

## Intracytoplasmatische Einschlüsse in Abklatschpräparaten von der Mamma und ihre diagnostische Verwertbarkeit

K. Tschubel und B. Helpap \*

Pathologisches Institut der Universität Bonn  
(Direktor: Prof. Dr. P. Gedigk)

Eingegangen am 17. Mai 1976

### Intracytoplasmic Inclusions within Cells of the Breast and Their Diagnostic Significance

**Summary.** There were 700 tissue biopsies of the breast with and without carcinomas examined simultaneously by intraoperative histology and imprint cytology. In 20.2% of the cases with carcinoma the tumor cells showed peculiar intracytoplasmic inclusions, whereas in only 0.43% of the biopsies of the mamma without carcinoma such inclusions were to be found. Their morphologic variation and the histochemical pattern are discussed. It is pointed out that these intracytoplasmic inclusions may be a helpful histopathologic feature in the diagnosis of breast cancer.

**Key words:** Cytology — Breast cancer — Intracytoplasmic inclusions.

**Zusammenfassung.** In Abklatschpräparaten von 700 Mammabiopsien wurden in 20,2% der Fälle mit Mammacarcinomen und nur in 0,43% derjenigen Fälle ohne Carcinom eigentümliche einschlußhaltige Cytoplasmavacuolen beobachtet. Ihre morphologischen Formvarianten und färberischen Eigenschaften werden dargestellt und darauf hingewiesen, daß diese Einschlüsse bei der kombinierten cytologischen und histologischen Diagnostik von Mammacarcinomen hilfreich sein können.

In jüngster Zeit wurde mehrfach auf die Aussagekraft der intraoperativen Mammacytologie als alleinige oder ergänzende Methode zur Schnelldiagnostik hingewiesen (Prechtel und Finsterer, 1973; Schnell und Herting, 1975; Szczepanik und Hamann, 1975; Tschubel und Helpap, 1975).

Die Beurteilung des cytologischen Präparates richtet sich in erster Linie nach den Veränderungen des Zellkerns. Demgegenüber wird dem Cytoplasma meist nur hinsichtlich der Größenrelation zum Kern Aufmerksamkeit geschenkt, während die Struktur des Cytoplasmas kaum Beachtung findet.

Im folgenden soll auf die diagnostische Verwertbarkeit einer eigentümlichen Form von Cytoplasmavacuolen mit recht charakteristischen Einschlüssen hingewiesen werden.

### Material und Methodik

Von 700 unausgewählten Mammaexzidaten wurden intraoperativ Abklatschpräparate hergestellt und nach Luft- bzw. Merkofix-Spray-Fixierung mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Von den Fällen mit cytologisch nachgewiesenen Cytoplasmaeinschlüssen wurden parallel zur Tupffläche 3—4  $\mu$  dicke Paraffinschnitte angefertigt (Abb. 1a) und wie folgt gefärbt: Hämatoxylin-Eosin, PAS mit und ohne Diastasevorbehandlung, Muzikarmin, Alcianblau.

\* Mit Unterstützung des Landesamtes für Forschung Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf

## Ergebnisse

### a) Vorkommen und Häufigkeit

In Tupfpräparaten von 49 (7,0%) der insgesamt 700 Mammaexzidate fanden sich in ein oder mehreren Epithelzellen einschlußhaltige Cytoplasmavacuolen.

Unter diesen 700 Fällen waren 467 carcinomfrei. Hier ließen sich lediglich zweimal (0,43%) Cytoplasmaeinschlüsse in einzelnen Cystenepithelien mit stark azidophilem Cytoplasma nachweisen (Zelltyp Abb. 2 c, g).

In 233 Fällen wurde ein Mammacarcinom diagnostiziert. Hier stellten sich in 47 (20,2%) Fällen Cytoplasmaeinschlüsse dar.

Die intracytoplasmatischen Einschlüsse kamen gehäuft bei rein scirrhösen Carcinomen bzw. in den mehr scirrhösen Anteilen solider Carcinome vor.

Entzündliche Erkrankungen der Brustdrüse gingen in unserem Untersuchungsgut zwar mit einem vermehrten Zellgehalt im Tupfpräparat sowie mit einer Polymorphie und Hyperchromasie der Zellkerne einher; einschlußhaltige Cytoplasmavacuolen waren jedoch nicht festzustellen.

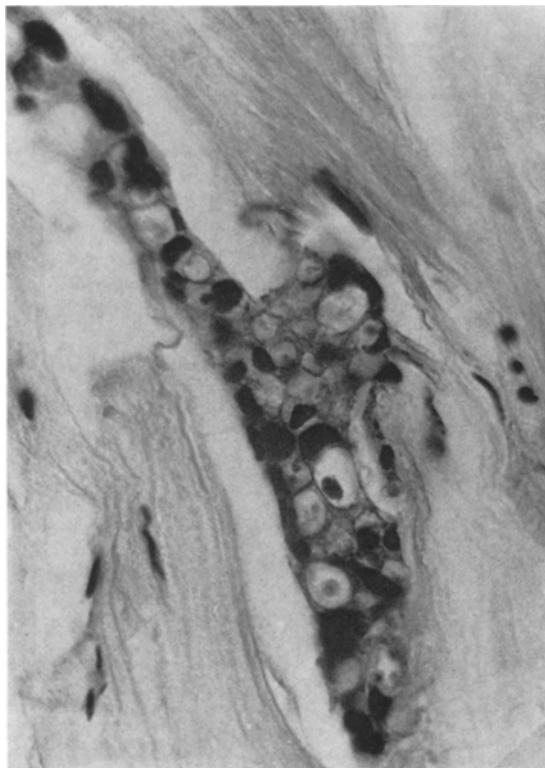


Fig. 1a

Abb. 1a—c. Tumorzellen von Mammacarcinomen mit unterschiedlich konfigurierten intracytoplasmatischen Einschlüssen. (a) Histologischer Schnitt nach Paraffineinbettung; Hämatoxylin-Eosin; 410×. (b und c) Cytologische Abklatshäufchenpräparate; Hämalaun-Eosin; 1024×

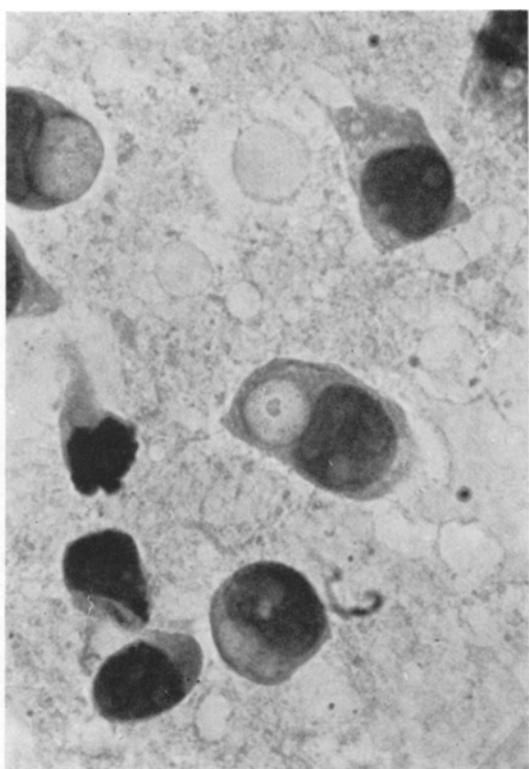


Fig.

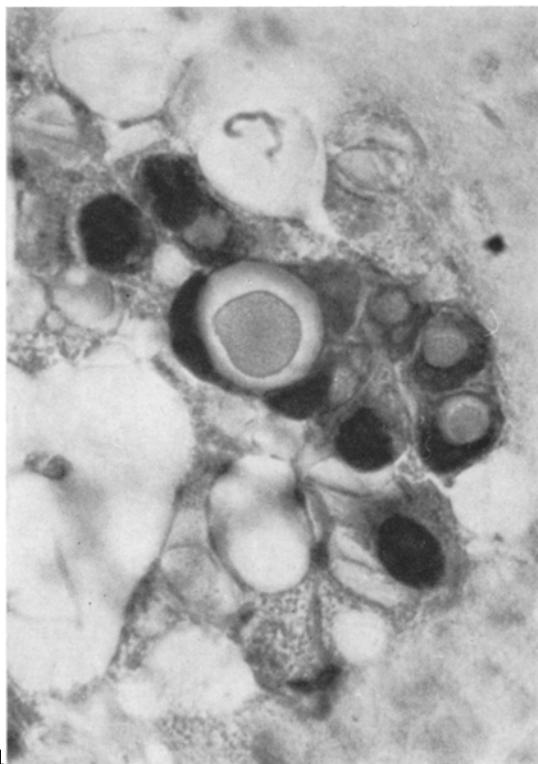


Fig. 1

*b) Morphologie*

Wie aus den Abbildungen 1a—c ersichtlich, schwankt die Größe der in den Zellen von Tupfpräparaten beobachteten, stets scharf begrenzten Cytoplasmavacuolen erheblich. Ähnliches gilt für die kreisrunden, seltener elliptischen Einschlüsse in den Vacuolen, die im cytologischen Präparat in der Regel nicht größer sind als ein Erythrocyt, häufig jedoch nur einen Durchmesser von  $1-3 \mu$  besitzen. Allerdings treten ganz vereinzelt auch Riesenformen auf. Meist liegen die kugeligen oder scheibenförmigen Gebilde im Zentrum der Vacuole. Die Größenrelation zwischen der Vacuole und ihrem Einschluß wechselt stark. Entsprechend erscheint im Extremfall die Vacuole als ein äußerst schmaler lichtoptisch leerer Ring oder als Hohlraum, in dessen Innern sich ein winziger, fast punktförmiger Einschluß befindet. Gelegentlich lassen sich an der Innenwand der Vacuole feinste körnige Verdichtungen feststellen. Besonders größere Einschlüsse besitzen mitunter eine angedeutet konzentrische Schichtung, sind aber meistens ziemlich homogen. Die Mehrzahl der Vacuolen liegt kernständig und bewirkt eine mehr oder minder ausgeprägte Eindellung des Zellkerns; andere haben eine zum Kern polare oder indifferente Anordnung. Mehrere Vacuolen in einer Zelle kommen vor, wie es auch einschlußhaltige Vacuolen in mehrkernigen Zellen gibt. Die Variationsmöglichkeiten sind schematisch in der Abbildung 2 zusammengefaßt.

*c) Histochemie*

Die Einschlüsse in den Vacuolen färben sich mit Eosin wie das umgebende Cytoplasma der Zelle an und zeigen — auch nach Diastasevorbehandlung — eine positive PAS-Reaktion. Mit Alcianblau färben sich die Einschlüsse ebenfalls meist kräftig an. Lediglich bei der Färbung mit Muzikarmin nimmt nur ein Teil der Einschlüsse den Farbstoff an, während der Rest ungefärbt bleibt.

### Diskussion

Im allgemeinen entstehen Cytoplasmavacuolen durch Degenerations-, Speicherungs- oder Sekretionsvorgänge. Entsprechend wechselt ihr Inhalt, dessen Identifizierung häufig erst nach Anwendung besonderer Färbemethoden gelingt.

Bei der Bewertung cytologischer Präparate spielen sog. Siegelringzellen eine Rolle: ihre kerndeformierende Vacuole wird als Ausdruck einer pathologischen intrazellulären Schleimansammlung aufgefaßt. Ihr Nachweis ist allerdings nur ein Indiz für Malignität, weil es zahlreiche gutartige Zellen mit ähnlichem Aussehen gibt (Makrophagen, Serosadeckzellen etc.).

Zellen, die Vacuolen mit Einschlüssen enthalten, sollten aufgrund ihrer lichtoptisch einheitlichen Grundstruktur als eine eigene Form angesehen werden, weil sie zwar häufig, aber durchaus nicht immer unter dem Bilde von Siegelringzellen auftreten.

Einschlußhaltige Vacuolen kommen bei gut- und bösartigen Epithel- bzw. Gewebsveränderungen vor. Dorfman und Monis (1964) berichten über Einschlüsse mit ähnlichen Eigenschaften wie den von uns beschriebenen, bei vielkernigen Riesenzellen bzw. Übergangszellen im Urinsediment ohne Vorliegen einer malignen Veränderung.

Kürzlich hat Battifora (1975) auf diese Vacuolen bei Mammacarcinomen unter dem Begriff „intracytoplasmic lumina“ aufmerksam gemacht. Die Einschlüsse zeigen eine positive PAS-Reaktion und eine Anfärbung mit Alcianblau,

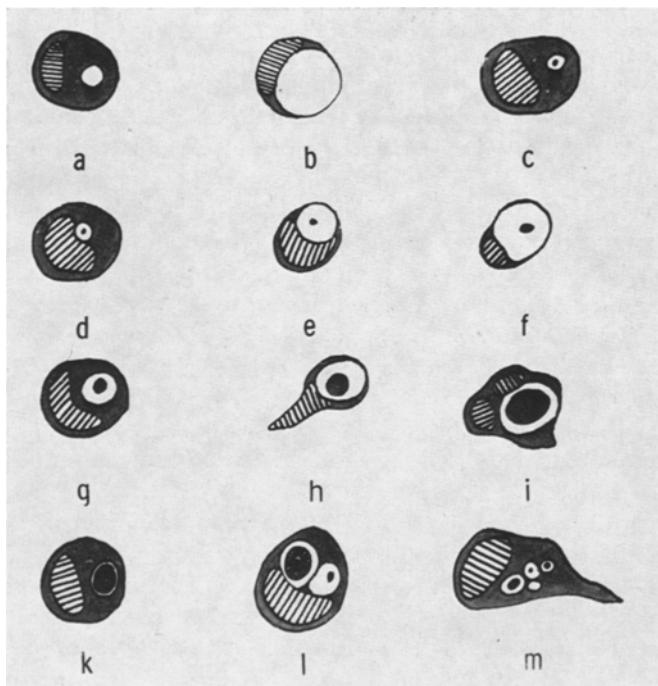


Abb. 2. Schematische Darstellung der Variationsbreite der intracytoplasmatischen Einschlüsse

nicht jedoch mit Muzikarmin. Nach unserer Erfahrung läßt sich nur ein Teil lichtoptisch gleichartiger Einschlüsse mit Muzikarmin anfärben. Die Erscheinung, daß neben intensiv gefärbten Schleimzellen immer auch weniger oder gar nicht gefärbte im normalen Gewebe anzutreffen sind, beruht nach Clara (1940) nicht auf einem Fehlen oder einer Unreife mukoider Stoffe, sondern auf einer abweichen- den physikochemischen Verfassung dieser Substanz. Möglicherweise zeigen Tu- morzellen ein analoges Verhalten.

Spriggs und Jerome (1975) beobachteten im Pleuraerguß von drei Patientinnen mit einem Mammacarcinom vacuolenhaltige Tumorzellen mit Ein- schlüssen, die von ihnen als „bull's-eye“ bezeichnet werden. Die Autoren sind der Ansicht, daß es sich bei den eosinophilen Einschlüssen um eingedickte Schleim- produkte handelt, die von der Zelle nicht an die Umgebung abgegeben werden können.

Wie elektronenoptische Untersuchungen zeigen, liegen die von einem ver- dichten Cytoplasma umgebenen Vacuolen im Golgi-Areal und werden von einer Schicht aus Mikrovilli eingefaßt. In den Lumina fallen verstreu tubuläre Formationen auf, während sich im Zentrum eine elektronendichte Masse befin- det (Battifora, 1975; Spriggs und Jerome, 1975).

Ob die von uns diagnostisch verwerteten acidophilen Einschlüsse in jedem Falle den von Battifora (1975) und Spriggs und Jerome (1975) beschriebenen in ihrer Ultrastruktur gleichen, können wir nicht entscheiden.

Die typischen einschlußhaltigen Vacuolen entziehen sich leicht der Aufmerksamkeit des Untersuchers, weil sie im HE-Präparat die gleiche färberische Eigenschaft besitzen wie das umgebende Cytoplasma und Erythrocyten. Nicht selten besteht im Paraffinschnitt die Verwechselungsmöglichkeit mit einer erythrocytenhaltigen Capillare, während sie sich im Schnellschnitt nur bei sehr geringer Schnittdicke darstellen.

In den cytologischen Präparaten täuschen durch die Vorbehandlung gelöste Fetttropfen Cytoplasmavacuolen vor, die zu Verwechslungen mit den beschriebenen Einschlüssen führen, wenn eine Überlagerung durch ähnlich geformte Eiweißniederschläge oder Erythrocyten auftritt. In der häufig verwendeten Giemsafärbung sind die Einschlüsse weniger scharf konturiert und somit schlechter beurteilbar als im HE-Präparat.

Intracytoplasmatische Einschlüsse mit den färberischen Eigenschaften von Schleim treten auch bei der fibrös-cystischen Mastopathie und im Epithel von Fibroadenomen auf. In diesen Fällen wird ein erhöhtes Entartungsrisiko diskutiert (Barbieri et al., 1953).

Jedoch dürfte die Menge typischer einschlußhaltiger Vacuolen bei Mastopathien und Fibroadenomen gering sein.

Die Tatsache, daß sich derartige Zellen in unserem Untersuchungsgut in nur zwei Fällen mit einer Milchgangscyste nachweisen ließen, spricht für ihre Seltenheit bzw. ihr gutes Kohäsionsvermögen bei nicht-invasiven Mammaerkrankungen.

Zur Frage des Vorkommens von Bullaugen-Zellen bei der Aspirationscytologie kann wegen der methodischen Verschiedenheit der Materialgewinnung aufgrund der Erfahrungen mit der Abklatschcytologie nicht Stellung genommen werden. Da im Tupfpräparat eine größere Fläche erfaßt wird, ist hier mit einer größeren Anzahl von einschlußhaltigen Zellen zu rechnen, nicht zuletzt auch deshalb, weil die Tumorzellen sich leichter aus dem Verband herauslösen.

Abschließend läßt sich sagen, daß es ein Irrtum wäre, bei einer Zelle mit einer einschlußhaltigen Cytoplasmavacuole sogleich von einer „Carcinom-Zelle“ zu sprechen, andererseits ist sie im Tupfpräparat von Mammaadenomern signifikant häufiger nachweisbar als bei anderen Brusterkrankungen und besitzt — neben den meist gleichzeitig bestehenden Kernirregularitäten — einen nicht unerheblichen diagnostischen Wert.

### Literatur

- Barbieri, G., Briziarelli, G., Olivi, M., Squartini, F.: Carcinomi mucosi della mammella a genesi particolare. *Lav. Anat. Pat. Perugia* **18**, 231—241 (1953)
- Barbieri, G., Lotti, G., Olivi, M.: Gli epiteli mucipari nel fibroadenoma mammario. *Lav. Anat. Pat. Perugia* **18**, 243—257 (1953)
- Battifora, H.: Intracytoplasmic lumina in breast carcinoma. *Arch. Path.* **99**, 614—617 (1975)
- Clara, M.: Untersuchungen über den färberischen Nachweis des Schleimes in den Drüsenzellen beim Menschen. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **47**, 183—246 (1940)
- Dorfman, H. D., Monis, B.: Mucin-containing inclusions in multinucleated giant cells and transitional epithelial cells of urine: Cytochemical observations on exfoliated cells. *Acta cytol. (Philad.)* **8**, 293—301 (1964)
- Prechtel, K., Finsterer, H.: Abklatschzytologie als Ergänzung der histologischen Diagnose von Mammaexzisionen. *Verh. dtsch. path. Ges.* **57**, 357—359 (1973)
- Schnell, J. D., Herting, W.: Die Phasenkontrastzytologie bei der intraoperativen Diagnose des Mammakarzinoms. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* **35**, 450—458 (1975)

- Spriggs, A. I., Jerome, D. W.: Intracellular mucous inclusions. J. clin. Path. **28**, 929—936 (1975)
- Szczepanik, E., Hamann, W.: Intraoperative schnellzytologische Beurteilung von Mammatumoren. Münch. med. Wschr. **117**, 1887—1880 (1975)
- Tschubel, K., Helpap, B.: Zur simultanen Anwendung von intraoperativer Schnellschnitthistologie und Abklatschcytologie an der Mamma. Z. Krebsforsch. **84**, 271—279 (1975)

Dr. K. Tschubel  
Prof. Dr. B. Helpap  
Pathologisches Institut  
der Universität  
Postfach 2120  
D-5300 Bonn 1  
Bundesrepublik Deutschland