

İNVAZİV DUKTAL KANSERLERDE İNSİTU KOMPONENTİN GÖRÜNTÜ ANALİZ SONUÇLARI (40 Olgu)

THE EVALUATION OF INSITU COMPONENT IN INVASIVE DUCTAL
CARCINOMA BY IMAGE ANALYSIS (40 Cases)

Nil ÇULHACI
Tülay CANDA
Hüseyin BALOĞLU
Dilaver DEMİREL
Nadir ARICAN
Hakan ÇERMİK
Mehmet KARAMAN

SUMMARY

AIM: Ductal carcinoma in situ (DCIS) is regarded as the precursor of invasive breast carcinoma. In this study we investigated the use of image analysis system which has provided an objective and reproducible evaluation of the tumors biological behavior. Also two methods of image analysis system, cell suspension and paraffin embedded tissue sections were compared.

MATERIAL-METHODS: Formaline-fixed paraffin embedded tissues and their cell suspensions of the 40 cases were evaluated by the image analysis system. 10 parameters related to densitometric, morphometric, textural characteristics and DNA ploidy were computed for each case. We classified these cases by Van Nuys Classification, a different prognostic classification system.

RESULTS: There was no significant relation between Van Nuys group 1, 2, 3 and DNA ploidy ($p>0,05$), but area, perimeter, diameter, bend energy values of group 3 were statistically different from group 1 and 2.

CONCLUSION: It has been objectively shown that DCIS with comedo-type necrosis and high nuclear grade has different properties than the other types. There was no differentiation between DNA ploidy and axillary metastasis. It may explain the recurrences in the cases with no axillary metastasis. We also concluded that both methods can be used for image analysis.

(Key Words: Breast Cancer, Computerized diagnosis, Cy tometry Morphometric Studies Poidy)

Patoloji Anabilim Dalı (Uz.Dr.N Çulhacı)
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi AYDIN
Patoloji Anabilim Dalı (Prof.Dr.T Canda)
9 Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İZMİR
Patoloji Anabilim Dalı (Doç.Dr.H Baloğlu, Doç. Dr. D Demirel, Uz.Dr. N
Arıcan, Uz.Dr. H Çermik, Dr. M Karaman)
İstanbul GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İSTANBUL

ÖZET

AMAÇ: Duktal karsinoma in situ (DKİ) invaziv meme karsinomlarında öncül bir lezyon olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada tümörün biyolojik davranışı hakkında hızlı ve objektif bir değerlendirme sağlayan görüntü analiz sistemi incelenmiştir. Ayrıca görüntü analizinde kullanılacak hücre süspansiyonu ve parafin blok kesitleri karşılaştırılmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: 40 olgunun parafin blok kesitleri ve hücre süspansiyonları görüntü analizi sistemiyle değerlendirilmiştir. Her olgunun dansitometrik, morfometrik, yapısal özelliklerle ilişkili 10 parametre ve DNA ploidi çalışılmıştır. Ayrıca olgular Van Nuys Sınıflaması ile tekrar sınıflandırılmıştır.

BUĞGULAR: Van Nuys grup 1, 2, 3 olgular ve DNA ploidi arasında far saptanmamıştır, fakat Grup 3'ün alan, çap, perimetre ve bend (değişikliği sağlayan) enerji değerleri Grup 1, 2 ile karşılaştırıldığında istatistiksel farklılık anlamlıdır.

SONUÇ: DKİ'nun nükleer derecesi yüksek, nekrozlu komedo tipinin diğerlerinden farklı özellikli olduğu objektif olarak ortaya konmuştur. Aksiler ketastaz ve DNA ploidiinde bu fark görülmemiştir. Bu; aksiler tutulumlu olmayan olgulardaki yinelenmeleri açıklayabilir. Ayrıca görüntü analizi için kullanılan her iki yöntemin de uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

(Anahtar Sözcükler: Kompürezize tanı, Meme Kanseri, Morfometrik inceleme Ploidi, Sitometri)

Meme kanseri, kadınlarda başlıca ölüm nedenlerinden biridir ve farklı biyolojik davranışlar göstermesi nedeniyle sağaltımın planlanmasında bazı prognostik faktörlerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu faktörlerden biri intraduktal komponentin varlığıdır. Duktal Karsinoma Isitu(DKI)'nun invaziv karsinoma ilerlemesi açısından son derece önemli olduğu, ayrıca türü ve sitolojik derecesinin bu gelişmede rol oynadığı bilinmektedir. Büyük nükleuslu, yüksek mitotik aktivite, c-erbB2 tanımlanması ve anöploidi gösteren, proliferasyon fraksiyonu yüksek olan, nekroz içeren DKİ'da erken yineleme izlenmektedir(1)

Yine de bu değerlendirmeler subjektif kriterlere göre yapılmaktadır. Bu nedenle son yıllarda özellikle görüntü analizi gibi bilgisayarlı yöntemlerin tıpta kullanılması yaygınlaşmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, in situ duktal karsinom komponenti belirgin invaziv duktal karsinomlarda, tümörün biyolojik davranışını belirlemede intraduktal komponentin histolojik özellikleri yanı sıra görüntü analizi yardımıyla DNA ploidi ve morfometrik özelliklerini de araştırmaktır. Ayrıca görüntü analizinde kullanılacak

yöntemlerden hücre süspansiyonu ve parafin blok kesitlerinin karşılaştırılmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

9 EÜTF Patoloji Anabilim Dalı'nda 1993-1996 yılları arasında "Duktal karsinoma in situ komponenti baskın invaziv duktal karsinom" tanısı almış 40 modifiye radikal mastektomi olgusu rastgele seçilerek çalışmaya alınmıştır. Bu olguların yaş, östrojen reseptör durumu, lenf düğümü tutulumu ve DKİ türleri bilinmektedir. Ancak DKİ sınıflaması Silverstein ve ark.'nın önerdiği "Van Nuys sınıflaması"(2) ile tekrar yapılmıştır. Olgular lenf düğümü tutulumuna göre tutulum olan ve olmayan 2 gruba ayrılmıştır.

Bu çalışmada olguların DKİ komponentlerini içeren bloklar seçilmiş ve bu alanlar görüntü analizi yöntemi ile değerlendirilmiştir. Olguların hem parafin blok kesitleri hem de bloklardan modifiye Hedley yöntemi ile hazırlanan hücre süspansiyonları görüntü analizi için kullanılmış, her iki yöntem için de Feulgen pararosanilin boyası uygulanmıştır. Hücre görüntü analizi SAMBA 4000 ICM software sistemi ile yapılmıştır. Kesitlerde her ol-

gunun DKI alanlarından $\times 400$ büyütmede 100'er hücre (Resim1), yine hücre süspansiyonları için de her olguda 100 hücre değerlendirilmiştir (Resim 2,3). Morfometrik incelemelerde, kesit ve süspansiyonlar, DNA plodisi için yalnızca hücre süspansiyonları kullanılmıştır.

Analizde "ploidi" ile "morfometri/yapısal analiz" programları kullanılarak dansitometrik (nükleer DNA içeriği), morfometrik (nükleer alan, çap, çevre) ve yapısal (kromatin dağılımı, organizasyonu) özellikler değerlendirilmiştir. Kullanılan parametreler; nükleer alan (NA), perimetre, en küçük çap (EKÇ), en büyük çap (EBÇ), DNA içeriğini gösteren integre optik dansite (IOD), DNA konsantrasyonunu gösteren ortalama optik dansite (OOD), kısa ve uzun dens kromatin kümelerinin sıklığını gösteren SRL-LRL, nükleer düzenlilik faktör (NDF), bend (Değişiklik Sağlayan) enerjidir. İstatiksel analiz için ki-kare (chi-square), korelasyon analizi, Mann-Whitney U ve Tukey testleri uygulanmıştır. Tüm istatiksel işlemler SPSS Win.6.0 programında PC'de yapılmıştır. Bloklardan hücre süspansiyon hazırlanması ve Feulgen boyaması ile görüntü analizleri GATA Haydarpaşa Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

SONUÇ VE BULGULAR

Çalışmamızda 40 olgu incelenmiştir. 40 olgunun 15'inde aksiler lenf düğümünde metastaz izlenmiştir. Lenf düğümü negatif olan 15 olguda yaş dağılımı 34-71'dir. Lenf düğümü pozitif olan olgularda ise 32-74 olarak saptanmıştır. Lenf düğümü negatif olguların 7'si (%47) ÖR negatif, 8'i (%53) ÖR pozitif olarak bulunmuştur. Lenf düğümü pozitif olan olgularda ise 11'i (%44) Östrogen Reseptör (ÖR) negatif, 14'ü (%56) ÖR pozitif olarak değerlendirilmiştir (Tablo1). Bu 2 grup arasında östrogen reseptörü ile ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

DNA ploidi değerlendirilmesi sonucunda, lenf düğümü negatif olguların 5'i (%33) anöploid, 10'u (%67) diploid özelliktedir. Lenf düğümü pozitif olgularda, 15'i (%60) anöploid, 10'u (%40) diploid

TABLO 1: 40 Olgunun aksiler lenf düğümü tutulumunu ile yaş ve reseptör ilişkisi

Lenf Düğümü Tutulumu	Olgu Sayısı	Ortalama Yaş		ÖR(+)%		ÖR(-)%	
		Ortalama	Yaş	Ortalama	Yaş	Ortalama	Yaş
Yok	15	52		8	53	7	47
Var	25	50		14	56	11	44
Toplam	40	51		22	55	18	45

karakter taşımaktadır (Tablo 2). Bu grupta DNA plodisi yönünden istatiksel açıdan anlamlı ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$).

TABLO 2: DNA ploidin lenf düğümü durumuna göre dağılımı

Lenf Düğümü Tutulumu	Olgu Sayısı	Diploid (%)		Anöploid (%)	
		Ortalama	Yaş	Ortalama	Yaş
Yok	15	10	67	5	33
Var	25	10	40	15	60
Toplam	40	20	50	20	50

DKI türleri Van Nuys sınıflamasına göre yeniden değerlendirilmiştir. Buna göre lenf düğümü negatif olgulardan 6'sı (%40) grup 1, 5'i (%33) grup 2, 4'ü (%27) grup 3'e girmiştir. Lenf düğümü pozitif olguların ise 6'sı (%24) grup 1, 5'i (%20) grup 2, 14'ü (%56) grup 3 olarak izlenmiştir (Tablo 3). Burada ALD(+) olgularda grup 3'ün istatiksel açıdan anlamlı olarak farklılık yarattığı saptanmıştır ($p=0.005$).

TABLO 3: Aksiler lenf düğümü durumuna ve Van Nuys sınıflamasına göre intraduktal komponentin dağılımı

Lenf Düğümü Tutulumu	Grup 1 (%)		Grup 2 (%)		Grup 3 (%)		Olgu sayısı
	Ortalama	Yaş	Ortalama	Yaş	Ortalama	Yaş	
Yok	6	40	5	33	4	27	15
Var	6	24	5	20	14	56	25
Toplam	12	30	10	25	18	45	40

Van Nuys sınıflamasına göre ploidi değerlendirilmesi ise Tablo 4'de gösterilmiştir. Ancak bu gruplar arasında da istatiksel açıdan anlamlı sonuç elde edilememiştir ($p>0.05$).

TABLO 4:Van Nuys sınıflamasına göre DNA ploidi dağılımı

Van Nuys Grup	Diploid (%)	Anöploid (%)	Toplam		
1	6	50	6	50	12
2	6	60	4	40	10
3	8	44	10	56	18
Toplam	20	50	20	50	40

40 olgunun görüntü analizi ile incelenmesi yapılmış ve kesitlerde her olgunun ortalama sonuçları;NA:1097-2725, IOD:5432-75333, OOD:4-42, SRE:35-73, LRE:5-34, perimetre:139-240, NDF:12-31, bend enerjisi: 5-12, EKÇ:30-52, EBÇ:45-69 arasında olduğu görülmüştür. Hücre süspansiyonlarının görüntü analizi sonuçları; NA:676-2233, IOD:8120-48589, OOD:8-30, SRE:31-68, LRE:5-61, perimetre:113-282, NDF:14-31, bend enerjisi:5-13, EKÇ:23-45, EBÇ:37-66 piksel değerleri arasında değişmektedir.

Lenf düğümü tutulumu olmayan olgulardaki morfometrik değerler, tutulumu olan olguların değerleriyle kesit ve süspansiyonlarda ayrı ayrı karşılaştırıldığında, hem kesitler hem de süspansiyonlarda bend (değişikliği sağlayan) enerji dışında tüm değerler daha yüksek bulunmuştur. Ancak Mann-Whitney U istatistiksel analizi uygulandığında 2 grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

DKI türlerine göre morfometrik özellikler incelendiğinde de Van Nuys grup 1 ve 3 arasında alan, perimetre, EKÇ ve EBÇ, bend enerji değerlerinde istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar saptanmıştır ($p<0.05$). Diğer morfometrik değerler arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$).

TARTIŞMA

Kadınlarda en sık görülen habis tümör olan meme kanseri için çeşitli prognostik faktörler bilidirilmektedir. Bunlar arasında aksiler lenf düğümü tutulumu, yaşam süresini belirlemede ve sağaltımın plan-

lanmasında en değerli prognostik etkidir. Bununla birlikte insitu komponentin varlığı ve yaygınlığı da prognozu etkileyen önemli bir faktördür. Ancak değerlendirmeler çoğunlukla sübjektif olarak yapılmaktadır. Prognoz açısından objektif değerlendirme ve gözlemciler arası uyum önemlidir. Bu nedenle değerlendirmede görüntü analizi ile aynı zamanda çok daha kısa sürede sonuca ulaşabilmek olasıdır.

Kaynaklarda meme tümörlerinde görüntü analizi ile yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak çoğunluğu Invaziv Duktal Karsinom için yapılmış çalışmalardır. Çalışmalarda tümör hücrelerinin danişimometrik, morfometrik ve yapısal özelliklerinin hispatolojik derece ile belirgin ilişkisi saptanmıştır (3,4). Pienta ve ark. tümör hücrelerindeki morfometrik değişimleri kantitatif olarak incelemişler, lenf düğümü tutulumu olan olgularla karşılaştırdıklarında nükleer alanda belirgin artış saptamışlardır. Ancak nükleer alan ile yaş ve hormon reseptör durumu arasında ilişki saptamamışlardır (5). Çalışmamızda, lenf düğümü tutulumu ile reseptör durumu arasında da anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Eskelinen ve ark. çalışmalarında, 56 genç hastada nükleer özelliklerin morfolojik değerlerini prognostik faktörlerle karşılaştırmış ve hastaliksız sağ kalım için en önemli faktörlerin nükleer alan ve daha sonra nükleer perimetre olduğunu belirtmişlerdir(6). Nükleer çapın önemli olduğunu belirten çalışmalar da vardır(7). Wolberg ve ark., ince iğne aspirasyon (IIA) örneklerinde prognoz ve tanıda perimetreyi en önemli parametre olarak bulmuşlardır (8). Lenf düğümü metastazları için nükleus düzenlilik faktörü ve alanın en belirgin prognostik faktörler olduğunu belirten çalışmalar da vardır (9,10).

Fierson ve ark., lenf düğümü durumu, tümör boyutu, histolojik derece ile görüntü analizi parametrelerini karşılaştırmışlardır (11). Lenf düğümü tutulumu olan ve olmayan olgular arasında kromatin yapısını gösteren 12 ölçüt içinden 8'inde belirgin

farklılık saptamışlardır. Yine lenf düğümü salim olgularda diploidi oranını daha fazla olduğunu ve nükleer alının da daha küçük olduğunu saptamışlardır.

Yapılan çalışmalarda anöplid tümörler ile aksiler lenf düğümü metastazları arasında yüzde olarak fark görülse de, bu istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

Bazı çalışmalarda ise hormonal durum ile morfometrik parametreler karşılaştırılmıştır. Larsimont ve ark., çalışmalarında, 25 karsinomlu olguda morfolojik değerlerin Östrojen Reseptör (ÖR) ile ilişkisini incelemişler ve bu 2 grup arasında kromatin yapı farklılığı saptamışlardır. Ayrıca ÖR pozitif olgularda nükleuslar daha küçük olarak bulunmuş ve ÖR konsantrasyonu ile hücre proliferasyonu arasında da negatif ilişki gözlemişlerdir (14). Ancak çalışmamızda, ÖR ile morfometrik değerler arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Çalışmaların hemen tamamında morfometrik değerlerin anlamlı sonuçlar verdiği görülmüşse de bizim çalışmamızdan farklı olarak tümü invaziv duktal karsinomlarda yapılmıştır. Bu çalışmada ise DKI komponentine ait hücreler araştırılmıştır. DKI sınıflamasına göre parametreler değerlendirildiğinde gruplar arasında özellikle grup 3'ün yarattığı alan, perimetre, en büyük ve en küçük çap ile bend enerjide farklılık saptanmıştır. Ayrıca aksiler lenf düğümü tutulumu olan olgularda grup 3'ün görülme oranı daha çoktur. Bu sonuçlar daha agresif olduğu bilinen komedo türün daha büyük pleomorfik hücreler içerdiğini belirten yayınlarla (2,15) uyumludur.

Çalışmamızda lenf düğümü salim olgular ile tutulumlu olgular arasında morfometrik incelemeler açısından farklılığın saptanmamış olması, tanı sırasında lenf düğümü salim olguların 5 yıl içinde %25-30 oranındaki yineleme gelişmesiyle de açıklanabilir.

Görüntü analizi için genellikle imprintler (dokunma preparat) ve İnce iğne aspirasyonu (IIA) tercih edilse de parafin

bloklardan hazırlanan hücre süspansiyonları ve blok kesitleri de kullanılabilir (8,16). Parafin kesitlerin dokunma preparatlar ya da IIA'na karşı üstünlüğü, tümörde incelenmek istenen histolojik alanın seçilebilmesi, çok küçük lezyonların incelenebilmesi ve arşiv materyalinden kolayca çalışabilmesidir. Ancak özellikle ince kesitlerde yalnızca bir kısım hücre bütünlüğünü koruyabilmekte, bu nedenle DNA değerleri beklenilenden daha düşük olmaktadır. Kesitler kalın alındığında ise nükleusların birbiri üzerine yığılma olasılığı artmaktadır. Bloklardan elde edilen hücre süspansiyonu ya da hücre bloğu da çalışabilmektedir (17,18). IIA ise en az düzeyde travmatik olması, örneklemenin yinelenebilir ve kolay uygulanabilen bir yöntem olması açısından önemlidir. En önemlisi ise operasyon öncesi dönemde sağaltım yöntemlerini belirlemek için ploidi değerlendirilmesinin yapılabilmesidir. Taze dokudan hazırlanacak dokunma preparatların hemen görüntü analizi ile değerlendirilmesiyle hastalığın fizyopatolojisi hakkında kısa sürede bilgi elde edilebilir(19). Bu denli farklı yöntemle çalışabilen görüntü analizi için hangi yöntemin daha uygun olduğu konusunda da çeşitli tartışmalar bulunmaktadır.

Taylor ve ark. çalışmalarında, DNA ölçümünü hem dokunma preparatlarda hem de deparafinize kesitlerde değerlendirmişler, sonuçları heriki yöntemde de benzer olarak saptamışlardır (20). Diğer bir çalışmada, 17 olgunun IIA ve imprint incelemeleri değerlendirilmiş derece I ve III tümürlü olgularda örnekleme yönteminin morfonükleer değerlendirmede sonuçları etkilediği, ancak morfonükleer özellikler ve histopatolojik derece arasındaki ilişkiyi değiştirmediği sonucuna varılmıştır (4). Williams ve ark. hem hücre süspansiyonu, hem de 6 luk kesitlerde DNA ploidiyi karşılaştırmışlar ve %91 oranında uyum bulmuşlardır (21). 4-6 mikronluk kesitlerin genellikle analiz için en uygun olduğu vurgulanmıştır (22).

Çalışmamızda hem parafin bloklardan

alınan kesitler hem de bloklardan hazırladığımız hücre süspansiyonları değerlendirilmiştir. Bu 2 yöntem arasında yalnızca en büyük çapta istatistiksel açıdan farklılık saptanmıştır. Her iki yöntemin de analizde kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır. Sonuçlarımız kaynaklarla uyum göstermektedir. Ancak burada önemli olan ve dikkat edilmesi gereken hücre süspansiyonu hazırlarken yöntemin tam olarak uygulanmasıdır. Çünkü kullanılan enzim konsantrasyonu, sitosantrifüj hızı dahil tüm basamaklar sonucu etkilemektedir. Bu nedenle görüntü analizinin gelişimi için örnek hazırlama, fiksasyon, boyama ve değerlendirmenin standardizasyonu kaynaklarda da belirtildiği gibi oldukça önemlidir (23).

Görüntü analizi hücresel ve yapısal değişkenliği göstermede çok önemli katkıları olan bir yöntemdir. Yakın gelecekte yöntemlerin standardizasyonu, ploidi kullanımının yaygınlaştırılması, imüdüokimyasal incelemelerinin klinisyenlerce de standardize protokollere oturtulması, sitolojik preparatlarda ploidi ile beraber morfolometrik parametrelerin kullanımının artması ile görüntü analizinin patoloğlar için verilerin ölçülüp değerlendirildiği ve saklandığı bir merkez olacağı savunulmaktadır (24,25).

Çalışmamızda DKİ'nun komponentin yüksek dereceli, komedo nekrozlu türünün farklılığı morfolometrik değerlerle objektif olarak ortaya konmuştur. Aksiller lenf düğümü tutulumu ile DKİ'nun morfolometrik değerleri arasında farklılığın olduğu ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmamasının operasyon sırasında lenf düğümü tutulumu olmayan olgulardaki %25-30 oranındaki yinelemeleri açıklayabileceği düşünülmüştür. Ayrıca görüntü analizinin hızlı ve objektif bir yöntem olduğu, değerlendirmede hücre süspansiyonları yanı sıra parafin kesitlerinde de kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Leal CB, Schmitt FC, Bento MJ, et al. Ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer* 1995 ; 75 : 2123-31.
- 2- Silverstein MJ, Poller DN, Waisman JR, et al. Prognostic classification of breast ductal carcinoma in situ. *Lancet* 1995 ; 345 : 1154-7.
- 3- Dawson AE, Austin RE, Weinberg DS. Nuclear grading of breast carcinoma by image analysis. Classification by multivariate and neural analysis. *Am J Clin Pathol* 1991 ; 95 : S29-3.
- 4- Salmon I, Coibion M, Larsimont D, et al. Comparison of fine needle aspirates of breast cancers to imprint smears by means of digital cell image analysis. *Anal Quant Cytol Histol* 1991 ; 13 : 193-200.
- 5- Pienta KJ, Coffey DS. Correlation of nuclear morphology with progression of breast cancer. *Cancer* 1991 ; 68 : 2012-6.
- 6- Eskelinen M, Lipponen P, Aaltomaa S, et al. Breast cancer in young women: clinical, histological and morphometric prognostic factors. *Anticancer Research* 1992 ; 12 : 1237-2.
- 7- Aubelle M, Auer G, Voss A, et al. Different risk groups in node-negative breast cancer: prognostic value of cytophotometrically assessed DNA, morphometry and texture. *Int J Cancer* 1995 ; 63 : 7-12.
- 8- Wolberg WH, Street WN, Mangasarion OL. Image analysis and machine learning applied to breast cancer diagnosis and prognosis. *Anal Quant Cytol Histol* 1995 ; 17 : 77-87.
- 9- Baloğlu H, Öztekin I. Invaziv duktal karsinoma hücrelerinin fenotipik ve genotipik özelliklerinin tümör biyolojik davranışıyla ilişkisi. *Meme Hastl Dergisi* 1995 ; 2 : 150-6.
- 10- Aubelle M, Auer G, Voss A, et al. Different risk group in node negative breast cancer: prognostic value of cytophotometrically assessed DNA, morphometry and texture. *Int J Cancer* 1995 ; 63 : 7-12.
- 11- Van Diest PJ, Risse EK, Schipper NW, et al. Comparison of light microscopic grading and morphometric features in cytological breast cancer specimens. *Pathol Res Pract* 1989 ; 185 : 612-6.
- 12- Mariuzzi GM, Mambelli V, Criante P. Quantitative evaluation of morphological parameters for infiltrating ductal breast cancer prognosis. *Path Res Pract* 1989 ; 185 : 698-700.
- 13- Larsimont D, Kiss R, d'Olne D, et al. Correlation between nuclear cytomorphometric parameters and estrogen receptor levels in breast cancer. *Cancer* 1989 ; 63 : 2162-8.
- 14- Taylor SR, Zachariah S, Chakraborty S, et al. Ploidy studies by image analysis on fine needle aspirates of the breast. *Acta Cytologica* 1993 ; 37 : 923-8.
- 15- Rosai J. Breast. In: Rosai J (ed). *Ackerman's Surgical Pathology*, Eight Ed. St. Louis: Mosby Company; 1996 : 1565-660.
- 16- Wolberg WH, Street WN, Heisey DM, et al. Computerized breast cancer diagnosis and prognosis from fine needle aspirates. *Arch-Surg* 1995 ; 511-6.

17- Sapi Z, Hendricks JB, Pharis PG, et al. Tissue section image analysis of breast neoplasms: evidence of false aneuploidy. *Am J Clin Pathol* 1993 ; 99 : 714-20.

18- Pinder ST, Wencyk PM, Naylor HE, et al. The assessment of multiple variables on breast carcinoma fine needle aspiration(FNA) cytology specimens: method, preliminary results and prognostic associations. *Cytopathology* 1995 ; 6 : 316-24.

19- Herman CJ. Image cytometric analysis in pathology. *Hum Pathol* 1996 ; 27 : 435-36.

20- Eskelinen M, Norgling S, Puitinen J, et al. The flow-cytometric analysis of DNA content and S phase fraction of human breast cancer. *Path Res Pract* 1989 ; 185 : 694-7.

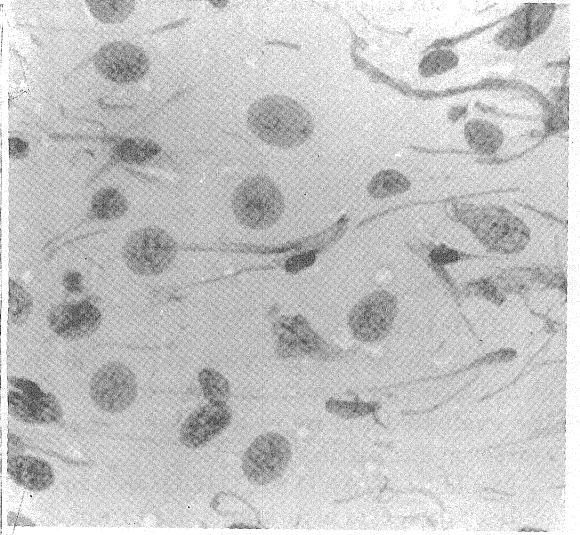
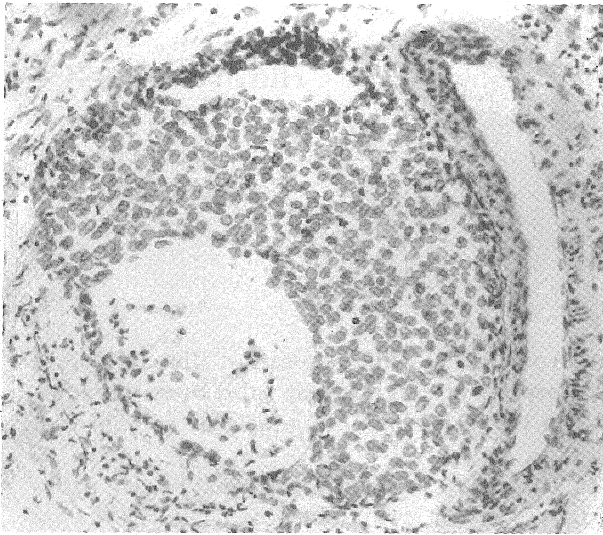
21- Williams RA, Baak JPA, Meijer GA, et al. Further testing of the value of a measurement protocol for DNA ploidy studies using image cytometry: Comparison of results obtained from cytologic and paraffin section preparations. *Analyt Quant Cytol Histol* 1996 ; 18 : 345-50.

22- Cohen C. Image cytometric analysis in pathology. *Hum Pathol* 1996 ; 27 : 482-93.

23- Bartels PH. Computer generated diagnosis and image analysis. *Cancer* 1992 ; 69 : 1636-8.

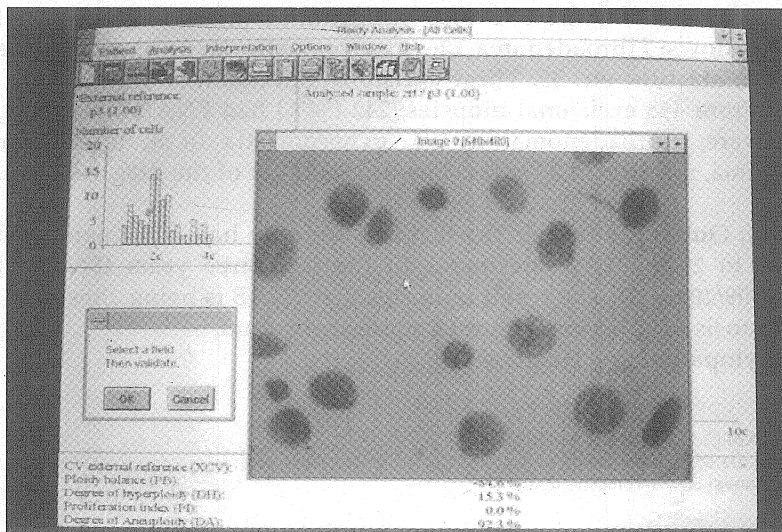
24- Wells WA, Rainer RO, Memoli V. Equipment, standardization and applications of image processing. *Am J Clin Pathol* 1993 ; 99 : 48-56.

25- True LD. Morphometric applications in anatomic pathology. *Hum Pathol* 1996 ; 27 : 450-67.



RESİM 1: Kesit alanı (Feulgen x 200)

RESİM 2: Hücre Süspansiyonu (Feulgen x 400)



RESİM 3: Görüntü analizi yöntemiyle hücrelerin seçimi