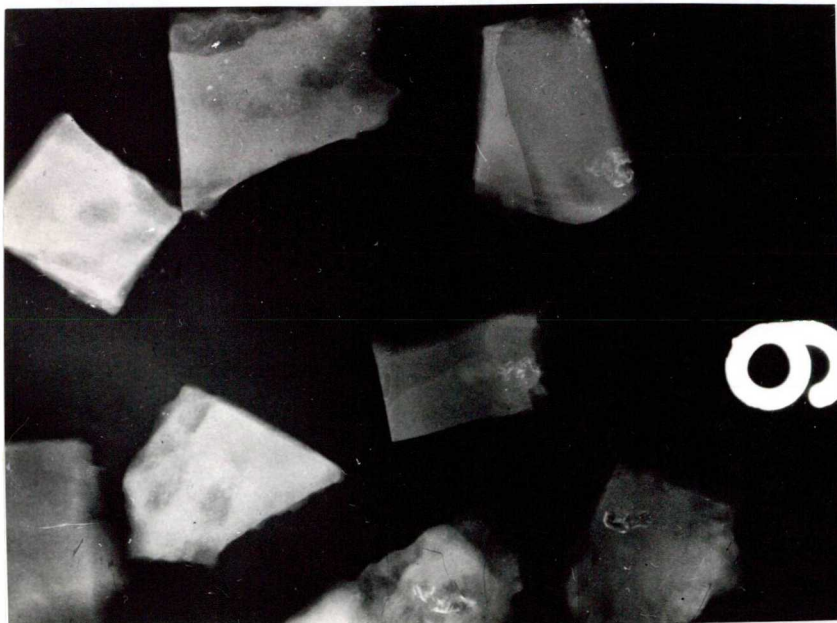
Az ismerttetett tumorfeismerési módszerek hatékonyságát
akkor tudjuk helyesen megítélni, ha a daganat fejlődési
ütemét /mindenkori méretét/ a diagnosztikai módszerek
érzékenységi határával hasonlítjuk össze. Tételezzük fel
egy kezdődő tumort /kezdetben egyetlen, kb 10 um átmérőjű



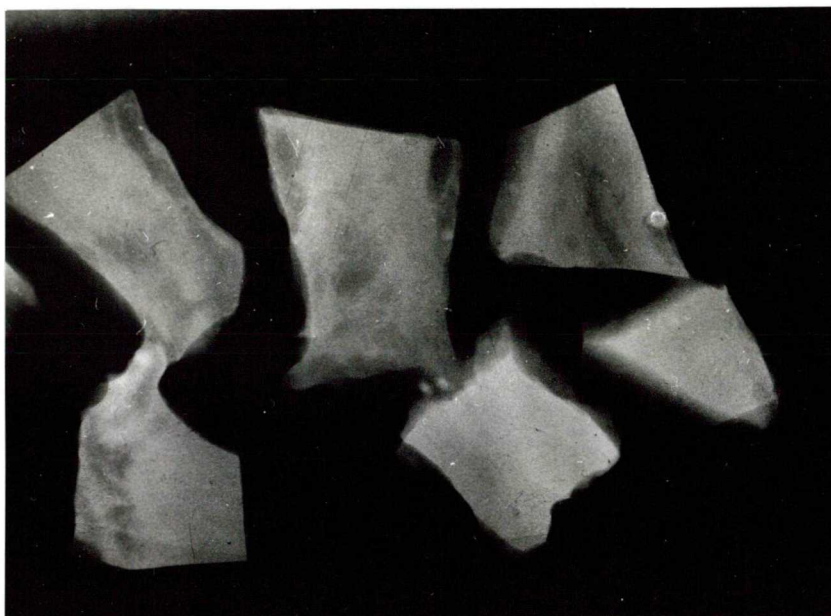
3. ábra: *Kalcifikációk a jóindulatu elmőelváltozásokban. A viszonylag nagy átmérőjű mészsrgők elkülöníthetők egymástól.*



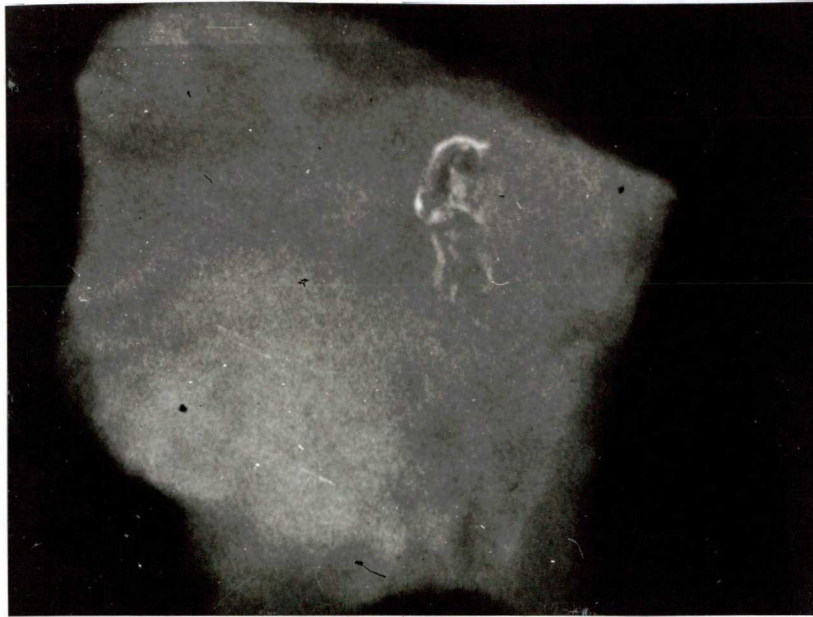
4. ábra: *Rosszindulatu emlődaganat kalcifikációinak Rtg-képe. A mészsrgők kicsik, pontszerűek vagy oválisan elnyúltak és szabálytalanul csoportosulnak. Megjelenésük finom, elszórt sókristályokra emlékeztet.*



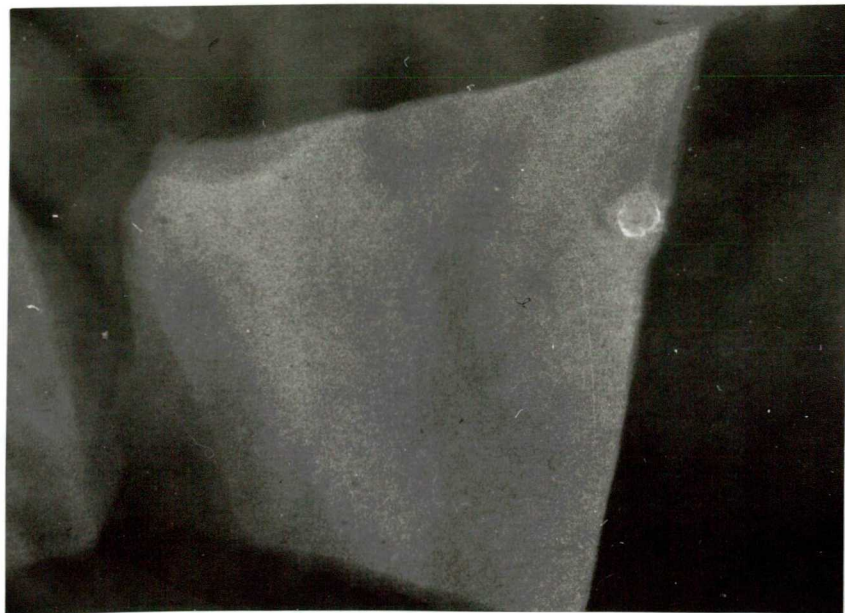
5/a ábra: Sebészi uton eltávolított szövetblokkok Rtg-képe. A rosszindulatu elváltozás jelenlétére utaló kalcifikációk valójában meszesedett ér falában található lerakódások



5/b ábra: Sebészi uton eltávolított szövetbokok Rtg-képe. A rosszindulatu elváltozás jelenlétére utaló kalcifikációk valójában meszesedett ér falában található lerakódások.



6. ábra: Az 5/a blokkok egyikéből kinagyított részlet:
hosszanti irányban elmetezett érdarab



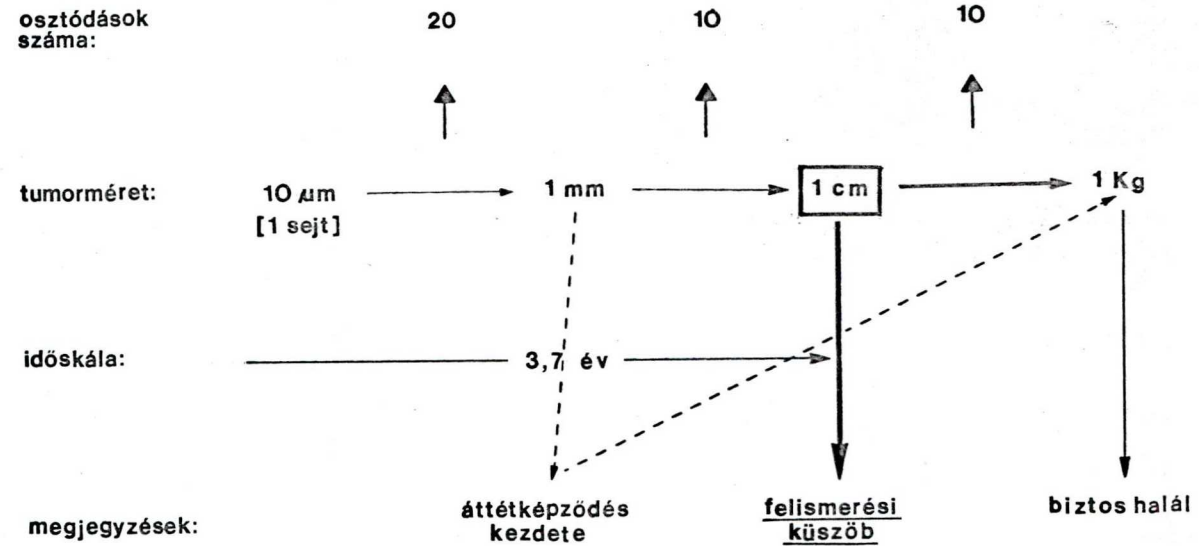
7. ábra: Szintén egy, az 5/b ábrán látható blokk ki-
nagyítása: egy meszes ér keresztmetszeti
Rtg-képe.

daganatsejttel/ és vegyük a növekedésre jellemző tényezőt, a megkettőződési időt 45 napnak /14/. A mellékelt rajzon a tumor növekedését szemléltetjük.

Jól látható a rajzon, hogy az un. korai felismerés /ha sikerül a daganatot a műszerek érzékenységi küszöbén detektálni/ klinikai szempontból már igen késői, hiszen az áttétképződés jóval korábban elkezdődött. Egy emlőrákos nő, ha optimális körülmények között felfedezik a daganatát, már csaknem 4 évig élt együtt a tumoral! Ezen a körülményen még az új metodikai fejlesztések, a xeroradiográfia és a mikrofókusz technika bevezetése sem segített lényegesen /44, 45, 55/. Érthető tehát, hogy a kutatások súlypontja a technikai fejlesztésekről /melyek a korai daganatfelismerést célozzák/ a diagnózis pontosságának növelésére teszünk kísérletet, melytől a különböző típusu emlőbetegségek diagnózisának megbízhatóbbá tétele várható.



Egy rákos daganatsejt fejlődése



II. CÉLKITÜZÉS

A már felismert daganat előbb-utóbb műtétre kerül azon kevés esettől eltekintve, ha egyértelműen igazolható az elváltozás jóindulatusága. A sebészi beavatkozás lehet radikális, mikor is a daganatot a környező egészséges szövettel együtt eltávolítják, vagy csak tájékoztató jellegű, mely során vékony tűvel a daganat anyagából szövetmintát vesznek. Mindkét esetben a diagnózist fénymikroszkópos szövettani vizsgálat alapján állítják fel. Ilyen módon az orvos tévedésére kis esély van: a nem teljesen összhangban álló statisztikai adatok szerint csupán minden huszezredik diagnózis bizonytalan, mégis a modern diagnosztikai szemlélet megköveteli a több, egymást kiegészítő, egymástól független módszer alapján történő kórisme felállítást /5, 49/. Ez annál is inkább indokolt, mert az idézett statisztikák csak az ismételt diagnózis alapján meghatározott tévedéseket tartalmazzák: ugyanazon szövetmintát egy orvos többször, illetve több orvos egymástól függetlenül vizsgálta meg. Arra, hogy egy diagnózist a beteg további sorsa hogyan erősít vagy cáfol meg, csak minimális adat van.

Egy független kiegészítő diagnosztikai módszer alapjául

viszont éppen a fent említett kalcifikációk szolgálhatnak. Korábbi, bár meglehetősen kisszámú irodalmi adat alapján úgy tűnik, hogy az emlődaganatok mikrokalcifikációinak elemi összetétele különbözik a jó, illetve rosszindulatu elváltozásokban /2, 7, 10, 22, 23, 24/. A rendelkezésre álló adatok kis száma azonban nem tesz lehetővé statisztikailag megalapozott állítást. Minthogy az észlelt különbségek kellő számú kísérleti adattal alátámasztva egy objektív diagnosztikai módszer alappillérei lehetnek, munkahipotézisként elfogadva az eddigi irodalmi adatokat, célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk: az emlőkalcifikációk elemi összetételének meghatározása felhasználható-e önálló vagy kiegészítő diagnosztikai eljárásként? Célunk továbbá - pozitív válasz esetén - a rutin diagnosztikai eljárás kidolgozása is. Ehhez konkrétan szükséges, hogy:

- különböző típusu emlőbetegségekben a mikrokalcifikációk elemi összetételét meghatározzuk
- a tumor jó vagy rosszindulatusága és a kalcifikációk elemi összetétele közötti korrelációt megállapítsuk:
- egy olyan módszert dolgozzunk ki, mely lehetővé teszi a mikrokalcifikációk elemi összetételének meghatározását, valamint a diagnózis hagyományos eszközökkel történő közel egyidejű felállítását.

A kidolgozandó módszertől elvárjuk, hogy a hagyományos diagnosztikai eljárást lényegesen ne változtassa meg és a kórisme felállításának idejét ne növelje meg.

III. AZ EMLŐBETEGSÉGEK KALCIFIKÁCIÓINAK ELEMI

ÖSSZETÉTELÉT VIZSGÁLÓ KORÁBBI KUTATÁSOK ÁTTEKINTÉSE

1. Az eredmények ismertetése

Munkánk elkezdésekor mindössze 6 publikáció volt ismeretes, melyek az emlődaganatok kalcifikációinak kémiai összetételét vizsgálták /2, 7, 10, 22, 23, 24/. A 6 közlemény, mely szinte mindegyik esetben patológusok, röntgenológusok és anyagszerkezet vizsgálattal foglalkozó szakemberek együttes kutatásának eredménye, lényegében 3 európai kutatócsoport tevékenységét reprezentálja.

A kémiai szerkezetmeghatározás az esetek többségében Rtg-diffrakciós vizsgálattal, néhány esetben elektron-szondás mikroanalízissel történt, míg egy esetben elektrondiffrakció volt az alkalmazott módszer. A szövetben lerakódó, illetve valamilyen aktív folyamattal kiválasztott meszesedések nem nagy egykristály formájában találhatóak, hanem többnyire nekrotikus anyagba ágyazott mikrokristályokból álló góccok, vagy ritkábban teljesen amorf képződmények alakulnak ki. Így a porminták vizsgálatára alkalmazott Debye-Scherrer módszer ezekben az esetekben is jól alkalmazható volt. Kiegészítő technikára, pl.

a mikroszondára a szerzőknek csupán akkor volt szükségük, ha a mikrokristályos anyag aránya az amorf törmelékhez képest kicsi, illetve ha az anyag teljesen amorf volt. A használt metodikák megoszlását az I. táblázatban foglaljuk össze.

Természetesen a Rtg-diffrakciós mérések elvégzéséhez szükség volt a kalcifikációk kipreparálására. Ezt többnyire sztereomikroszkóp alatt végezték, miután a kalcifikációk helyét többirányú Rtg-átvilágítással meghatározták. Az alkalmazott módszeregyüttes /Rtg-átvilágítás, kipreparálás, Rtg-diffrakciós mérés/ felbontása elég rossz, csak 0.5 mm átmérőjű, vagy annál nagyobb meszesedések alkalmasak a vizsgálat elvégzésére.

A II. táblázatból - melyben a szerzők által elért eredményeket foglaltuk össze - jól látható, hogy az elemi összetétel meghatározások során mindössze két típusu meszes lerakódást találtak: Kalcium-oxalátot és apatitot. A két típus betegségek szerinti előfordulása igen jellegzetes, a jóindulatu elváltozásokban kizárólag oxalátot találtak, a rosszindulatu tumorok pedig minden esetben apatitot tartalmaztak. Meg kell jegyeznünk, hogy az alkalmazott módszer jellegénél fogva az elemi összetétel meghatározás mellé a dignózist a tumor megmaradt részéből vett szövetminta alapján állították fel.

I. táblázat: *Az áttekintett cikkekben a szerzők által a kalcifikációk elemi összetételének meghatározására használt módszerek*

Szerző	alkalmazott módszer	vizsgált esetszám
Büsing	Rtg-diff.+mikroszonda	9
Barth	Rtg-diffrakció	1
Hassler	Rtg-diffrakció	3
Ahmed	mikroszonda+el.diff.	1
Keppler	Rtg-diff.+mikroszonda	2

II. táblázat: *Az említett szerzők különböző emlőbetegségek kalcifikációinak elemi összetétele meghatározásában elért eredményei.*

Szerző	betegség típus	apatit tartalmu meszesedések száma	oxalát meszesedések száma
Büsing	jóindulatu elvált.	-	4
Büsing	infiltráló rák	5	-
Barth	jóindulatu elvált.	-	1
Hassler	infiltráló rák	3	-
Ahmed	infiltráló rák	1	-
Keppler	infiltráló rák	2	-

2. Kritikai elemzés

A fent említett eredményeket megállapító szerzőket munkájuk során nyilvánvalóan inspirálta, hogy a kalcifikációk elemi összetétele egy objektív, a megfigyelő személyétől függetlenül meghatározható mennyiség, és ha korrelációban áll a tumor rosszindulatuságával, egy abszolút diagnosztikai eszközt sikerül kifejleszteni.

Az ilyen módon bevezetésre kerülő módszer hatékonyságának biztosítéka, hogy a kalcifikációk előfordulási gyakorisága a mammogramokon elég nagy: 40-50 % a jóindulatu elváltozásoknál és még magasabb a rákos daganatok esetében /8, 30, 45/. A vizsgálati eljárás a diagnosztikai értéken túlmenően alapkutatási értékű információt is hordoz, ugyanis a jó, illetve rosszindulatu daganatok kifejlődése során lezajló kémiai folyamatokra következtethetünk vissza, melyek végül is a különböző precipitátumok kialakulására vezettek.

Mi tehát az oka, hogy a kalcifikációk elemi összetételének meghatározása nem vált nemhogy alapvető, de kiegészítő diagnosztikai eszközzé sem?

Első helyen feltétlenül a kis esetszám a magyarázat: a rendelkezésre álló 15 minta rendkívül kevés az általánosításhoz. Összehasonlításuképpen érdemes megjegyezni,

hogy azokban a közleményekben, melyek a mammográfiás diagnosztikai módszert erősítik vagy éppen alapjául szolgálnak, az esetszám 100-as vagy 1000-es nagyságrendű! /4, 35, 38, 42, 54/.

Második helyen említjük az alkalmazott technikát: egy széleskörű elterjesztésre szánt módszer műszerigényének alkalmazkodnia kell a potenciális felhasználók lehetőségeihez. A Rtg-diffraktométerek és a diffraktogramok kiértékeléséhez szükséges apparátus viszont nem tartozik a kórbonctani intézetek kellékei közé, vagy még inkább: ezek rutinszerű alkalmazása - legalábbis egyelőre - nem várható el a diagnosztizáló orvosoktól.

A következő kifogás a mintaelőkészítéssel kapcsolatos. A kalcifikációk kipreparálása külön művelet, ami a mintaelőkészítései időt jelentősen megnöveli. /Ez különösen mintavételes biopsziák esetén hátrányos, ugyanis ekkor a beteg további sorsát meghatározó kezelés kiválasztására igen rövid idő áll rendelkezésre/. Ezen túlmenően a meszes gócok sztereomikroszkóp alatti kipreparálása nem is mindig sikeres sőt a kellő nagyságu kipreparálható meszesedések száma már igen csekély.

Nem fontossági sorrendben, de végül említjük meg azt a tényt, hogy a preparálás során a kalcifikációk közvetlen szöveti környezete elvész, a diagnózist mindig egy távolabbi szövetrészlet alapján állítják fel. Így esély van rá, hogy a meszes gócok környezetében felállítható diagnózis más, mint a megállapított kórisme, vagyis az eddigiekben megállapított egyértelmű korreláció valójában kérdéses. Ezt a hiányosságot csak súlyosbitja, hogy a meglevő 15 vizsgálati eredményt közlő cikkek egyikében sem történt kísérlet ennek ellenőrzésére!

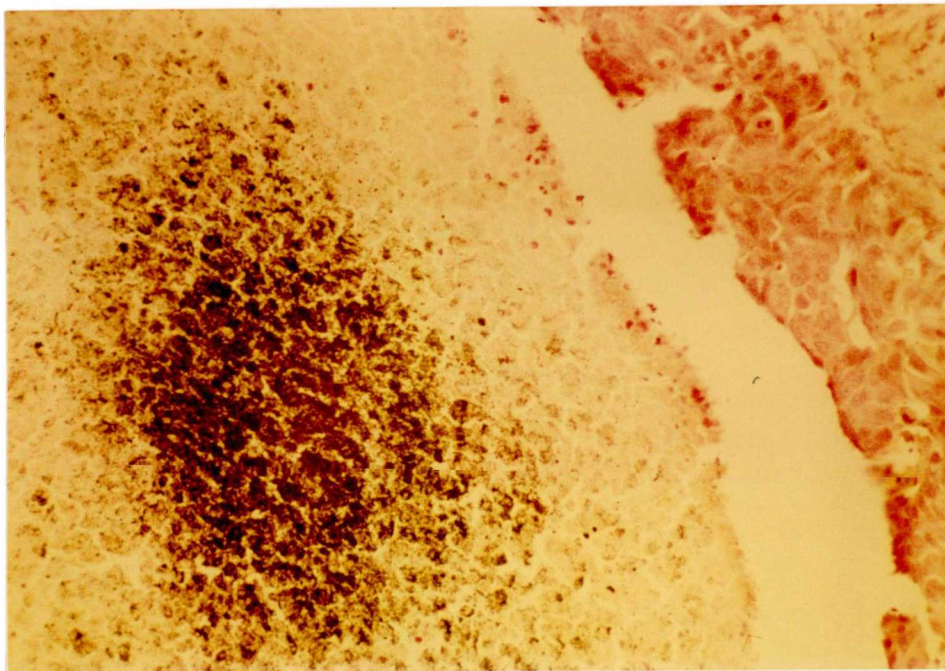
Összefoglalásképpen megállapíthatjuk, hogy a kórisme - elemi összetétel korreláció megállapítása az esetszám intenzív növelésétől várható. Ennek eredményétől függően diagnosztikai segítséget csak olyan módszer adhat, mely közelebb áll a hagyományos diagnosztikai eljárásokhoz és ugyanakkor a kalcifikációk elemi összetételének meghatározását is biztosítja. Ezek az igények legkézenfekvőbben a fénymikroszkópos és mikroanalitikai módszerek kombinálásával elégíthetők ki, ezért az alábbiakban először külön-külön megvizsgáljuk az eljárások kalcium-vegyületek kimutatására és a diagnózis felállítására történő alkalmazhatóságát, majd egy általunk kidolgozott módszert ismertetünk, mely a két típusu vizsgálat előnyeit egyesíti /48/.

IV. ANYAG, MÓDSZER

1. Fénymikroszkópos vizsgálatok

Az emberi szövetek fénymikroszkópos tanulmányozásában csaknem 3 évszázados tapasztalat van, s ez nyilvánvalóan tükröződik az egészséges és kóros szövetek elkülönítésére folytatott vizsgálatok sokrétűségében és megbízhatóságában. Így a diagnózis felállításához jól használható /azegyébként szintelen szövet megjelenítésére szolgáló/ általános festési eljárásokon túlmenően /pl. hematoxin-eozin festés a sejtmagok és a citoplazma feltüntetésére/ számos speciális eljárás ismert, melyek a különböző kémiai összetételű precipitátumok kimutatására alkalmasak. A kalcium-vegyületek kimutatására szolgáló - pl. Kossa /27/ - reakciók viszont nem tesznek különbséget a különböző típusú vegyületek között, így bár az általános meszesedés mértékét jól ábrázolják /8. ábra/, a módszer mégsem alkalmas a célkitűzésben megfogalmazottak teljesítésére.

Mint ahogy a HxE festett készítményeken a meszesedett göcök még felismerhetők, vizsgálataink egy részében /a meszesedések formájának, megjelenési gyakoriságának meghatározása érdekében/ a rutin fénymikroszkópos eljárást alkalmaztuk, melyet az alábbiakban részletezünk.



A kalcium tartalmu depozitumok sötét szemcsék formájában figyelhetők meg. A szöveti struktúra csak nehezen azonosítható, így a diagnózis felállításához konzekutív H&E festett metszet készítése szükséges.

A sebészi beavatkozás után az eltávolított szövet különböző részeiből kivágott kisméretű /5-10 mm/ szövetdarabokat 48 óráig 0.15 M foszfát pufferrel pufferelt 4 %-os formalinban /pH 7.0/ fixáltuk. A blokkokat a fixálást követően felszálló acetonsorban vizetelenítettük, majd a beágyazás előtt az acetont benzolra cseréltük le. A 6 % méhviasz tartalmu paraffinba történő beágyazás /56 °C/ után a 0 °C-ra lehűtött blokkokból Reichert mikrotómmal 4-5 um vastag metszeteket készítettünk, amiket desztillált víz felszínére történő usztatással simítottunk ki és a tárgylemezre történő felvétel után 56 °C-on megszárítottunk. A metszetek deparaffinálását 20'-ig benzolban történő áztatással végeztük, majd a bezolt alkoholra cseréltük le, végül desztillált vizes öblítést végeztünk. Festésre Mayer hematoxin oldatot használtunk /3'/, melyet 10'-es vizes áztatás követett, végül 1 %-os eozin festést /3'/ és csapvizes mosást alkalmaztunk. A metszetek viztelenítését felszálló alkoholsorban végeztük, az alkoholt xilolra lecseréltük, végül kanadabalzsamot használva, fedőlemezzel a metszeteket lefedtük. A fénymikroszkópos vizsgálatokat Opton, illetve Zeiss Amplival típusu mikroszkóppal végeztük.

2. Mikroanalitikai vizsgálatok

A pásztázó elektronmikroszkópban végzett mikroanalitikai vizsgálatok során a mintára jellemző kémiai információt a bombázó elektronnyaláb hatására a mintából kilépő Rtg-sugárzás energiaspektrumának meghatározásával kapjuk /13/. Az újabb készülékekben a gerjesztő sugárnyaláb igen szűk keresztmetszetükre fókuszálható, így ez az eljárás igen alkalmas arra, hogy a meszes területek szelektív gerjesztésével az ezekre jellemző analitikai információt kapjuk meg. A pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok emellett morfológiai információt is nyújtanak, de ezek hátránya, hogy a fénymikroszkópban megszokott szövettani festés itt nem alkalmazható, vagyis a diagnózis felállítása a hagyományos módon nem végezhető el. Bár a scanning elektronmikroszkópok elterjedésével egyre erősebb törekvés figyelhető meg, hogy ezt a technikát diagnosztikai célra önállóan alkalmazzák /9, 11, 12/, a pásztázó mikroszkópos képek ma még nem nélkülözhetik a fénymikroszkópos háttérrel.

Az elektronmikroszkópos mintaelőkészítést, ha analitikai vizsgálatok elvégzése a cél, az ionkimosódás megakadályozására különleges eljárások szerint kell végezni, mely esetünkben azáltal egyszerűsödik, hogy a rosszul oldódó

illetve oldhatatlan csapdékok /melyeket kimutatni szándékozunk/ a kémiai fixálásnak jórészt ellenállnak. Így a konkrétan alkalmazható, s vizsgálataink egy részében használt egyszerűsített mintaelőkészítési eljárás a következő:

5-10 mm-es szövetdarabkákat 48 óráig 0.15 M foszfát pufferrel pufferelt 4 %-os neutrális formalinban fixáltunk, majd a víztelenítést felszálló alkoholsorban végeztük. Az alkoholt tiszta acetone-ra - több lépésben - lecseréltük, majd a mintákat folyékony széndioxidon keresztül kritikus ponton kiszáritottuk. A kiszáritott mintákat elektromosan vezető ragasztóval a mintatartóra rögzítettük, majd vákuumpárológatóban vékony fémréteggel bevontuk.

A fénymikroszkópos mintaelőkészítési eljárással összehasonlítva látható, hogy csak párhuzamos mintaelőkészítéssel kaphatjuk meg egyszerre a kívánt analitikai és a diagnózis felállításához szükséges morfológiai információt. Mint már említettük, ez viszont azzal a hátránnyal jár, hogy a vizsgált kalcifikációt kiszakítjuk abból a környezetből, ami a kórisme felállítására szolgál, ezért az analitikai és fénymikroszkópos eljárások közötti szakadékot más módon, egy olyan metodikával

próbáljuk áthidalni, mely lehetővé teszi ugyanazon preparátum mindkét módszerrel történő megvizsgálását. Ezt ismertetjük az alábbiakban.

3. Kombinált fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatok

A fixálást, víztelenítést, festést a fénymikroszkópos metodika szerint végeztük, a mintaelőkészítési procedura utolsó lépései viszont az elektronmikroszkópos mintaelőkészítésre jellemzőek. A fénymikroszkópos vizsgálatot az ilyen módon összetett mintaelőkészítési folyamatot megszakítva, az elektronmikroszkópos előkészítési folyamatra történő áttérés előtt végeztük el, majd utolsó lépésként a pásztázó elektronmikroszkópos és mikroanalitikai vizsgálatokra került sor. Az eljárás részletesen a következő:

A tumorból kimetszett kisméretű szövetdarabkákat 4 %-os formalinban 48 órán át keresztül rögzítettük /pH 7.0, 0.15 M foszfát puffer/, felszálló acetonsorban víztele- nitettük, majd az acetont benzollal helyettesítettük. 6 % méhviasz tartalmu paraffinba /56 °C/ történő beágyazás után a blokkokat 0 °C-ra hűtöttük, belőlük Reichert mikro- rotómmal 4-5 um vastagságu metszeteket készítettünk, me- lyeket desztillált víz felszínén simítottunk ki és



elektronmikroszkópos mintatartóra vettünk fel. Az egyébként átlátszatlan mintatartókat előzetesen bevontuk egy tükröző réteggel ellátott poliészter filmmel /Minnesota Mining and MFG Vo, Scotch film tape N^o 850, golf/, hogy fénymikroszkópos felső megvilágítás esetén is azt a benyomást kapjuk, mintha a minta hagyományos körülmények között lenne átvilágítva.

Eztán a metszeteket 56 °C-on a mintatartóra szárítottuk, 20 percig benzolban történő áztatással deparaffináltuk, végül a benzol alkoholra történő cseréje után desztillált vízzel leöblítettük. A festést a rutin módszernek megfelelően Mayer hematoxilint használva /3'/ végeztük, majd 10 perces vizes öblítést követően 1 %-os eozin festéssel és csapvizes mosással fejeztük be. A metszetek viztelenítése felszálló alkoholsorban történt, majd a végső oldatot xilolra cseréltük le és celloxin lakkos lefedést végeztünk. A fénymikroszkópos vizsgálatokat ezután Opton PM II. típusu mikroszkóppal végeztük a felső megvilágítási rendszert használva, mely során a diagnózist felállítottuk és a meszes gócok helyét meghatároztuk.

A fénymikroszkópos vizsgálatok befejezésével a minta felszínéről a celloxin lakkot 3 perces acetonos áztatással eltávolítottuk, a metszeteket vákuumpárológatóban kiszáritottuk s vékony rézréteggel párológatás útján bevontuk.

A pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok végzésére immár alkalmas mintát JEOL JEM 100 B típusu mikroszkópban ASID-I pásztázó feltét alkalmazásával vizsgáltuk, s a fénymikroszkópos képek alapján a meszes depozitumokat azonosítottuk. A mikroanalitikai vizsgálatokat EDAX 183 B detektor és KFKI ICA 4k sokcsatornás analizátorból álló Rtg-analizátor egységgel végeztük el /47/. A pásztázó mikroszkópos, illetve mikroanalitikai vizsgálatok paraméterei: 40 kV gyorsító feszültség, 200 nm nyalábátmérő, 35° minta döntési szög, 100-400 s analízis idő. A lyukszalagon tárolt spektrumok további feldolgozását TPA 11/40 számítógépen végeztünk el.

V. EREDMÉNYEK

1. Fénymikroszkópos vizsgálatok

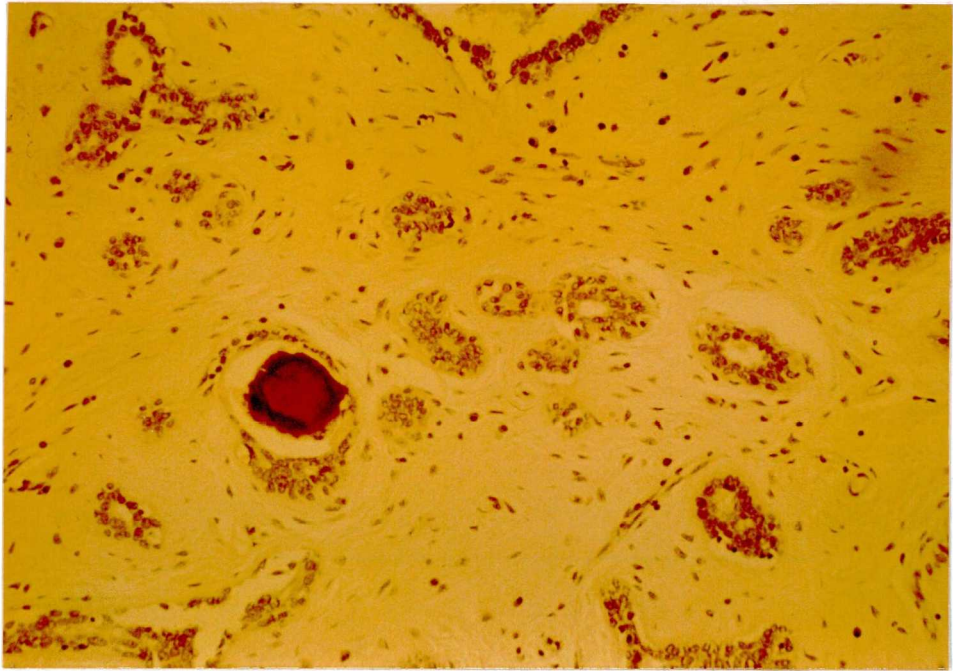
Összesen 68, emlőműtétekből származó daganatot tanulmányoztunk s a diagnózist mindegyik esetben fénymikroszkópos vizsgálat alapján állítottuk fel. Az esetek 53 %-a rákos elváltozás, a maradék 47 % pedig különböző jóindulatu daganattípus volt. Fénymikroszkópos eljárással az összes eset 58 %-ában sikerült mikrokalcifikációt lokalizálni, melyek betegségek szerinti megoszlását a III. táblázatban foglaltuk össze.

A talált calcifikációk szövettani megoszlása igen változatos volt, melyet néhány reprezentáns kép bemutatásával szemléltetünk /9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ábra/.

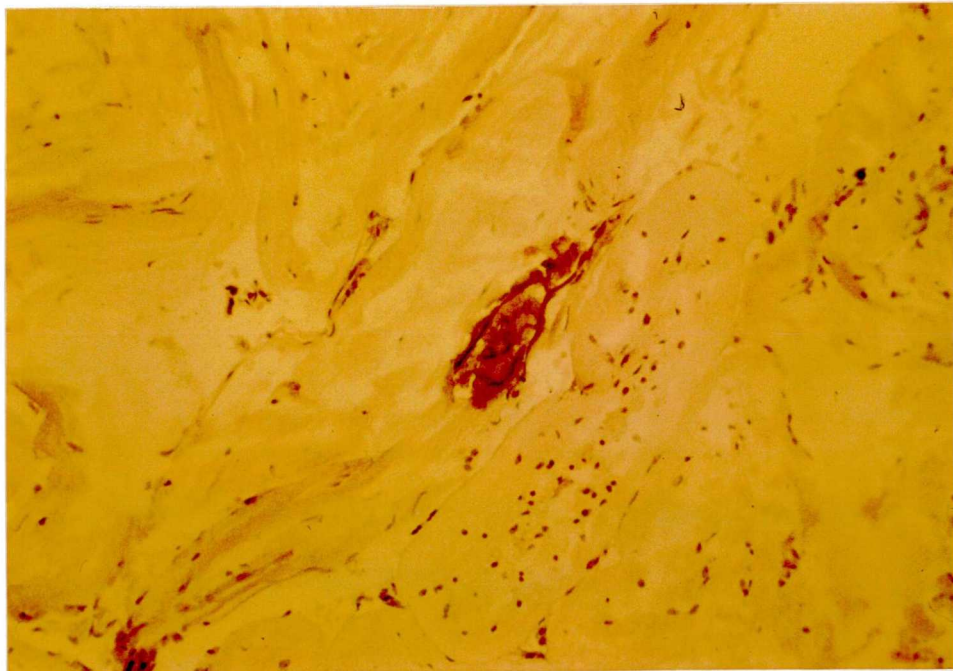
A fénymikroszkóposan látható mikrokalcifikációk szövettani megoszlása tanulmányozásának eredményét a IV. táblázatban foglaltuk össze. A táblázat jól tükrözi a képekről is látható változatosságot: nincs kitüntetett sejttípus, melyhez a calcifikációk kapcsolhatók lennének. Világosan kitűnik továbbá, hogy rosszindulatúnak diagnosztizált esetek nem elhanyagolható százalékában

III. táblázat: *A vizsgált daganatok diagnózis szerinti csoportosítása és a kalcifikációk fénymikroszkópos módszerrel kapott gyakorisága*

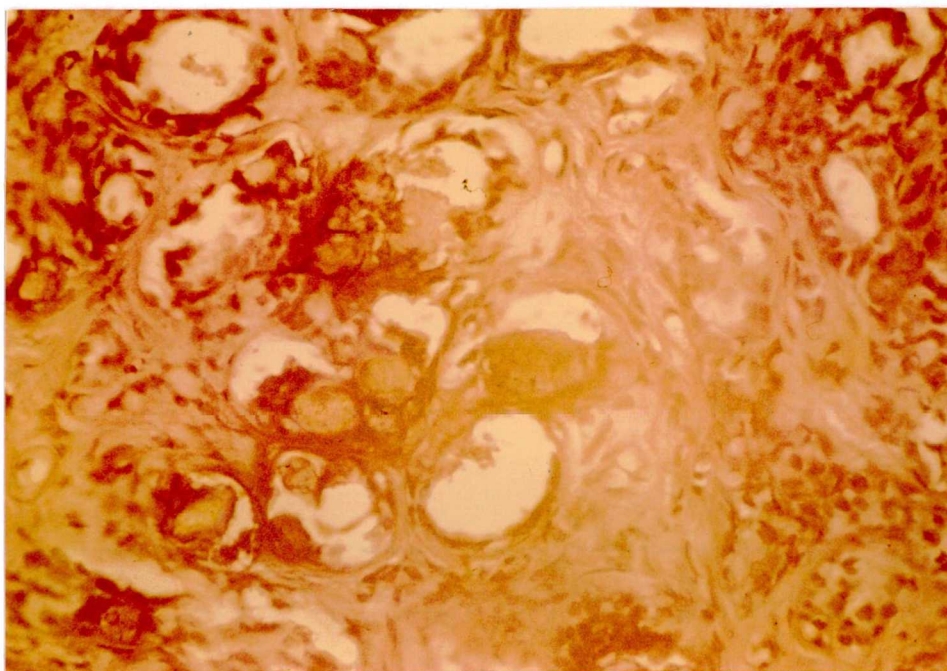
Diagnózis	esetek száma	kalcifikációt tartalmazó esetek száma
Infiltráló ductus carcinoma	35	22 /63 %/
medullaris cc.	1	-
dysplasia mammae	21	15 /71 %/
fibroadenoma	6	2 /33 %/
papilloma	1	1
mastitis	1	-
secernáló emlő	1	-
lipoma	1	-
lipophag granuloma	1	-
Összesen:	68	40



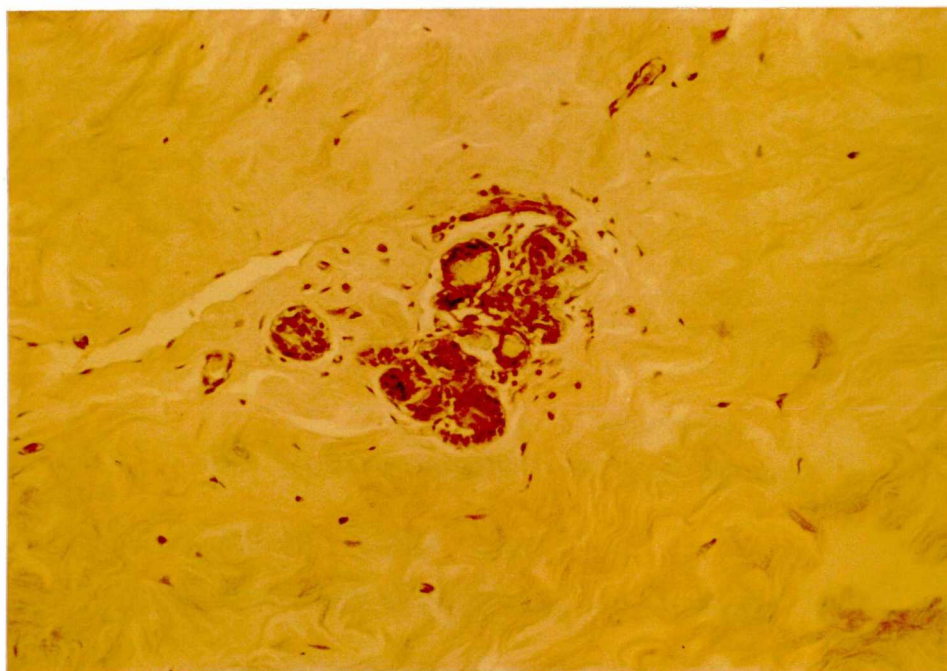
9. ábra: Jóindulatu elváltozás: fibroadenoma. Az ábrán egy intraductalisan elhelyezkedő kerek mészrög figyelhető meg. /Itt és a továbbiakban a mikrokalcifikációk fénymikroszkópos megjelenési formájának jellemzése Azzopardi /6/ nomenklaturáját használjuk/.



10 ábra: Jóindulatu elváltozás: óriás fibroadenoma. A hyalinos kötőszöveti állományban granuláris mészrög látható.

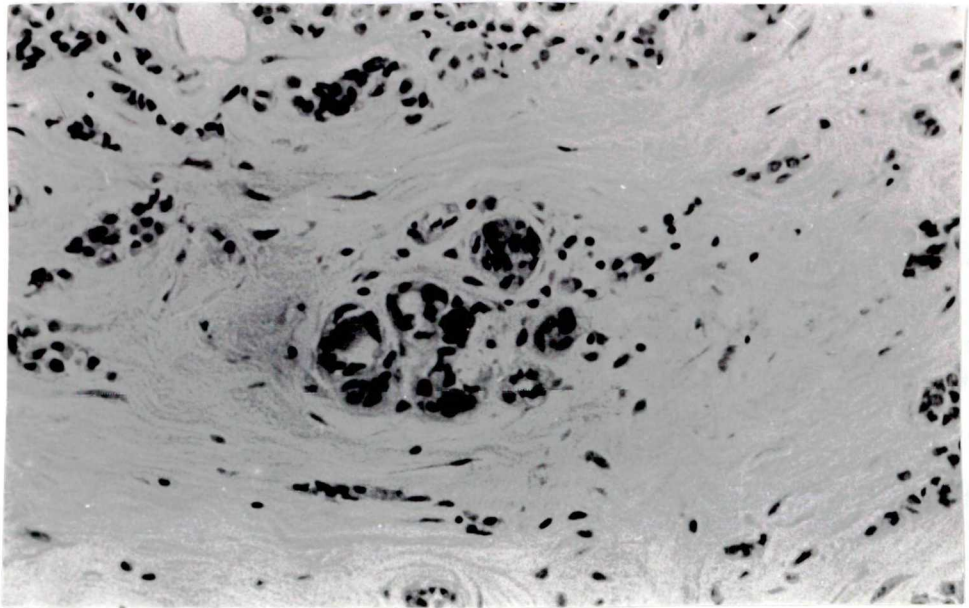


11. ábra: *Jóindulatu elváltozás: dysplasia mammae. A hámsejtek között és intraductalisan kerek kalcifikációk láthatók.*

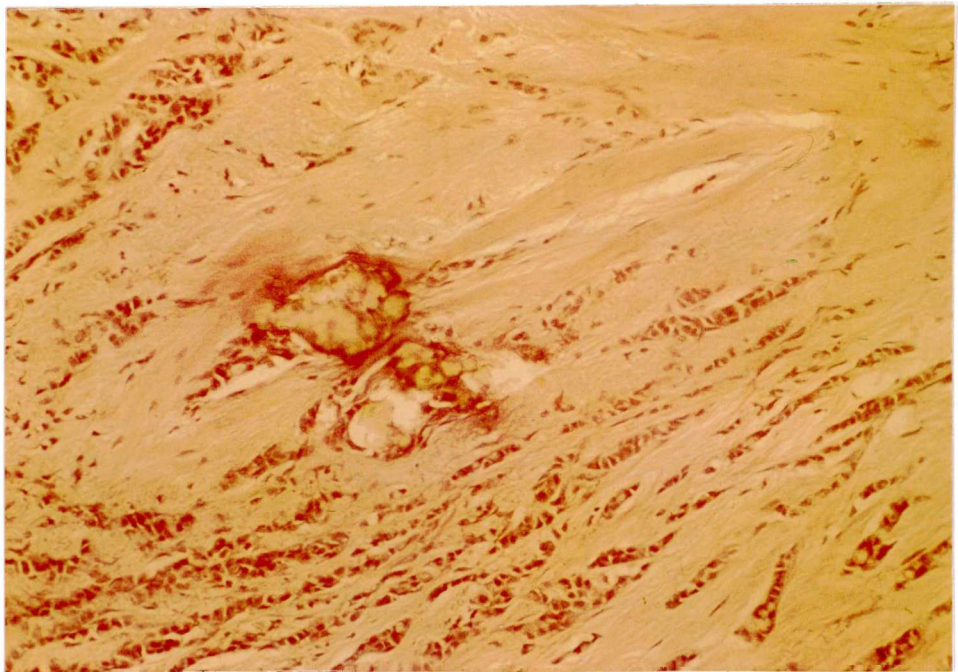


12. ábra: *Infiltráló ductus carcinoma. A tumortól távoli metszetrészletben a kép fibrózisban megnyilvánuló dysplasiára utal. Az acinusokban kerek meszes lerakódásokat láthatunk.*

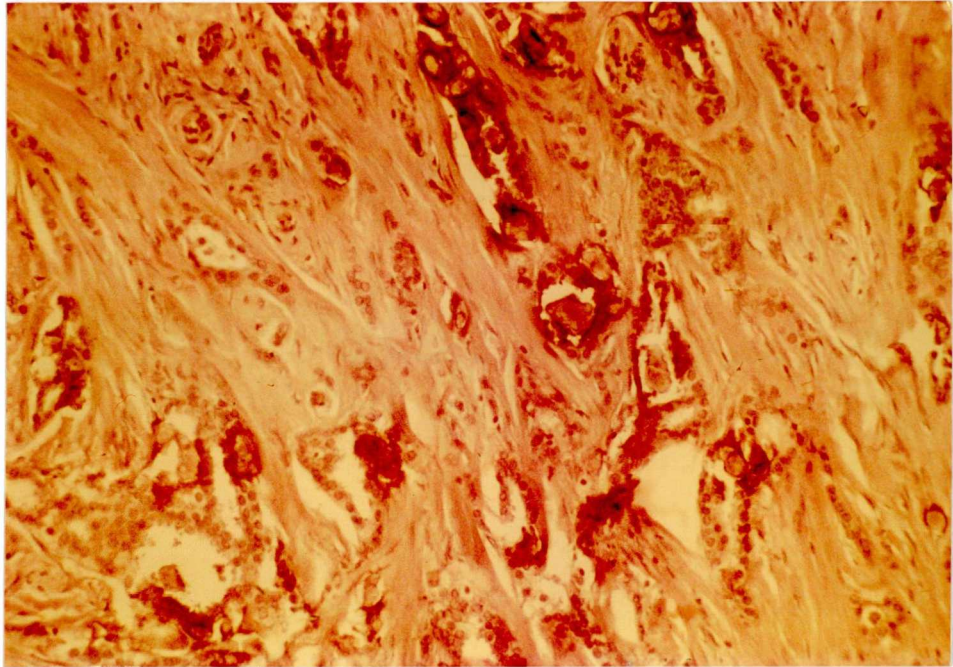




13. ábra: *Infiltráló ductus carcinoma, Szűk keresztmetszetű ductalis formációkban kerek mikrokalcifikációkat figyelhetünk meg.*



14. ábra: *Infiltráló ductus carcinoma. A granuláris kalcifikációk hyalinos kötőszövetben találhatóak, s környezetükben daganatsejt-kötegek láthatók.*



15. ábra: *Infiltráló ductus carcinoma. A daganatsejt-kötegekben és a kötőszöveti állományban egyaránt kerek mészrögök figyelhetők meg.*

IV. táblázat: *Fénymikroszkóposan látható mikrokalcifikációk szövettani megoszlása*

diagnózis	kalcifikációk száma					
	rosszindulatu szövetben			jóindulatu szövetben		
	intraductalisan		kötőszövetben	intraductalisan		kötőszövetben
	lumenben	daganat-sejtek között		lumenben	hámsejtek között	
Infiltráló ductus carcinoma	14	10	12	4	5	2
dysplasia	-	-	-	15	8	4
fibroadenoma	-	-	-	-	1	1
papilloma	-	-	-	-	-	-

rákos elváltozást nem mutató szövetben is található mészlerakódás! /A fordított eset természetesen nem igaz: jóindulatunak diagnosztizált esetben elve nem lehet rosszindulatu szövetrészlet sem kalcifikációval sem nélküle/.

A kalcifikációk fénymikroszkópos jellemzésének részletes eredményét az V. és VI. táblázatban mutatjuk be. A két táblázat a legnagyobb esetszámu jóindulatu betegcsoport /dysplasia mammae/ és az infiltráló ductus carcinoma meszesedéseinek forma szerinti eloszlását mutatja be. A fentebb említettek miatt a rosszindulatu elváltozásokat tartalmazó táblázatban helyet adtunk a jóindulatu szövetrészek meszesedéseinek is, míg a jóindulatu eseteket tömörítő táblázatból az ellentétes értelmű rovat hiányzik.

A táblázatokon alkalmazott rövidítések:

K - kerek,

G - granuláris kalcifikáció.

V. táblázat: A kalcifikációk szövettani megoszlása fény-
mikroszkópos szinten carcinomában.

Lelet- szám	rosszindulatu szövetben				dysplasia-s vagy ep szövetben			
	intraductalisan lumenben amorf a- nyaggal	amorf a. nélkül	daganat sejtek között	kötő- szövet- ben	intraductalisan lumenben amorf a- anyaggal	amorf a. nélkül	hamsej- tek között	kötő- szövet- ben
1273	G	K	G	G	G	-	-	-
1509	G	-	-	-	-	-	-	-
1736	G	-	-	-	-	-	K	-
2574	-	K	K	G	-	-	-	-
3476	G	-	-	-	-	-	-	G
4538	G	K	K	G	-	-	-	-
4601	-	-	-	G	-	-	-	-
4739	-	-	-	-	-	-	K	-
1385	.	K	K	K	-	-	-	-
650	-	-	G	-	-	-	-	-
1477	-	K	G	K	-	-	-	-
1600	G	-	K	K	-	-	K	-
1708	-	-	K	G	-	-	K	G
1880	-	-	-	K	-	-	-	-
1844	G	-	-	G	G	K	-	-
3515	G	-	-	-	G	K	K	-
3644	-	-	G	-	-	-	-	-
3843	-	-	-	G	-	-	-	-
3968	G	-	K	G	-	-	-	-
4312	G	-	-	-	-	-	-	-
4314	-	-	-	-	G	-	-	-
4504	G	-	-	-	-	-	-	-

VI. táblázat: *A kalcifikációk szövettani megoszlása
fénymikroszkópos szinten dysplasiában.*

leletsz.	Intraductalisan			
	lumenben amorf a- nyaggal	amorf a- anyag nél- kül	hámsejtek között	kötő- szö- vetben
763	-	K	K	-
4032	-	K	K	-
4409	G	K	K	-
4595	-	K	-	-
4624	-	K	-	-
4625	G	K	-	-
1119	-	K	K	G
1146	-	K	-	-
1272	-	K	K	-
1382	-	G /?/	K	K
3708	-	K	G	G
4232	-	K	-	-
4410	-	K	K	-
7920	-	K	-	-
7547	-	K	-	G

Az V. és VI. táblázatot szemlélve azok néhány jellegzetességét érdemes külön is kihangsúlyozni.

Ha a carcinomás esetek ductus lumenében található kalcifikációt vizsgáljuk, láthatjuk, hogy az amorf anyaggal álló, illetve amorf anyag nélküli esetek aránya kb. 2, ugyanugy a rosszindulatu vagy az ilyen elváltozást nem mutató szövetrészekben is. Összehasonlítva ezt a számot a dysplasiás esetekével, feltűnő, hogy ott az arány megfordul: minden esetben található amorf anyag nélküli meszesedés, míg amorf anyaggal együtt csak két esetben fordul elő. Ez ellentétes azzal az előzetes várakozásunkkal, hogy a rosszindulatu esetek dysplasiás szövetrészeleiben található kalcifikációk eloszlása a jóindulatu esetekben található eloszlásra hasonlítson!

Ha a hámsejtek /daganatsejtek/ közötti, illetve a kötőszövetben található kalcifikációk megoszlását nézzük, megállapíthatjuk, hogy a carcinomás esetek ép szöveteiben található meszesedések alak szerinti megoszlása itt már igen jól illeszkedik a dysplasiás esetek megfelelő szöveteiben található eloszlásra - hiszen a hámsejtek között a kerek meszesedések, a kötőszövetben pedig a granuláris kalcifikációk dominálnak mindkét táblázatban. Ezt a jellegzetes képet a carcinomás esetek rossz-

indulatu szöveteiben található kalcifikáció eloszlás már nem mutatja; itt a kerek, illetve a granuláris meszek előfordulási gyakorisága közel egyenletes.

Jellegzetes továbbá az amorf anyaggal, illetve az amorf anyag nélkül álló kalcifikációk megjelenése is. Betegségtypustól függetlenül /egy kérdőjeles esettől eltekintve/ minden amorf anyaggal álló meszesedés granuláris szerkezetű, míg az amorf anyag nélküliek kerek - ami megegyezik Azzopardi /osztályozási rendszer alapját képező/ megállapításaival.

Végezetül mutatunk rá arra a tényre, hogy a vizsgált rákos esetek közül kettőben /kb. 10 %/ csak a jóindulatu elváltozást mutató szövetrészben találunk kalcifikációt /4739. és 4314. eset/.

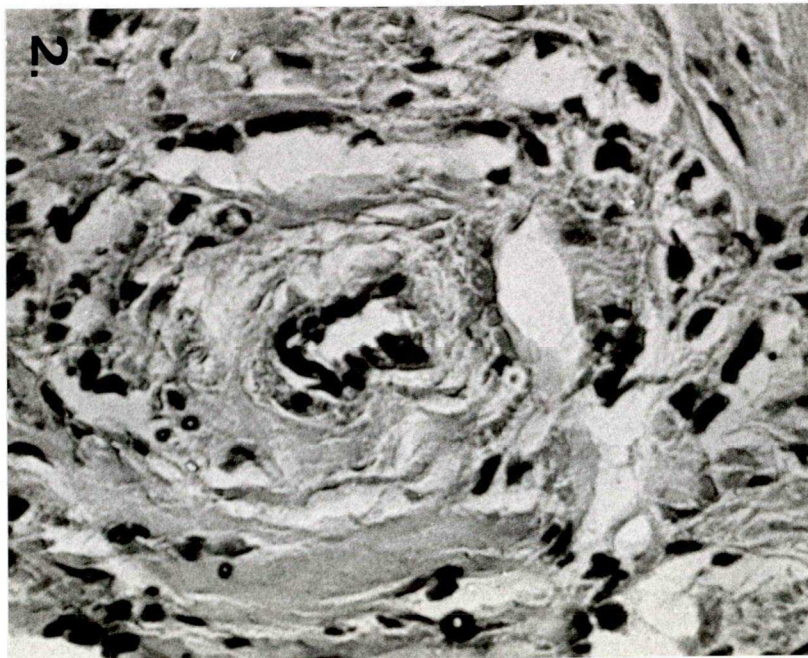
2. Pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok

Munkánk elkezdésekor a módszertani fejezetben részletesen ismertetett hagyományos eljárás szerint dolgoztunk: a fénymikroszkópos vizsgálatot követően az elektronmikroszkópos lokalizációt konszekutív metszetek készítésével végeztük, s eredményeink egy részét így kaptuk.

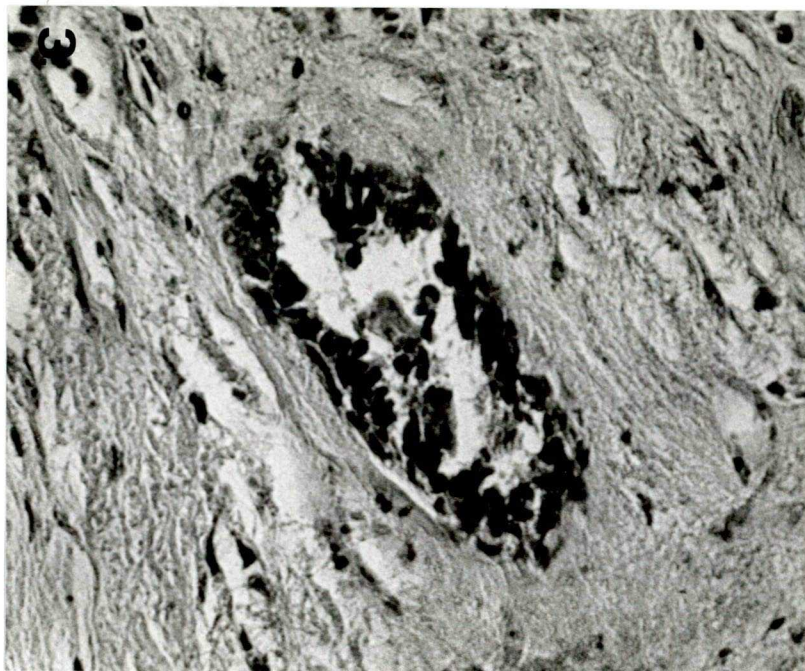
Az adatok feldolgozása során azonban bebizonyosodott, hogy ez a módszer több szempontból sem optimális a kalcifikációk vizsgálatára, ezért többszöri módosítás után kifejlesztettük a kombinált fény- és elektronmikroszkópos technikát, melyet sikeresen alkalmaztunk korrelatív vizsgálatok végzésére. Minthogy a kombinált metodikában alkalmazott felső megvilágítást használó fénymikroszkópos eljárás még nem használatos az orvosi diagnosztikai gyakorlatban, először néhány ilyen típusu kép bemutatásával a technika teljesítőképeségét szemléltetjük /16. 17. 18. ábra/.

Az önálló fénymikroszkópos vizsgálatok végzésén túlmenően a metodika a fény és elektronmikroszkópos képek direkt összevetésének lehetőségét is nyújtja, melyet az alábbiakban mutatunk be /19. 20. 21. és 22. ábra/.

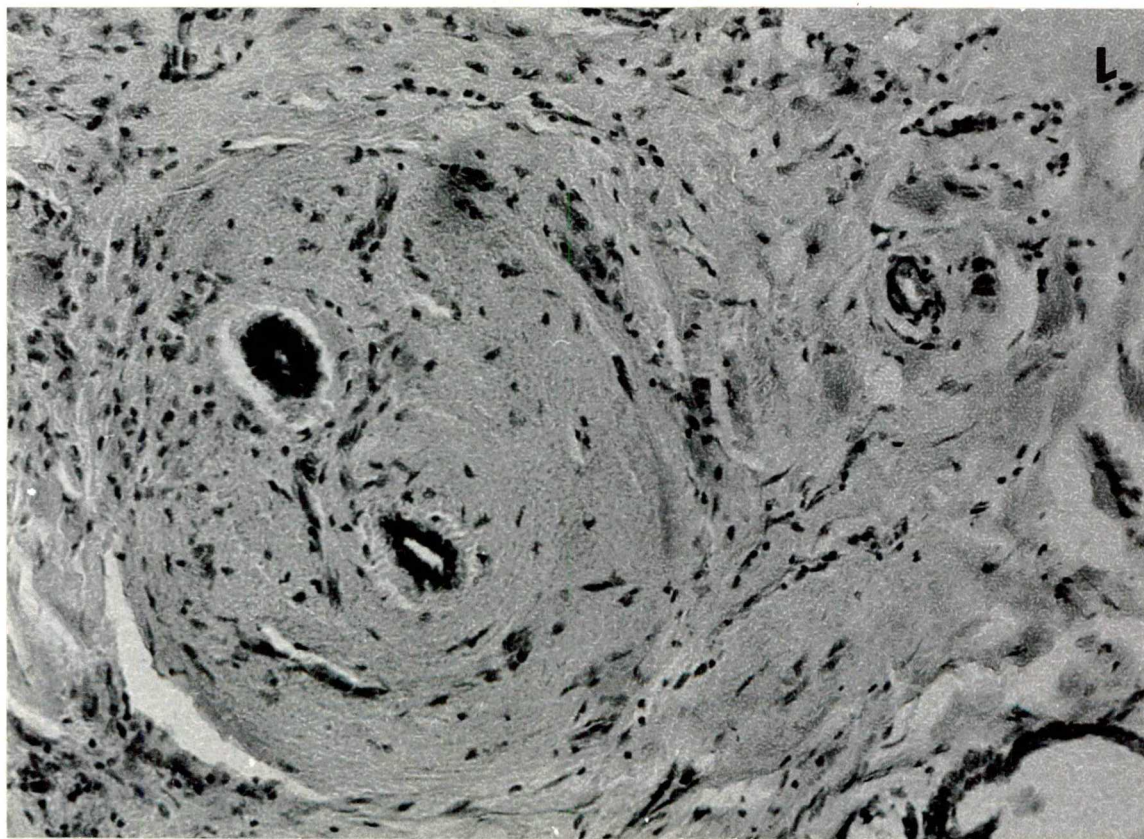
Ezzel a kombinált technikával elértük, hogy minden fénymikroszkópban észlelt kalcifikáció pásztázó elektronmikroszkópban is tanulmányozhatóvá váljon, így a két módszer előnyei egyesíthetők. A hagyományos és az új módszert felhasználva - összesen - 18 tumorban sikerült pásztázó elektronmikroszkóppal kalcifikációt lokalizálni, ami az összes megvizsgált eset 26 %-a. A talált kalcifikációk diagnózis szerinti megoszlását foglaltuk össze a VII. táblázatban.



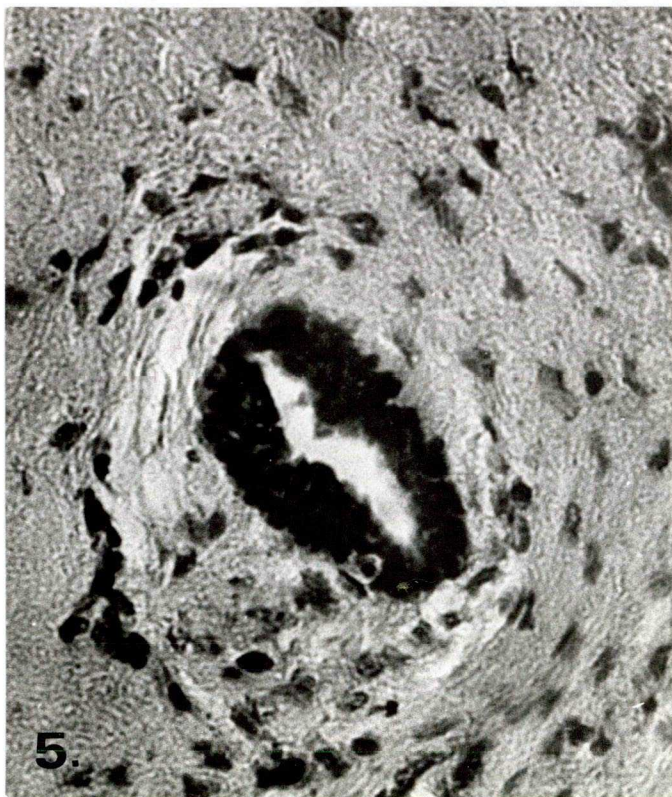
16. ábra: *Dysplasia mammae. Fibrotikus anyaggal körülvett ductus látható. 400x*



17. ábra: *Dysplasia mammae. Szűk keresztmetszetű ductus képe látható. 300x*



18. ábra: *Dysplasia mammae. Fibrotikus anyagba ágyazott kis keresztmetszetű ductusok láthatók. 200x.*



19. ábra:

Dysplasia mammae.
Kötőszövettel kör-
ülvett ductusok
fénymikroszkópos
megjelenése.
H&E festés, 600x



20. ábra:

A 19. ábrán lát-
ható terület pász-
tázó elektronmik-
roszkópban látható
megfelelője.





21. ábra:

A 19-20. ábrákon látható metszet egy másik terüle-
te; fénymikroszkó-
pos kép, 600x.



22. ábra:

A 21. ábra pász-
tázó elektronmik-
roszkópos párja.

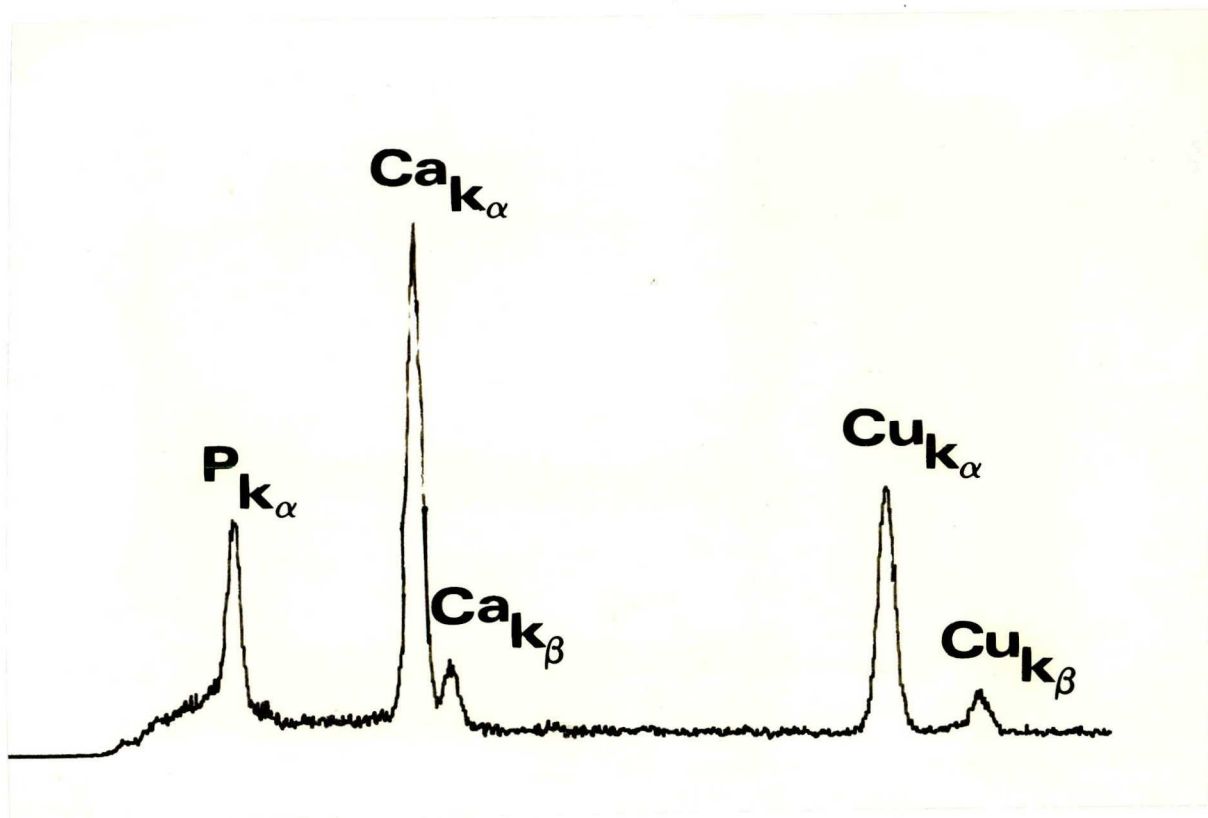
VII. táblázat: *Pásztázó elektronmikroszkóposan lokalizált kalcifikációk diagnózis szerinti megoszlása*

Lelet- szám	diagnózis	Összes esetszám	a fénymikroszkó- posan észlelt esetek %-ában
1600 4538 3476 4739 1273	infiltr. ductus carcinoma	5	23 %
1272 7574 1382 1146 7547 4625 4409 7920 4624 763	dysplasia mammarum	10	67 %
5093 376	fibro adenoma	2	100 %
1737	papilloma	1	100 %

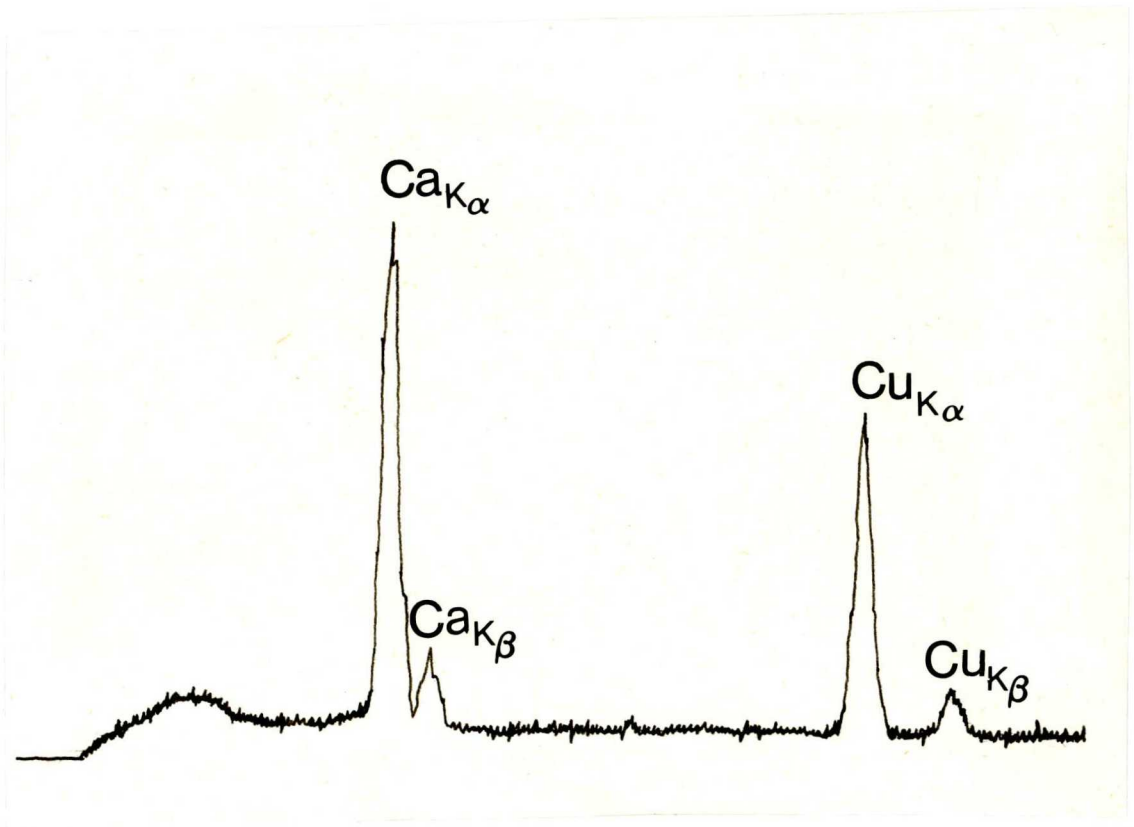
3. Mikroanalitikai vizsgálatok

A pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok során a mikrokalcifikációk lokalizálása után végeztük el azok kémiai elemzését a Rtg-spektrumuk kiértékelésével. Első közelítésben a calcifikációk kémiai összetételének kvalitatív jellemzését adtuk meg, vagyis a különböző betegségekben észlelt calcifikációk analízisével a különböző elemi összetételű calcifikációk diagnózis szerinti eloszlását tanulmányoztuk. Az elemzés során az alábbi típusu spektrumokat kaptuk, amelyeken a rézcsucok a mintatartóból származnak a vízszintes tengelyre a csucok energiáját, a függőlegesre az intenzitását mértük fel /23. 24. és 25. ábra/.

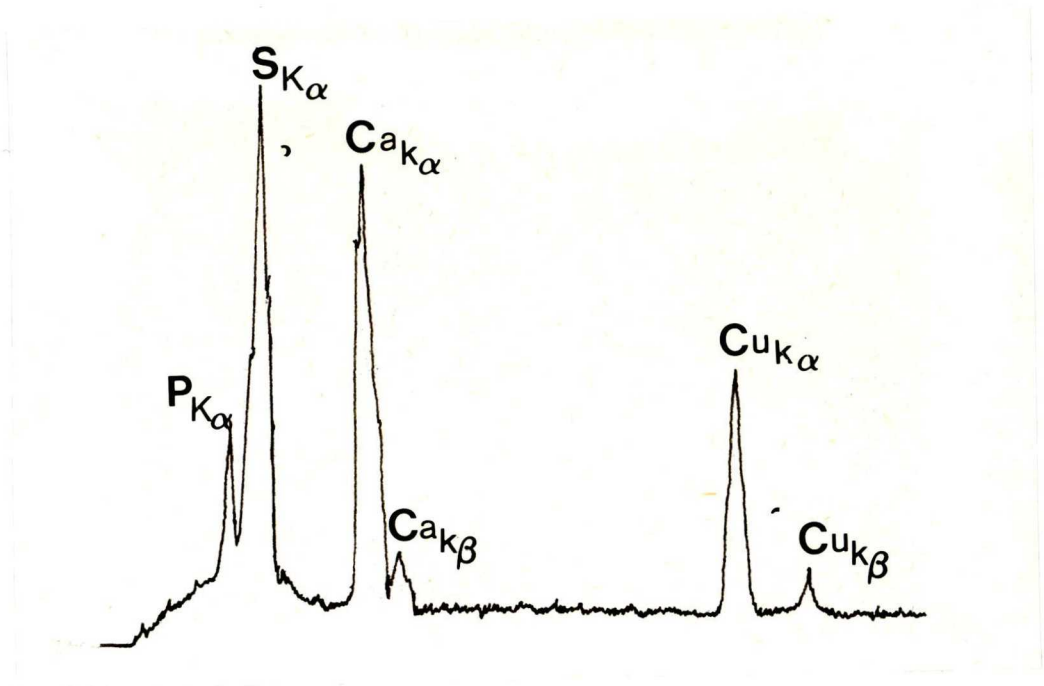
Az általunk használt technika lehetővé teszi a calcifikációk komplett morfológiai jellemzését, melyet az alábbiakban mutatunk be /26. 27. 28. és 29. 30. 31. 32. ábra/.



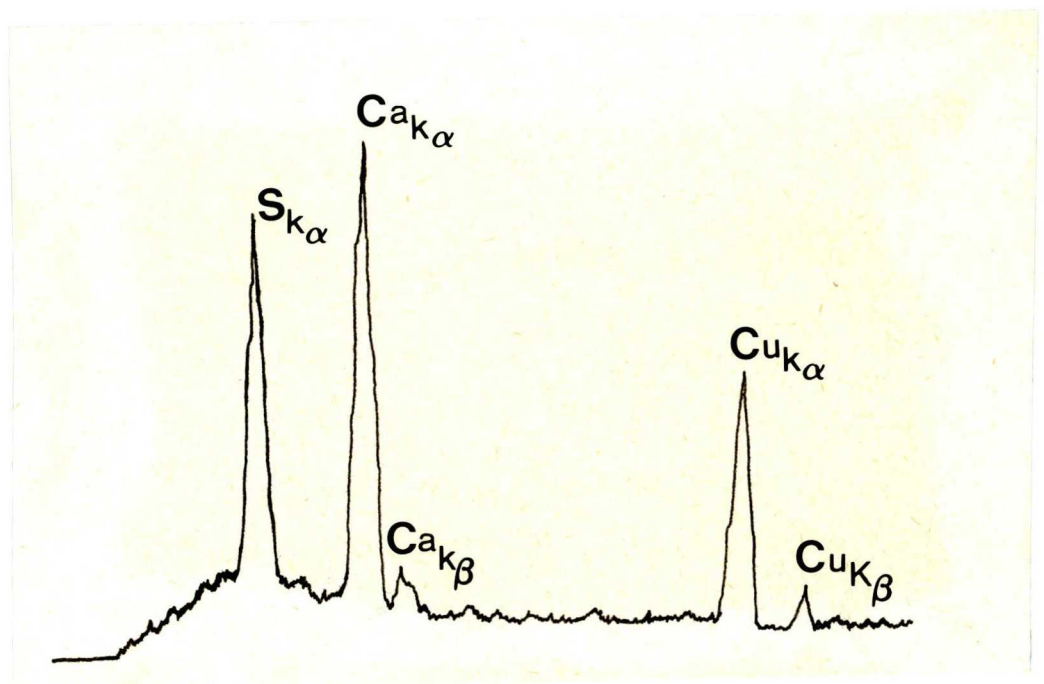
23. ábra: *Carcinomában található kalcifikáció Rtg-spektruma. A vízszintes tengelyre acsucsok energiáját, a függőlegesre az intenzitását mértük fel.*



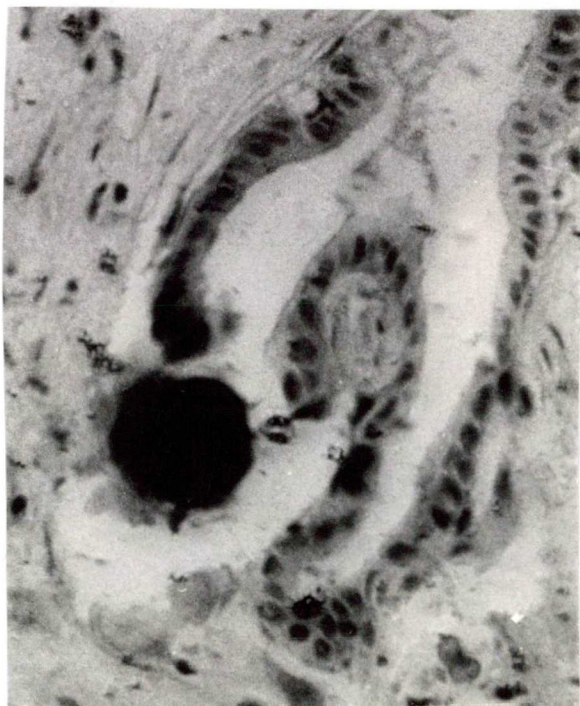
24. ábra: *Dysplasiás elváltozás mikrokálcifikációjának Rtg-spektruma.*



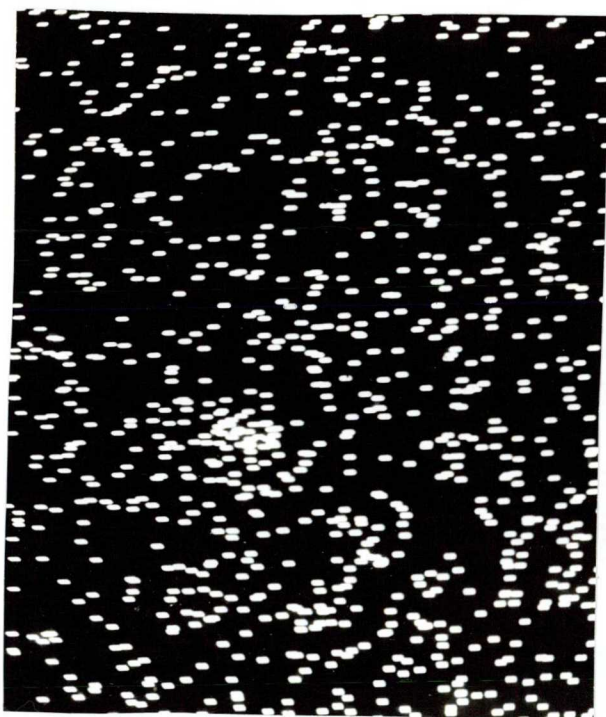
25/a. ábra: Dysplasiában található meszesedés Rtg-spektruma



25/b ábra: Papillómában található meszesedés Rtg-spektruma

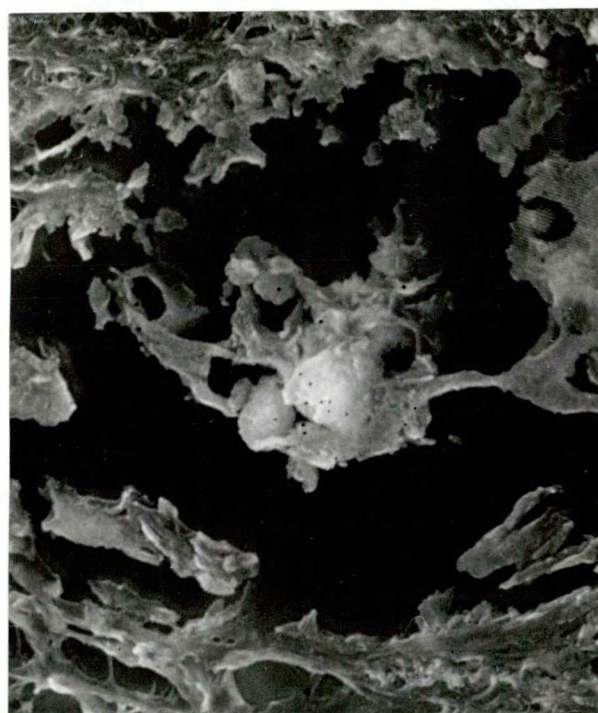
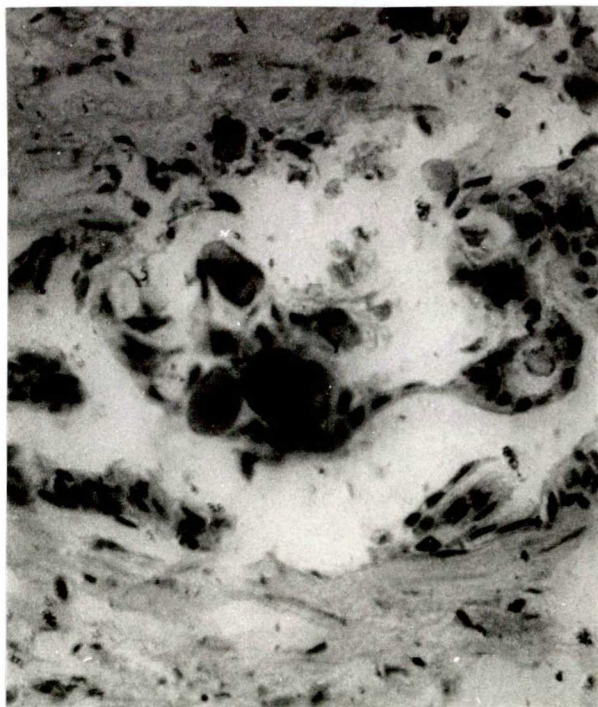


26.-27. ábra: *Ductus-szerű képződmény falán található kalcifikáció fény- illetve pásztázó elektronmikroszkópos képe.*



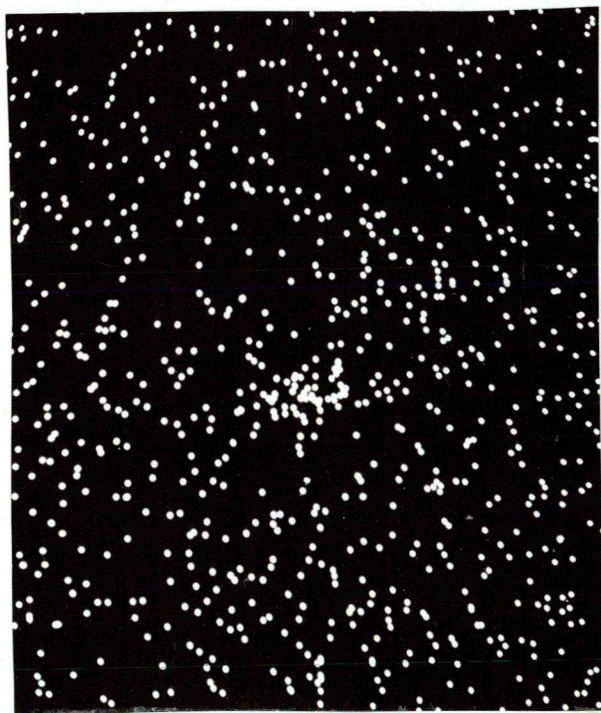
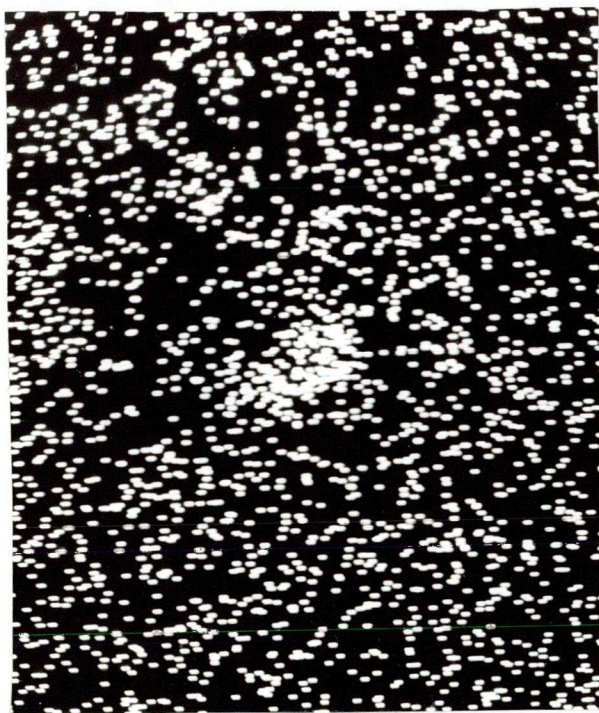
28. ábra:

Az előző ábrákon látható kalcifikáció Ca eloszlásának térképe. Az egyenletesen elosztott pontok a háttérsugárzásának, a pontok besűrűsödése pedig a Ca tartalomnak felel meg.



29.-30. ábra:

Sejttörmelékekkel együtt levő kalcifikáció fény- és scanning elektronmikroszkópos megjelenése.



31.-32. ábra:

A fent látható terület Ca ill. P eloszlásának térképe, mellyel igazolható a depositum Ca, P tartalma.

A VIII. táblázatban összefoglaltuk a kvalitatív vizs-
fálatok eredményét. A két X-el jelölt ductus carcino-
más esetben a kalcifikációt a rosszindulatu elválto-
zást nem mutató szövetrészben találtuk /VIII. táblázat/

Vizsgálataink második részében kvantitatív kiértékelé-
seket végeztünk annak érdekében, hogy meghatározzuk
a kalcifikációk Ca/P tartalom arányát. A számítások
alapja az ugynevezett aránymódszer volt, melyet az
alábbiakban foglalunk össze.

Egy elem - pl. Ca - spektrumban megjelenő intenzitása
 I_{Ca} a koncentrációjával arányos C_{Ca} . Az arányos-
sági tényező az elektronáram intenzitása és egy az
elemre jellemző állandó, ezért jelölhetjük az elemre
utaló index-szel: k_{Ca} . Így pl. az azonos spektrumban
látható Ca és P csucsokra felírhatjuk, hogy

$$\begin{aligned} I_{Ca} &= k_{Ca} \cdot C_{Ca} \cdot i \\ I_P &= k_P \cdot C_P \cdot i \end{aligned} \quad \frac{I_{Ca}}{I_P} = \frac{k_{Ca} \cdot C_{Ca}}{k_P \cdot C_P} = k \cdot \frac{C_{Ca}}{C_P}$$

Természetesen hasonló összefüggéspár írható fel egy má-
sik mintáról kapott spektrum csucsaira is, melyet válasz-
szunk standardnak és a betűket jelöljük egy s index-szel.
Mivel az elektronáram nem szükségszerűen ugyanaz mint ko-
rábban jelöljük i' -vel. Így

VIII. táblázat: *A mikrokalcifikációk elemi összetételének diagnózis szerinti megoszlása*

Lelet- szám	diagnózis	A spektrum csucsai		
		Ca és P	csak Ca	S+Ca vagy S+Ca és P
1600		+		
1600 ^x	infiltráló		+	
4538	ductus	+		
3776	carcinoma	+		
4739 ^x			+	
1273		+		
1272		+		
7547		+	+	
1382	dysplasia	+	+	
1146	mammae	+	+	
7547		+	+	
4625		+		
4409		+	+	+
7920			+	
4624		+		
763			+	
5093	fibro-	+	+	
376	adenoma	+	+	
1737	papilloma		+	+

$$\begin{aligned} I_{Ca}^S &= k_{Ca} \cdot C_{Ca}^S \cdot i' \\ I_P^S &= k_P \cdot C_P^S \cdot i' \end{aligned} \quad \frac{I_{Ca}^S}{I_P^S} = \frac{k_{Ca}}{k_P} \cdot \frac{C_{Ca}^S}{C_P^S} = k \cdot \frac{C_{Ca}^S}{C_P^S}$$

Ezen utóbbi egyenletből k -t kifejezve helyettesítsük a korábbi összefüggésbe

$$\frac{C_{Ca}}{C_P} = \frac{I_{Ca}}{I_P} \cdot \frac{C_{Ca}^S}{C_P^S} \cdot \frac{I_P^S}{I_{Ca}^S}$$

vagyis a mintákban a Ca/P arányt egy standard minta le-
mérésével határozhatjuk meg, ha a standard Ca/P arányát
ismerjük. Az összefüggések annál pontosabbak, minél kö-
zelebb áll a standard összetétele a vizsgált minta ele-
miösszetételéhez, ezért a módszer kalibrálásához
 $Ca_3/PO_4/2$ -t használtunk referencia anyagnak, mely ese-
tében a Ca/P arány: Ca:P = 3:2. 11 mérés átlagából meg-
határoztuk a standardon mérhető csucsintenzitások ará-
nyát is:

$$\frac{I_{Ca}^S}{I_P^S} = 2.62 \pm 0.25$$

Ezekkel az adatokkal mintáink Ca/P koncentráció-aránya
már egyszerű helyettesítéssel számítható.



Eredményeinket a IX. táblázatban foglaltuk össze, melyben feltüntettük, ha a spektrumban csak önálló Ca csucs szerepelt, vagyis az arányszámításnak nem volt értelme. Akkor, mikor egyes kalcifikációk csak Ca sugárzást emittáltak, míg mások /ugyanezen tumorból/ Ca-ot és P-t egyaránt tartalmaztak, mindkét rovatot kitöltöttük. Külön feltüntettük továbbá, hogy a koncentráció-arány számítás hány /különböző kalcifikációról kapott/ spektrum átlagolásával történt.

IX. táblázat: Ca/P koncentrációarány különböző tumor-
beli kalcifikációk esetében

lelet- szám	diagnózis	csak Ca csucs van a spek- trumban	Ca/P koncent- ráció arány	spek. száma
1600 ^x		+		
1600	infiltr		1.50 _± 0.23	5
4538	ductus		1.23 _± 0.15	7
3476	carcinoma		1.43 _± 0.18	8
4739 ^x		+		
1273			1.61 _± 0.19	2
1272			1.94 _± 0.33	4
7547		+	2.06 _± 0.21	2
1382		+	1.96 _± 0.45	4
1146	dysplasia	+	1.64 _± 0.16	1
7547	mammae	+	1.76 _± 0.30	3
4625			2.27 _± 0.55	3
4409		+	1.32 _± 0.26	3
7920		+		
4624		+	2.81 _± 1.34	4
736		+		
5093	finro-	+	1.95 _± 0.50	5
376	adenoma	+	1.77 _± 0.17	1
1737	papilloma	+		

VI. DISZKUSSZIÓ

1. Fénymikroszkópos vizsgálatok

Fénymikroszkópos vizsgálataink során a kalcifikációk átlagos előfordulási gyakorisága 58 % volt, 61 % a rákos elváltozásokban és 56 % a jóindulatu betegségekben. Egyéb szerzők napjainkban közzétett vizsgálati eredményeivel összehasonlítva ez magasnak tűnik: pl. Torell fénymikroszkóposan a vizsgált rákos eseteinek 14 %-ában látott meszes képződményt. Anasztassiades jóindulatu betegségeket vizsgált s 40 %-os átlagos gyakoriságot kapott /3/, mely már viszonylag jól egyezik a mi eredményeinkkel. Az eltérésre számos, nem mindig kontrollálható tényező /pl. mintavételezési mód, a tumor átvizsgált térfogatának a teljes tumormérethez való viszonya, stb./ adhat magyarázatot.

Más a helyzet Torell és munkatársai eredménye esetében /50/. Az adatokat közelebbről vizsgálva kitűnik, hogy kalcifikáció gyanánt nem vették számba sem a kötőszövetben álló kristályokat, sem azokat a lerakódásokat, melyek amorf anyaggal együtt fordultak elő. Ha a VI. táblázatban szereplő adatainkra tekintünk, megbecsülhetjük, hogy ezáltal a meszesedések jelentős részét /kb. 30 %-át/

figyelmen kívül hagyták. Így a kalcifikációk gyakoriságára vonatkozó adatok közül saját eredményeinket tartjuk a valóságos helyzetet jobban leírónak.

Külön kell foglalkoznunk a kalcifikációk alak szerinti, illetve szövettani megoszlásával. Minthogy a két típusu /a kerek és a granuláris/ kalcifikáció egyaránt előfordul jó- illetve rosszindulatú elváltozást mutató szövetrészekben, eleve ki kell zárnunk, hogy önállóan a kalcifikációk fénymikroszkópos megjelenési formája utalna a betegség típusára. Sokkal valószínűbb, hogy a meszesedések látható alakja a keletkezés során lejátszó folyamatokról ad felvilágosítást. Az amorf anyagot is tartalmazó kalcifikáció kialakulása során nyilvánvalóan feltételezhető, hogy nagy mennyiségű amorf anyag /pl. halott sejtmarmadvány/ volt a kristályosodási góc körül, vagy éppen egy elhalt sejtalkotórész szolgált a kristályosodás centrumaként. Így várható, hogy azokban a folyamatokban, ahol intenzív burjánzás és sejtelhalás figyelhető meg /carcinoma/, a granuláris kalcifikációk többségben vannak, melyet az V. és VI. táblázat megfelelő rovatainak összehasonlításával alá is támaszthatunk: a displasiás esetek 33 %-ában, a carcinomás esetek 82 %-ában tudunk granuláris meszesedést megfigyelni!

Problémásabb a carcinomás esetek ép szöveteiben

található meszesedések eloszlásának magyarázata, mivel a granuláris szerkezetű és a kerek meszesedések egyforma arányban fordulnak elő /67 %/ a ductusok lumenében /V. táblázat/. Ebben a vonatkozásban az egyébként ép szövetek jobban hasonlítanak a carcinomás ductusokra, mint a dysplasiás szövetekre! A hámsejtek között, illetve a kötőszövetben található kalcifikációk esetében viszont már a jóindulatu szövetre jellemző eloszlást kapjuk meg. A jelenség legkézenfekvőbb magyarázatát nyerhetjük ha feltesszük, hogy a hámsejtek közötti, illetve a kötőszövetben található kalcifikációk "kötöttek", míg a ductusok lumenében levők /esetleg csak a nekrotikus anyag/ mozgásra képesek. Így ha a carcinomás esetek dysplasiás elváltozást mutató ductus szakaszai a betegség lefolyása során kalcifikáció vagy nekrotikus anyag utánpótlást kapnak a daganatos részekről /mely megtapadhat/ a ductus falán, továbbkristályosodási gócként szerepelhet, stb./, éppen a megfigyelt kalcifikáció eloszlást kapjuk végeredményül.

Összefoglalásul megállapíthatjuk, hogy a "kötött" kalcifikációk eloszlásbeli hasonlósága a carcinomás esetek ép szövetei és a dysplasiás esetek között azt igazolja, hogy a carcinomás esetek tumortól távoli részeiben a kalcifikációk kialakulásában is tükröződő jóindultu

folyamatok zajlanak. Ezért a mesterségesen eredeti helyéről elmozdított /kipreparált/ kalcifikáció jellemzése nem vonatkoztatható egy általánosan felállított diagnózisra, ehhez *in situ* vizsgálatok szükségesek. Ez a megállapítás fokozottan érvényes annak a tükrében, hogy rákos eseteink 10 %-ában csak jóindulatu szövetrészben találtunk kalcifikációt!

2. Pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok

Fénymikroszkópos és az ezt követő pásztázó elektronmikroszkópos tapasztalataink alapján egy olyan elektronmikroszkópos mintaelőkészítés kidolgozása vált szükségessé, mellyel megelőzhető a kalcifikációk közvetlen szöveti környezetből való kiszakítása, ami hagyományos mintaelőkészítést alkalmazva - még konszekutív metszetkészítés esetén is - gyakran előfordul. Elsősorban a kisebb méretű kalcifikációkat tartalmazó rákos esetek során igen gyakran tapasztaltuk, hogy bár a fénymikroszkópos metszetekben - mely a diagnózis felállítására szolgált - a kalcifikációk még láthatók voltak, de a következő néhány metszetből már hiányoztak. További - kalcifikációk kereséséért történő - metszetkészítés esetén pedig az előző szakaszban tárgyalt hibalehetőség áll fenn:

eltávolodunk a diagnózis felállítására szolgáló tartománytól. /A csupán kalcifikációk keresésére történő elektronmikroszkópos procedura egyébként is elfogadhatatlanul időigényes folyamat./ Ezen okok miatt vizsgálatsorozatunk elején a hagyományos előkészítési folyamat után kapott eredményeink egy része nem teljes: a mikroanalitikai vizsgálatot nem minden fénymikroszkóposan felfedezett kalcifikáció esetén tudtuk elvégezni /VII. táblázat/.

Vizsgálataink során kidolgozott és a metodikai részben részletesen ismerttetett új mintaelőkészítési módszerünk illusztrálására szolgálnak a 16-22. ábrák. A 9-15. ábrákkal való összehasonlítás után megállapíthatjuk, hogy az új fénymikroszkópos eljárás során kapott képek minősége nem rosszabb a hagyományos képekénél, viszont a módszerrel lehetőségünk van korrelatív fény- és elektronmikroszkópos képek készítésére, és a kalcifikációkat *in situ*, eredeti környezetükben tanulmányozhatjuk.

A módszer haszna különösen a valamilyen oknál fogva kérdéses esetekben nyilvánvaló. Ilyen pl. a két általunk talált eset /N^o 1600., N^o 4739./: a diagnózis ugyan nyilvánvalóan carcinoma, de a kalcifikációkat csak a tumor térfogatán kívül találtuk meg! A kalcifikációk

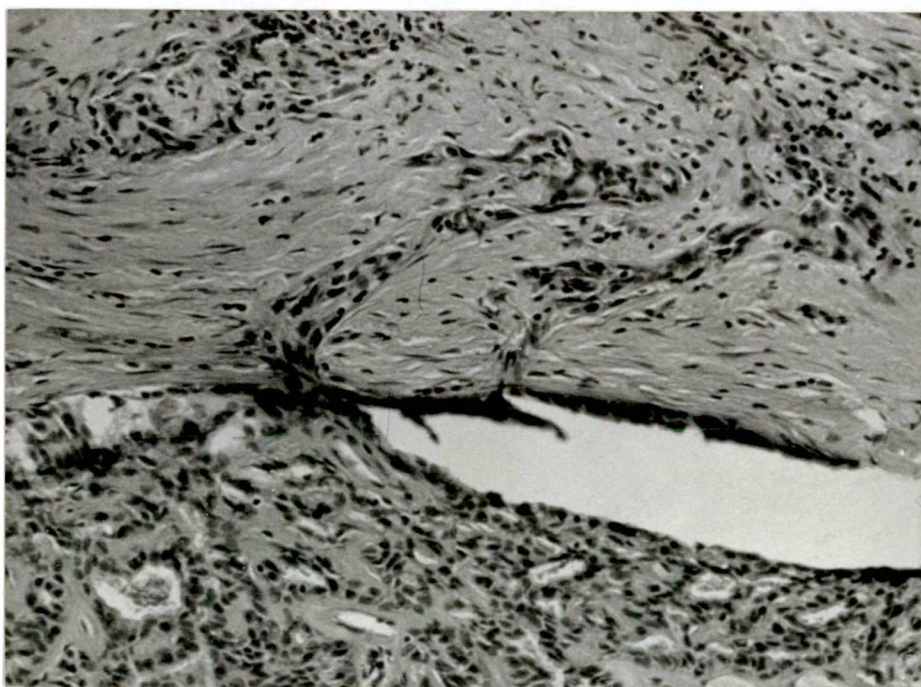
jellemzése és a diagnózis felállítása külön-külön egyértelmű, de a korrelációba állítás már gondot okozhat -, sőt hagyományos prodecura esetén félrevezető lehet.

Másik fajta kérdéses eset lehet, ha már a diagnózis felállítása sem egyértelmű. Egy ilyen képet mutatunk be a 33. ábrán. A diagnózis csak kimerítő fénymikroszkopos elemzés után, akkor sem meggyőzően bizonyult carcinomának. Ilyen esetekben rendkívül fontos a kalcifikáció közvetlen szöveti környezetének ismerete és talán éppen elemi összetételének meghatározása segít a diagnózis eldöntésében.

3. Mikroanalitikai vizsgálatok

A mikrokalcifikációk kvalitatív analitikai vizsgálata során a korábbi irodalmi adatokat csak részben tudtuk megerősíteni, illetve azok egy részét cáfoljuk. /Emlékeztetésképpen: a korábbi adatok tükrében úgy tűnt, hogy a rosszindulatu daganatok apatitot, a jóindulatu elváltozások pedig Ca-oxalátot tartalmaznak./

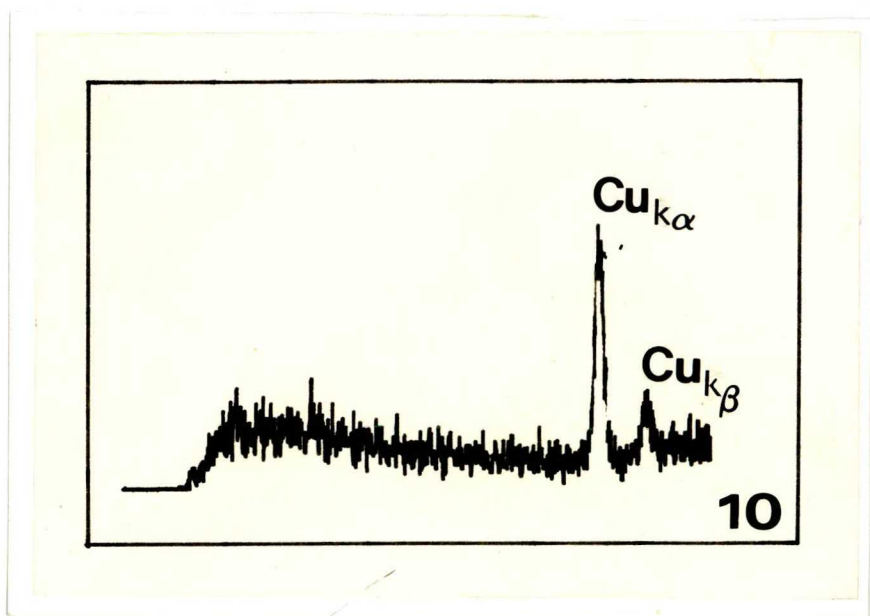
Ha a rákos eseteket nézzük /VIII. táblázat/, megállapításaink jól közelítik, illetve fedik az irodalmi megállapításokat: két esettől eltekintve kalciumfoszfátot



33. ábra: *A rákos sejtek jóindulatu szövetbe történő behatolásának pillanata*

sikerült kimutatnunk. A maradék két esetben is feloldható a probléma, ugyanis itt a tumortól /mikroszkópikus skálán/ távol találtuk a kalCIFIKÁCIÓT, rosszindulatu elváltozást nem mutató szövetrészben. Ha közvetlen szöveti környezettel hozzuk kapcsolatba a kalCIFIKÁCIÓK elemi összetételét, akkor a korrleáció a korábbi eredményekkel már teljes. Itt kell rámutatnunk hangsúlyozottan arra, hogy ez a következtetés csak az általunk használt új módszer szerint volt kapható. Más szavakkal ez azt jelenti, hogy a korábbi eredményeket ismertető szerzőknek "szerencsájük volt": a kalCIFIKÁCIÓK kipreparálása során éppen a "megfeleő" összetételü meszesedésre bukkantak.

Más a helyzet a jóindulatu daganatok kalCIFIKÁCIÓIVAL - itt a korábbi irodalmi adatokat nem tudjuk megerősíteni. A VIII. táblázatot vizsgálva kitűnik, hogy a Ca-oxalát jelenlétére utaló önálló Ca csucs, illetve a Ca és P csucok együttes előfordulása egyaránt tapasztalható volt. 7 esetben /54 %/ mindkét típusu kalCIFIKÁCIÓ előfordult, 2 tumorban /15 %/ csak Ca-oxalát tartalmu meszesedések voltak, s 3 esetben /23 %/ csak Ca-foszfát volt kimutatható. Két tumor esetében kén jelenlétét is ki tudtuk mutatni, mellyel eddigi közleményekben nem találkozunk. Meg kell jegyeznünk, hogy vizsgálatainkkal egyidőben Frappart és munkatársai is hasonló eredményekre



34. ábra: Üres, vezetőréteggel bevont mintatartó spektruma.



jutottak - bár a kén jelenlétét egyes esetekben ők nem tapasztalták /17/.

Egyéb elemek /igy a kén/ jelenlétével kapcsolatban elmondhatjuk, hogy nem valószínű ezek mintaelőkészítés során történő bevitele: különös gonddal jártunk el - analitikai vizsgálatról lévén szó - hogy ezt megakadályozzuk. Igy pl. a mintatartót, a közvetlen hordozóanyagot, valamint a minta feltöltődését gátló fémréteget is aszerint választottuk meg, hogy a mikroszkópból egyébként háttérként kapott Cu sugárzáshoz egyéb karakterisztikus sugárzással ne járuljunk hozzá /34. ábra/.

Vizsgálataink alapján tehát meg kell döntenünk azt az eredeti szigoru formájában megfogalmazott elképzelést, mely szerint a jóindulatu, illetve rosszindulatu kalcifikációk elemi összetételeinek alapján megkülönböztethetők. Az állítás viszont enyhébb formában megfogalmazható, melyhez a IX. táblázatot hívjuk segítségül. Látható, hogy minden carcinomás eset minden kalcifikációja Ca-foszfátból áll ugyanis hibán belül Ca/P koncentrációarány az elméleti értékkel egyezik meg. A jóindulatu esetekben a Ca/P arányok - már ahol vannak - magasabbak! Ez ugy értelmezhető, hogy a Ca-foszfát molekulák létrehozásához képest extra mennyiségű Ca atom állt rendelkezésre, vagyis a depozitumok vegyesek.

Ha figyelembe vesszük, hogy az esetek többségében külön /tisztá/ Ca-oxalát tartalmu meszesedéseket is találtunk, mindenképpen helytálló az a megállapítás, hogy a Jóindulatu esetekben az oxalát csoporthoz kapcsolódó Ca atomok felszaporodása a domináns.

Talán éppen a fénymikroszkóposan kikövetkeztethető intraductalis mész-transzlokáció magyarázza a Ca-foszfát megjelenését a jóindulatu esetekben? Lehet, hogy egy ilyen eredeti helyéről elmozdult Ca-foszfát tartalmu meszesedés köré épült ki az egyébként eredetileg jóindulatunak tartott Ca-oxalát kristály? Eredményeinkkel mindenesetre ezek összhangba hozhatók. Így az eredeti hipotézist úgy módosíthatjuk, hogy a jóindulatu dagantokban található Ca-foszfát kristály megjelenése utalás lehet egy, a háttérben lezajló /vagyis az át nem vizsgált tartományba eső/ rosszindulatu folyamatra. Természetesen ez a feltevés további vizsgálatokat igényel, melyeket az alábbi két fő irányban javasolunk elvégezni:

- Jóindulatu biopsziák teljes átvizsgálásával felderíteni az esetleges "háttér" tumorokat.
- Az átvizsgált jóindulatu esetek utánkövetési vizsgálatával kideríteni, hogy a Ca-foszfátot is tartalmazó tumorok maradék szövetéből fejlődik-e ki később rosszindulatu elváltozás?

A kalcifikációk keletkezésének folyamata csak kevésbé ismert, ezért erre nem térünk ki részletesen. Az irodalomban két fő elképzelés uralkodik: /i/ a kalcifikációk megjelenése aktív kiválasztási folyamat /2/, /ii/ a kalcifikációk a sejt elhalásával kapcsolatos folyamatban alakulnak ki - az irreverzibilis elhalási folyamatot a már sérült plazmamembránon történő nagymennyiségű Ca-beáramlás indítja el /16/. Sajnos, a kevés adatszámunk, valamint az önmagában alkalmazott módszereink nem teszi lehetővé sem hogy a két alternatíva közül választhassunk, sem hogy a kalcifikációk kialakulásakor lezajló, tumor növekedésével kapcsolatos /36/ folyamatokra visszakövetkeztethessünk.

VII. ÖSSZEFOGLALÁS

*Jóindulatu és rosszindulatu emlőbetegségek mikrokalci-
fikációinak elemi összetételét vizsgáltuk, s megállá-
pitottuk, hogy a rákos elváltozások kalcifikációi minden
vizsgált esetben Ca-foszfát tartalmúak; a jóindulatu da-
ganatok egyaránt tartalmazhatnak Ca-oxalátot és Ca-fosz-
fátot. Két jóindulatu betegségben kén jelenlétét is ki-
mutattuk, melyre egyelőre nincs magyarázatunk.*

*A jóindulatu daganatok mikrokalcifikációit megvizs-
gálva megállapítottuk, hogy egy depozitumon belül is
és összességében is a Ca atomok a Ca-foszfát molekula
létrehozásához viszonyítva túlsúlyban vannak, amiből azt
a következtetést vonhatjuk le, hogy a munkahipotézisként
elfogadott elképzelésünk csak gyengített formában igaz:
jóindulatu daganatokban elsődlegesek, de nem kizáróla-
gosak a Ca-oxalát kialakulására vezető folyamatok.*

*Fénymikroszkópos és mikroanalitikai vizsgálataink össze-
vetésével arra a feltevésre jutottunk, hogy a jóindulatu
folyamatokban talált Ca-foszfát kristályok egy észre nem
vett folyamat jelei lehetnek, így ezekben, illetve a jó-
indulatunak diagnosztizált kérdéses esetekben a Ca-fosz-
fát megjelenése indíték lehet egy malignus folyamat gya-
nitására.*

Eredményeink feldolgozása során tehát új hipotézis felállításához jutottunk, melynek igazolására utánkötéses vizsgálatokat, illetve új tumorok teljes térfogatának átvizsgálását javasoljuk - melyre az általunk bevezetett korrelatív fény- és elektronmikroszkópos módszer rutinszinten is alkalmas.

VIII. IRODALOMJEGYZÉK

- 1/ N.J.M. Aarts, C.N.J. Van der Laan
Der Beitrag der Thermographie zur Diagnose des
Brutkrebs
Electromedica, 5:192/1971/
- 2/ A. Ahmed
Calcification in human breast carcinomas: ultra-
structural observations
J. Path., 117:247/1975/
- 3/ O.Th. Anastassiades et al.
Microcalcifications in benign breast diseases
A histological and histochemical study
Path.Res.Pract., 178:237/1986/
- 4/ T. Asch
Mammography: a study of 500 patients
Amer.J.Roentgenol., 90:366/1963/
- 5/ A. Azzarelli et al.
Accuracy of breast cancer diagnosis by physical,
radiologic and cytologic combined examinations
Tumori, 69:137/1983/
- 6/ J.G. Azzopardi
Mammography
Problems in breast pathology, W.B.Saunders Company
Ltd. London, Philadelphia, Toronto, 1979. Ch. 18th
- 7/ V. Barth et al.
Microcalcifications im mammary glands
Natuwiss., 64:278/1977/

- 8/ J.W. Black, B Yung
A radiological and pathological study of the
incidence of calcification in disease of the
breast and neoplasms of other tissues
Brit.J.Radiol., 38:596/1965/
- 9/ H. Buss, H.G. Hollweg
Application of scanning electron microscopy to
diagnostic pathology. A critical review
Scanning Electron Microscopy, 3:139/1980/
- 10/ C.M. Büsing et al.
Differences in microcalcification in breast
tumors
Virchows Arch. A., 393:307/1981/
- 11/ K.E. Carr et al.
SEM in the service pathology: a review of its
potential role
Scanning Electron Microscopy, 3:121/1980/
- 12/ K.E. Carr et al.
Scanning electron microscopy and resin
histology of large bowel biopsies
Scott.Med.J., 26:103/1981/
- 13/ J.A. Chandler
X-ray microanalysis in the electron microscope
North-Holland Publishing Company, Amsterdam,
New York, Oxford, 1977.
- 14/ V.P. Collins et al.
Observations on growth rates of human tumors
Amer.J.Roentgenol., 76:988/1956/
- 15/ C.M. Dominquez, A. Lucas
Investigacion radiografica y quimica sobre di
calcio precipitado en timores del aparato genital femino
Bol.de la Soc.de Anatomia Path., 1:127/1930/



- 16/ J.L. Farber
The role of calcium in cell death
Life Sci., 29:1289/1981/
- 17/ L.Frappart et al.
Composition and structure of microcalcifications
of the breast
Pathol.Res.Pract., 178:126/1983/
- 18/ J.Gershon-Cohen
The importance of X-ray microcalcifications in
breast cancer
Amer. J. Roentgenol., 99:1010/1967/
- 19/ J. Gershon-Cohen et al.
Breast cancer with microcalcifications:
Diagnostic difficulties
Radiology, 87:613/1966/
- 20/ J. Gershon-Cohen, M.B. Hermel
Modalities in breast cancer detection:
Xeroradiography, mammography, thermography and
mammometry
Cancer, 24:1226/1969/
- 21/ J. Gershon-Cohen et al.
The diagnostic importance of calcereous patterns in
roentgenography of breast cancer
Amer.J.Roentgenol., 88:1117/1962/
- 22/ O. Hassler
Microradiographic investigations of
calcifications of the female breast
Cancer, 23:1103/1969/

- 23/ U. Keppler, D. Nitsche
Mikrokalke aus degeneration Gewebe der weiblichen Brust
Naturwiss., 66:214/1979/
- 24/ U. Keppler, R. Stahl
Apatit als Mikrokalk im Mamma-Carcinom
Naturwiss., 68:379/1981/
- 25 T. Kobayashi
Differential diagnosis of breast tumors
Cancer, 33:940/1974/
- 26/ R.H. Koehl et al.
The incidence and significamce of calcifications within operative breast specimens
Amer.J.Clin.Path., 53:3/1970/
- 27/ Krutsay M.
Szövettani technika
Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1980.
- 28/ Von M Lanyi
Formanalyse von 136 Mikrokalkungsgruppen benigner Genese
Fortschr.Röntgenstr., 136:182/1982/
- 29/ R. Leborgne
Diagnosis of tumors of the breast by simple roentgenography. Calcifications in carcinomas
Amer.J.Roentgenol., 65:1/1951/
- 30/ L. Levitan et al.
Calcification in breast disease. Mammographic-pathologic correlation
Amer.J.Roentgenol. , 92:29/1964/

- 31/ W.P.D. Logan
Cancer of the breast: no decline in mortality
WHO Chronicle, 29:462/1975/
- 32/ D.P. MacErlean et al.
Calcification in sclerosing adenosis stimulating
malignant breast calcification
British J. Radiol., 45:944/1972/
- 33/ Mágori A. és mtsai.
Konkrementumok a vese bazális membránjában
Morphologia és Ig.Orv.Szemle, 23:181/1983/
- 34/ A. Mágori et al.
Concretions in renal basement membrane
Diagnostic Histopathol. 6:195/1983/
- 35/ J.E. Martin et al.
Clinically unsuspected carcinoma of the breast
Amer.J.Roentgenol., 88:1102/1962/
- 36/ R.P. McCabe, C.H. Evans
The regulatory role of extracellular proteases
in tumor growth
Surv.Synth.Path.Res., 2:1/1983/
- 37/ W.A. Murphy et al.
Isolated clustered microcalcifications in the
breast: Radiologic-pathologic correlation
Diagnostic Radiol., 127:335/1978/
- 38/ L.E. Myers et al.
Reproducibility mammographic classification
Amer.J.Roentgenol., 141:45/1983/

- 39/ J.T.K.G. Nievelstein
Technique, diagnostic possibilities and
results of roentgenography
Biobliotheca Radiol., 5:53/1969/
- 40/ Péntek Z., Balogh J.
Az emlő-mikrocalcificatumok röntgen-diag-
nosztikai jelentőségéről
Magyar Radiológia, 26:206/1974/
- 41/ J.L. Price, N.M. Gibbs
The relationship between microcalcification and
in situ carcinoma of the breast
Clin. Radiol., 29: 447/1978/
- 42/ P.P. Rosen et al.
Specimen radiography for nonpalpable breast
lesions found by mammography: procedures and
results
Cancer, 34: 2028/1974/
- 43/ A. Salomon
Baitrage zur pathologie und Klinik des
Mammacarcinoms
Arch.Klin.Chir., 101:573/1913/
- 44/ E.A. Sickles
Further experience with microfocal spot
magnification mammography in the assessment of
clustered breast microcalcification
Radiology, 137:9/1980/
- 45/ E.A. Sickles
Mammographic detectability of breast micro-
calcifications
Amer.J.Roentgenol., 139:913/1982/

- 46/ E.A. Sickles, K.A. Herzog
Intramammary scar tissue: A mimic of the
mammographic appearance of carcinoma
Amer.J.Roentgenol., 135:349/1980/
- 47/ L. Siklós
Assembly and reliability of an X-ray microanalyser
system with a possibility for independent mass
measurement
Acta Biochim.Biophys., 18:211/1983/
- 48/ L. Siklós, M. Rózsa, J. Zombori
A method for light, scanning electron microscopic
and X-ray microanalytical characterization of
microcalcifications of breast lesions using
a single section
J. of Pathology /Közlés alatt/
- 49/ B. Stenkvist et al.
Histopathological system of breast cancer
classification: reproducibility and clinical
significance
J. Clin. Pathol., 36:392/1983/
- 50/ J.A. Torell et al.
Intraluminal calcium hydroxyapatite crystals
in breast carcinoma: an ultrastructural study
Ultrastruct. Pathol., 6:9/1984/
- 51/ W.G. Wee et al.
Evaluation of mammographic calcifications
using a computer program
Radiology, 116:717/1975/
- 52/ A. Willemin
Les images mammographiques
Karger Basel, 1972.

- 53/ J.N. Wolfe
Mammography: errors in diagnosis
Radiology, 87:214/1966/
- 54/ J.N. Wolfe
Analysis of 462 breast carcinomas
Amer.J.Roentgenol., 121:846/1974/
- 55/ J.N. Wolfe
Xerography of the breast
Cancer, 23:791/1969/
- 56/ Zsebők Z. és mtsai.
Az emlőrák
Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1980.

