
Serøse væsker

TEMA

BEN DAVIDSON

AASMUND BERNER

Seksjon for cytologi
Avdeling for patologi
Det Norske Radiumhospital
0310 Oslo

Funn av maligne celler i serøse væsker er ensbetydende med spredning, oftest fra primærtumor i mamma eller eggstokker. Dette innebærer generelt en dårlig prognose, og pasienten må ha omfattende behandling. Diagnostisering av svulstspredning til serøse hulrom kan være vanskelig fordi epiteliale kreftceller har stor likhet med mesotelceller.

Litteraturhenvisningene er basert på søk i databasene Medline og Cancerline.

Immunhistokjemisk undersøkelse med antistoffer mot mesotel (calretinin og N-cadherin) og forskjellige epitelcellemarkører (Ber-EP4, B-72.3 og karbohydratepitoper) kan øke den diagnostiske sensitivitet samt si noe om primærtumor når den er ukjent. Ved hjelp av moderne molekylærbiologiske teknikker kan man få innsikt i de forskjellige trinn i metastaseringsprosessen. Noen av markørene (sialyl-Lewisx og metalloproteinaser) har dessuten vist seg å ha prognostisk verdi og kan derfor ha betydning for behandlingen.

Immunhistokjemisk teknikk kan øke den diagnostiske presisjon samt si noe om prognosen. Kombinert med nye molekylære teknikker kan man få økt forståelse av cellebiologiske mekanismer ved spredning til serøse hulrom, noe som igjen kan ha terapeutisk verdi.

Maligne svulster er karakterisert ved infiltrerende vekst og mulighet til å metastasere. Spredningsveier inkluderer ofte serøse overflater, spesielt ved brystkreft og eggstokkkreft (1). Funn av maligne celler i serøse væsker er oftest ensbetydende med spredning. Dette innebærer generelt en dårlig prognose, og

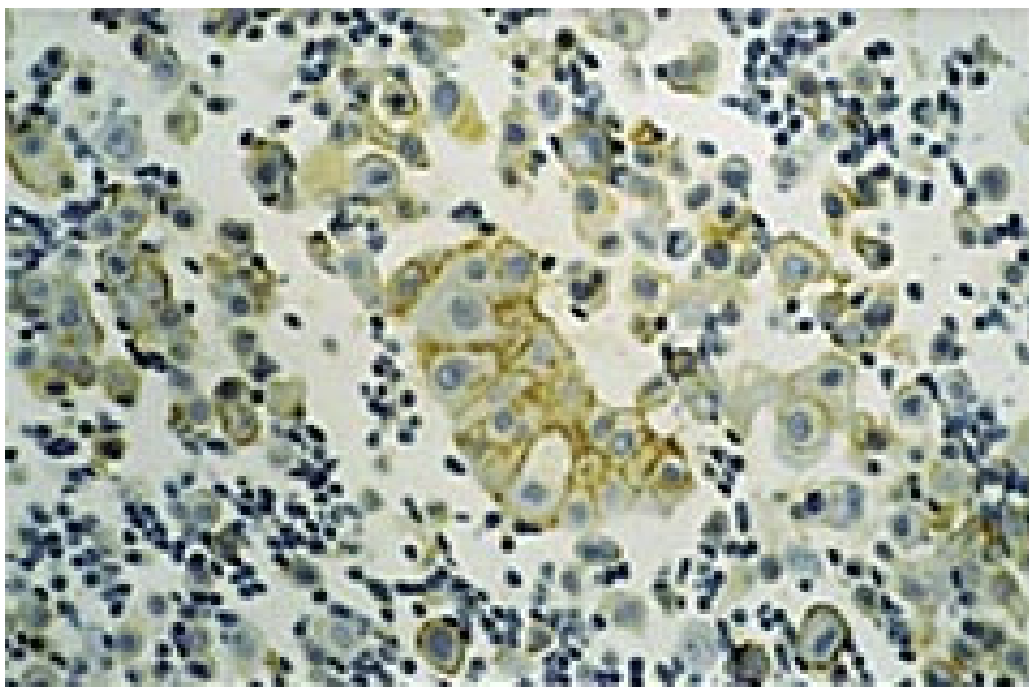
pasienten må ha omfattende behandling. Unntaket er når kreft i eggstokkene vokser gjennom peritoneum, slik at kreftcellene skilles direkte ut i peritonealhulen.

Det er ofte vanskelig å diagnostisere kreftceller i serøse væsker, fordi epitheliale kreftceller kan likne reaktivt mesotel. Dessuten reagerer mesotelceller lett på forskjellige stimuli, som kirurgiske inngrep, stråle- og cytostatikabehandling (1). Man finner da reaktive forandringer både i kjerne og cytoplasma i tillegg til en livlig mesotelcelleproliferasjon som lett kan feiltolkes som kreftceller (1, 2). Siden eggstokkene utvikles fra mesotel, er det spesielt ved eggstokkreft vanskelig å skille mellom kreftceller og reaktivt mesotel. Likeledes kan «endosalpingiose», som er godartede forandringer i mesotel, lett feildiagnostiseres som høyt differensiert serøst karsinom både i cytologisk materiale (3 – 8) og i biopsimateriale (9). Mange studier omhandler maligne og benigne celler i serøse væsker ved morfologisk og immunhistokjemisk diagnostikk.

Diagnostiske metoder

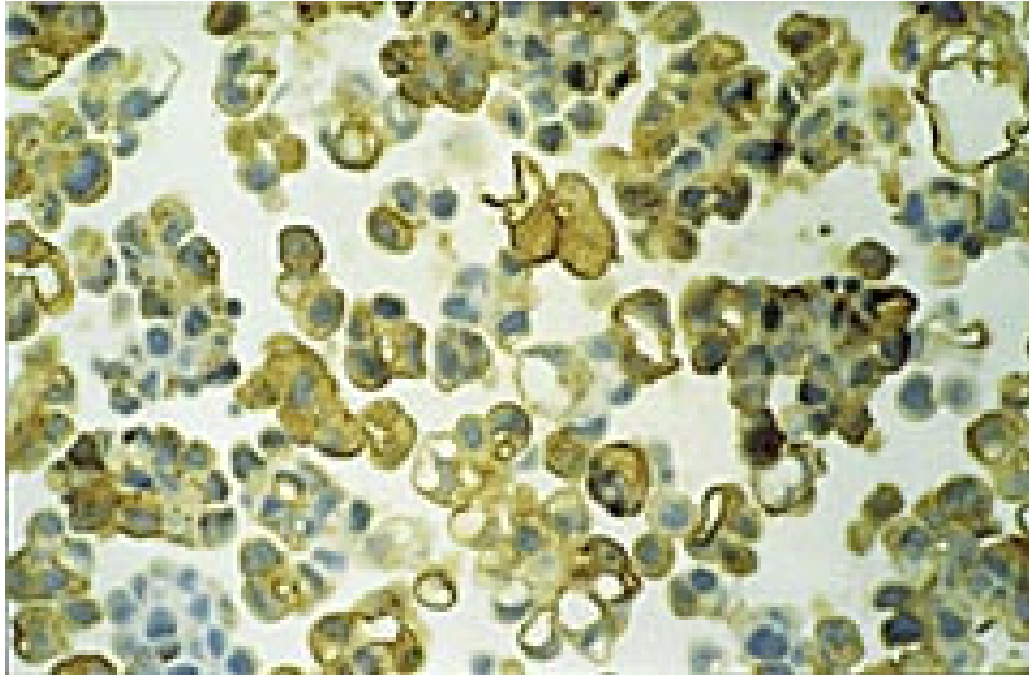
Immunhistokjemisk karakterisering av epitel og mesotelceller i væsker

En rekke forskjellige markører blir brukt for å skille mellom mesotel- og epitelceller ved immunhistokjemisk teknikk. De mest vanlige antistoffene inkluderer karsinoembryonalt antigen (CEA), LEU-M1 (CD15), Ber-EP4, og B-72.3 (TAG 72) (10 – 26), alle er markører for epitelceller. Sensitiviteten til CEA-immunfarging er 0 – 100 %. Det er imidlertid ikke mulig å sammenlikne resultatet av disse rapportene, fordi man noen steder har brukt polyklont anti-CEA, mens andre har brukt monoklont anti-CEA. De fleste rapportene gir heller ikke opplysninger om antistoffenes spesifisitet eller utgangspunktet til svulstene som er diagnostisert.



Figur 1 Celleblokk av ascitesvæske med lymfocytter, mesotelceller og karsinomceller med tydelig membranfarging for Ber-EP4

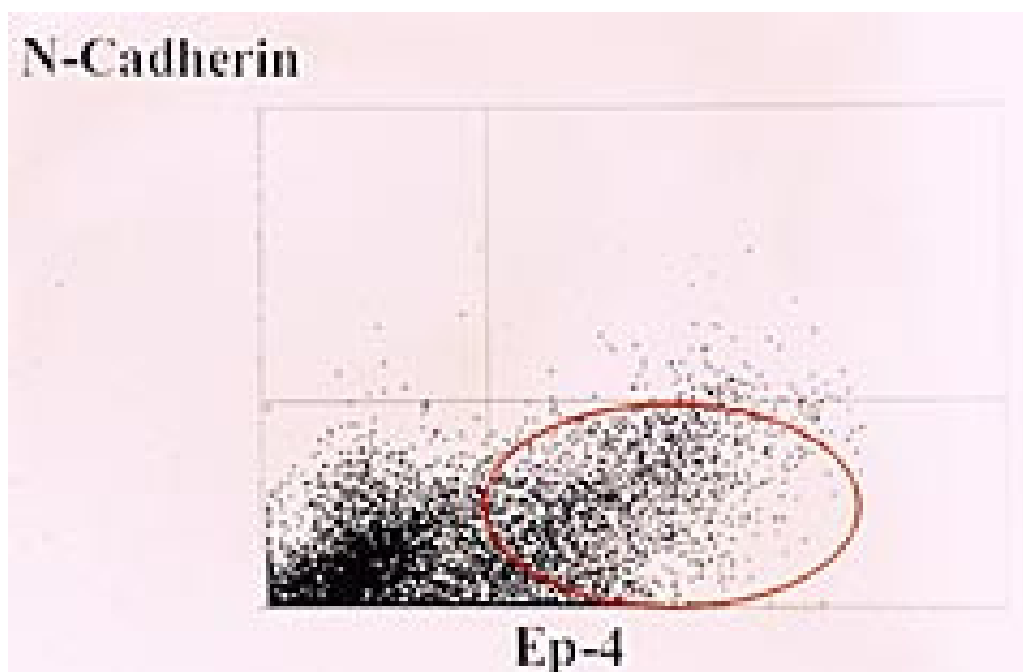
Det samme gjelder for Ber-EP4-undersøkelsene, hvor sensitiviteten varierer fra 32 % til 100 % og spesifisiteten fra 12 % til 100 % (27) (fig 1). I ni studier er imidlertid spesifisiteten så høy som 98 %. B-72.3 er ett av noen få antistoffer som har vist relativt konstant spesifisitet både i histologiske og i cytologiske prøver (fig 2). Spesifisiteten varierer mellom 96 % og 100 %, mens sensitiviteten varierer fra 69 % til 100 %. LEU-M1 er en markør som av mange betraktes som spesifikk for adenokarsinomceller, selv om sensitiviteten er relativt lav (60 %).



Figur 2 Ascitesvæske med et stort antall karsinomceller med både membranøs og cytoplasmatisk immunreaktivitet for B-72.3

De mest brukte mesotelcellemarkørene er HMBE-1, calretinin og trombomodulin (28). Sensitiviteten varierer fra 60 % til 90 % og spesifisiteten er mindre enn 50 %. Epitelmembranantigen (EMA) kan påvises både i maligne mesoteliomer og i adenokarsinomer, men lokalisering av antistoffbindingen varierer. Den er tykk membranøs i mesoteliomer og ofte tynn membranøs og cytoplasmatisk i adenokarsinomer (1). Andre markører, som lektiner, fibronektin og desmin, er rapportert som epitel- eller mesotelspesifikke i enkelte studier (18, 29 – 32). Selv om kombinasjoner av ovenfornevnte markører øker presisjonen, har man ikke lyktes i å komme frem til et panel med 100 % sensitivitet og spesifisitet.

Et problem med lysmikroskopisk evaluering av immunhistokjemisk og immuncytokjemisk undersøkelse er at evalueringen er subjektiv. Teoretisk burde væskestrømscytometrisk immunfenotyping ha store fordeler fordi metoden er objektiv og instrumentets registrering av immunfluorescens er langt mer pålitelig enn øyets. På tross av metodologiske problemer har vi god erfaring med å skille maligne epiteliale cellekloner fra reaktivt mesotel ved væskestrømscytometri (fig 3).



Figur 3 Væskestørcytometrisk undersøkelse av ascitesvæske med dobbeltfarging for N-cadherin (y-aksen) og Ber-EP4 (EP4, x-aksen). I høyre nedre kvadrant (rød sirkel) finner man celler som bare er positive for Ber-EP4, forenlig med karsinomceller

Evaluering av DNA-innhold i celler

En rekke forfattere har vurdert betydningen av DNA-analyse ved diagnostisering av maligne celler i væsker (33 – 42), og sensitiviteten til DNA-ploiditetsmåling har vært sammenliknet med immunhistokjemisk påvist p53 (33), Ki-67 (34) og forskjellige epitelmarkører (35, 36) samt med morfologisk diagnostikk (36). DNA-aneuploide populasjoner er påvist i 50 % til 65 % av maligne væsker i de fleste av de ovenfornevnte studier. I en undersøkelse er det gjort både DNA-ploiditetsmåling og påvisning av CEA-positive epiteliale celler (43), uten at man kan trekke noen sikker konklusjon. Disse resultatene er lite oppløftende, først og fremst pga. lav sensitivitet i forhold til den mer sensitive og kostnadseffektive immunhistokjemiske metode.

Cellebiologiske metoder

Cytogenetisk undersøkelse

I de fleste studiene har man enten benyttet tradisjonell cytogenetisk kromosomal analyse eller fluorescent-in situ-hybridiseringsteknikk (FISH) (44 – 55). I to av studiene har forfatterne beskrevet forekomsten av små, doble fragmenter av kromatin (double minutes) i metastaser fra ovarialkarsinomer og andre karsinomer (49, 50). Ved hjelp av FISH-teknikk ble DNA-aneuploiditet for kromosom 8 oppdaget i 75 % av brystkarsinomer (44) og 20 % av pancreaskarsinomer (45). Avvik i kromosomene 1, 3, 6, 7, 10 og 12 ble oppdaget i ovarialkarsinom når man benyttet cytogenetisk kromosomanalyse (55), mens andre kromosomer – 8, 11, 17, 18, X og Y – var avvikende i tumorceller fra andre tumortyper (45, 48, 51, 53). Resultatene var mindre lovende for malignt mesoteliom pga. problemer med å diagnostisere disse cytologisk (54).

Studier med proliferasjonsmarkører

Man kjenner i dag mer enn 100 ulike gener som deltar i cellenes regulering av vekst og differensiering, men det finnes relativt få studier der man har benyttet proliferasjonsmarkører på maligne celler i serøse væsker. I en studie fant man forhøyet Ki-67-verdi hos pasienter med redusert overlevelse når man benyttet 20 % som grenseverdi (34), mens forfatterne av en annen studie fant korrelasjon mellom Ki-67 og DNA-aneuploiditet (56). Ved å benytte prolifererende cellekjerneantigen (PCNA) ble det funnet signifikant høyere verdi i maligne væsker sammenliknet med benigne (57). I andre studier har man benyttet «cellekjerneorganiseringsmarkører» (AgNOR), og denne metoden kunne også skille mellom benignt mesotel og maligne celler, selv om sensitiviteten var relativt lav (58 – 60).

Genotypiske og fenotypiske forandringer ved metastasering

For å metastasere må en svulst kunne vokse ukontrollert – infiltrere omkringliggende bindevev, blod og lymfekar, transporteres med blod, lymfe og/eller vevsvæsker, adherere til og penetrere karvegg, invadere mottakerorganet og etablere dattersvulst. Hvert av disse trinnene forutsetter helt spesielle egenskaper hos tumorcellene i form av biokjemiske prosesser inne i dem, med produksjon av blant annet signalmolekyler, enzymer og/eller overflatereseptorer.

Kombinasjon av morfologisk undersøkelse og et panel av forskjellige immunhistokjemiske antistoffer mot epitel- og mesotelmarkører fører til korrekt diagnose i over 90 % av tilfellene (61). I tillegg vil proliferasjonsmarkører (Ki-67, PCNA), DNA-ploiditet og kromosomanalyse bidra til å karakterisere vanskelige tilfeller (62). Selv om man har tilstrebet å analysere forskjeller mellom primærtumor og de respektive metastasene, foreligger lite relevant litteratur om metastasering til serøse hulrom og betydningen for overlevelse og behandling. Dette kan delvis forklares ved at materialene er heterogene, med primærtumorer i forskjellige lokalisasjoner.

Apoptose

Apoptose har stor betydning for tumorvekst. Det foreligger ingen studier hvor apoptose i tumorceller i væsker er undersøkt.

Tumorsuppressorgener, onkogener og cellyklusproteiner

Den diagnostiske rollen til p53, det mest kjente suppressorgenet, blir oftest påvist ved immunhistokjemi (33, 57, 63 – 68), og i de fleste studiene finner man at mutasjoner i p53-genet er relatert til kreftspredning og dårlig prognose. Imidlertid er sensitiviteten til immunocytochemisk påvist p53-mutasjon lav (33), samtidig som enkelte også har funnet holdepunkter for p53-mutasjon i benigne mesotelceller. Derfor er det blitt reist tvil om betydningen av immunocytochemisk påvist p53-protein i væsker (68). Det foreligger ingen studier hvor man har undersøkt p53-genet i tumorceller ved hjelp av molekylære studier. Man vet at det normale p53-proteinet induserer transkripsjon av en gruppe hemmere av cyklinavhengige kinaser som er vesentlig for celleproliferasjon. En av disse er p21. p21- og MDM-2-

immunreaktivitet har vært vurdert i ett arbeid (64), mens en annen rapport har beskrevet p21-immunreaktivitet i benigne og i maligne celler i væsker (69). Det er derimot ingen publikasjoner om andre proteiner som er involvert i cellesyklus, som cyklinavhengige kinaser som p15, p16, p27, retinoblastomgenprodukter og dets relaterte proteiner, cykliner eller CDKs (cyklinavhengige kinaser).

Protoonkogener

Disse er involvert i de ulike trinnene i signaloverføring i cellen. Det som kjennetegner kreftceller, er at protoonkogenene kommer ut av kontroll, de blir da kalt onkogener. Noen få publikasjoner omhandler cellulære onkogener i tumorceller i væsker. En rapport beskriver c-myc-genamplifikasjon i en liten undergruppe av pancreaskarsinomer (45). Ved hjelp av «Northern blotting» og in situ-hybridiseringsteknikk er c-myc-mRNA påvist både i benigne og i maligne væsker (70). I et arbeid fant man c-erbB-2 amplifikasjon i både benigne og i maligne celler i en undersøkelse, men man økte sensitiviteten ved å inkludere antistoffer mot p53 og B-72.3 (69). I en annen studie (71) ble c-erbB-2-onkogenet påvist i metastaser fra adenokarsinomer i mamma og eggstokker, men ikke i benigne og maligne mesotelceller. Noen få rapporter beskriver forekomst av K-ras- og H-ras-onkogenene i metastaser til serøse væsker fra pancreas- og mammakarsinomer (72 – 75).

Adhesjonsmolekyler

En rekke forskjellige adhesjonsmolekyler deltar i metastaseringsprosessen, deriblant CD44. CD44 er en gruppe glykoproteiner med ti variable eksoner (kodede områder av DNA) og et stort antall forskjellige isoformer som har forskjellige funksjoner, slik som «lymfocyt-homing», epiteladhesjon og makrofagaktivering. I to arbeider er det vist at enkelte av CD44-isoformene har stor tumorspesifisitet, og CD44 kan vise seg å ha en diagnostisk rolle ved påvisning av maligne celler i serøse væsker (76, 77). Ved hjelp av RT-PCR-teknikk var isoform 7 av CD44 til hjelp ved diagnostisering av kreft, men ikke isoform 6 av CD44 (76). Ved immunhistokjemisk teknikk er det motstridende resultater vedrørende CD44-isoformenes evne til å identifisere kreftceller (77, 78).

E-cadherin-adhesjonskompleks

Cadheriner er transmembrane glykoproteiner som er viktige i celle-til-celle-adhesjon, og redusert syntese ser ut til å være nødvendig for enkelte karsinomers evne til å infiltrere bindevev. Kliniske studier har vist at tap av cadheriner indikerer dårlig prognose for en rekke krefttyper. To begrensede studier beskriver immuncytokjemisk påvist E-cadherin-ekspresjon i tumorceller i væsker, men konklusjonen er ikke entydig (79, 80). Ikke i noen studier er det benyttet molekylærgenetiske teknikker til å evaluere E-cadherin i væsker. Det er heller ikke publisert noen undersøkelse av cateniner, som er neste ledd i signaloverføringskjeden.

Selektin

Dette er også transmembrane glykoproteiner med karbohydrategenskaper, men det er ikke publisert noen arbeider om selektinstatus i væsker.

Integriner

Dette er en gruppe transmembrane glykoproteiner som har viktige funksjoner, først og fremst ved adhesjon til ekstracellulær matriks og migrasjon gjennom denne. En rekke kliniske og immunhistokjemiske undersøkelser har vist endringer i integrinekspresjon ved tumorprogresjon, noe som kan indikere at integrin kan ha en viktig funksjon ved kreftspredning. Få arbeider er gjort på kreftceller i væsker. Ekspresjon av β br-1-, β br-3- og β br-4-integriner i normalt og reaktivt mesotel og i maligne mesoteliomer er undersøkt i ett arbeid (81), mens man i en annen studie har påvist tilstedeværelse av β br-1-integrin i metastaser fra kolorektale karsinomer (82).

CAM

Dette er en familie av adhesjonsmolekyler som finnes på celleoverflater og som binder celler til hverandre og til matriks. ICAM-1 er påvist i mesotelceller fra væsker som inneholder både benigne og maligne celler (83). ICAM-1-immunreaktivitet er også rapportert i metastaser fra ventrikkelskarsinom (84), men det finnes ikke noen studier der man har rapportert V-CAM-status i væsker.

Karbohydratantigener

Alle celler har suktermolekyler på overflaten, og endringer i disse strukturene er vist å ha prognostisk verdi for en rekke forskjellige tumortyper. Det har lenge vært kjent at mange sukkerstrukturer endres betydelig under kreftutvikling, og det har vært antatt at de hadde adhesive egenskaper. Oppdagelsen av selektin-karbohydrat-bindingen er den til nå sterkeste indikator på dette. Blokkering av både karbohydrater og selektiner har i in vitro-forsøk resultert i hemming av adhesjonen mellom kreftceller og endotel. En rekke studier omhandler karbohydrattumorassosierte antigener i væsker (85), men det foreligger kun begrenset informasjon om karbohydratstrukturene i karsinomceller. CA-19-9 (sialyl Le A) er rapportert å ha høy spesifisitet, men moderat sensitivitet ved å skille adenokarsinomer fra maligne mesoteliomer (28). Sensitiviteten til CA-19-9 var sammenliknbar med den til EMA, CEA og CA-125 i metastaser fra ovarialkarsinom (86). Sialyl Le A og sialyl Le X er også påvist i kolorektale karsinomceller i væsker (82).

Proteaser

Tumorinfiltrasjon gjennom basalmembranen og ut i omgivende vev er et av de viktigste kriteriene for malignitet. Basalmembranen er en kontinuerlig matriks av protein, glykoprotein og proteoglykan som må nedbrytes før tumor kan infiltrere. Proteasene skilles ut som inaktive molekyler som kan aktiveres av proteiner som produseres i normale celler, som for eksempel fibroblaster. I normalt vev er inhibitorer av disse proteolytiske enzymene like viktige som proteasene, og prosessen foregår kontrollert som en proteolytisk kjedereaksjon, og har i så måte mange likhetstrekk med blodkoagulasjon.

Matriksmetalloproteinaser er en gruppe enzymer som produseres av tumor og av fibroblaster og endotelceller omkring tumor. De inndeles etter sin substratspesifisitet. Tilstedeværelse av metalloproteinaser (MMP) og deres inhibitorer (TIMP) i væsker er rapportert i to undersøkelser (87, 88), men betydningen av MMP- og TIMP-ekspresjon på maligne celler i væsker er ikke klarlagt.

Catepsin

Bare i ...en publikasjon er det beskrevet forekomst av latent form av catepsin B i pleuravæske med metastase fra mammakarsinom (89). Det foreligger så vidt vi vet ingen studier vedrørende catepsin D i væsker.

Vekstfaktorer

Transformerende vekstfaktor α (TGF- α) og epidermal vekstfaktor (EGF) i væsker har bare vært omtalt i 'n studie (90), hvor man påviste TGF- α , men ikke EGF ved hjelp av radioimmunoassay og radioreseptorassayteknikk. Ingen studier er publisert med henblikk på forekomst av TGF- og EGF-reseptor i tumorceller.

Platederivert vekstfaktor (PDGF) og PDGF-reseptor er påvist i benigne og i maligne mesotelceller (91, 92) så vel som i pleuravæske fra pasienter med metastase fra lungekarsinom (93). Ingen undersøkelser med henblikk på PDGF-ekspresjon i metastatiske karsinomceller i væsker er publisert.

Fibroblastvekstfaktor (FGF)-ekspresjon i væsker har per i dag ikke vært publisert.

Andre markører for maligne celler

Telomeraseekspresjon er beskrevet i tumorceller i væsker ved hjelp av PCR- og TRAP-assay (94 – 96), med generelt høy sensitivitet og spesifisitet.

Angiogenese

Det er ikke publisert undersøkelser vedrørende VEGF-ekspresjon i tumorceller.

Multimedikamentresistens

Det er kun publisert 'n rapport der man har sammenliknet betydningen av tre monoklonale antistoffer mot multimedikamentresistentrelatert P-glykoprotein (97). Undersøkelsen omfatter både vevsbiopsier og væsker.

Egne erfaringer

Diagnostisering av karsinomceller i serøse væsker er ofte et stort problem, og vi har nylig vist at et antistoffpanel bestående av Ber-EP4, B-72.3 og antistoffer rettet mot forskjellige karbohydratepitoper (61, upubliserte resultater) har meget høy spesifisitet og sensitivitet på formalinfiksert celleblokkmateriale. På dette materialet er calretinin den beste mesotelmarkøren. CEA har størst betydning ved diagnostiseringen av svulster utgått fra gastrointestinaltractus samt av og til ved spredning av brystkreft. Derimot har CEA liten betydning ved diagnostisering av ovarialkreft (61). Antistoff mot CA-125 har liten evne til å skille mellom ovarialkreftceller og mesotelceller på grunn av overlappende immunreaktivitet (61), sannsynligvis som følge av felles mesodermalt opphav.

Foreløpige undersøkelser av vår gruppe har vist høy sensitivitet og spesifisitet for antistoffer rettet mot E-cadherin og α -, β - og γ -catenin ved diagnostisering av ovariekreft på celleblokkmateriale. På ferskt, ufiksert materiale finner vi at BerEP-4 og N-cadherin er gode markører for henholdsvis epitel- og mesotelceller. Disse antistoffene inngår derfor i vårt standardpanel ved væskestrømscytometrisk undersøkelse av bl.a. serøse væsker, en undersøkelsesmetode som er rask og kostnadseffektiv med høy sensitivitet og spesifisitet (ikke-publisert undersøkelse).

Prognostisk betydning av cellemarkørene har vi funnet for karbohydratstrukturen sialyl-Lewisx (sLe^x), som blir oppregulert ved metastatisk prostatakarsinom. Imidlertid tyder foreløpige immunocytokjemiske observasjoner på at aktivering av metalloproteinaserne MMP-2, MMP9 og MT1-MMP og proteinaseinhibitoren TIMP-2 korrelerer med dårlig overlevelse av ovariekreft (ikke publisert).

Eksperimentelt kan molekylærbiologisk teknikk gi viktig tilleggsinformasjon, men metodene er ressurskrevende og egner seg foreløpig ikke for rutinediagnostikk.

Konklusjon

Maligne cellers spredningsvei inkluderer ofte serøse hulrom, og det er viktig å diagnostisere slik spredning tidligst mulig. Diagnostisering av maligne celler i serøse væsker kan være vanskelig fordi epiteliale kreftceller har stor likhet med mesotelceller. Derfor kan man ha stor nytte av immunocytokjemisk teknikk med antistoffer som karakteriserer epitel versus mesotel. Som følge av egne erfaringer vil vi anbefale et panel bestående av antistoffene BerEP-4 og B-72.3, karbohydratantigener og E-cadherinkompleksprotein i tillegg til calretinin ved utredning av mulig kreftspredning til serøse væsker. I vanskelige tilfeller kan væskestrømscytometrisk undersøkelse være til hjelp.

Til tross for store fremskritt innen diagnostisering og behandling av kreft, dør de fleste pasientene av metastaser. Økt kunnskap om metastaseringsprosessen, som omfatter en rekke forskjellige hendelser, er derfor viktig. Hvert av trinnene i denne prosessen forutsetter helt spesielle egenskaper hos kreftcellene, som har sitt organiske grunnlag i form av biokjemiske prosesser med bl.a. produksjon av signalmolekyler, enzymer og overflatereseptorer. Kreftspredning til serøse hulrom er ledd i metastaseringsprosessen, og på tross av moderne molekylærbiologiske metoder er fortsatt mye ukjent.

LITTERATUR

1. Bedrossian CWM. Malignant effusions: a multimodal approach to cytologic diagnosis. New York: Igaku-Shoin, 1994.
2. Bedrossian CWM. Diagnostic problems in serous effusions. Diagn Cytopathol 1998; 19: 131 – 7.

3. Zuna RE, Mitchell ML. Cytologic findings in peritoneal washings associated with benign gynecologic disease. *Acta Cytol* 1988; 32: 139 – 47.
4. Zuna RE, Mitchell ML, Mulick KA, Weijchert WM. Cytohistologic correlation of peritoneal washing cytology in gynecologic disease. *Acta Cytol* 1989; 33: 327 – 36.
5. Ziselman EM, Harkavy SE, Hogan M, West W, Atkinson B. Peritoneal washing cytology. Uses and diagnostic criteria in gynecologic neoplasms. *Acta Cytol* 1984; 28: 105 – 10.
6. Covell JR, Carry JB, Feldman PS. Peritoneal washings in ovarian tumors. Potential sources of error in cytologic diagnosis. *Acta Cytol* 1985; 29: 310 – 6.
7. Ravinsky E. Cytology of peritoneal washings in gynecologic patients. Diagnostic criteria and pitfalls. *Acta Cytol* 1986; 30: 8 – 16.
8. Sneige N, Fernandez T, Copeland LJ, Katz RL. Mllerian inclusions in washings. Potential source of error in cytologic diagnosis. *Acta Cytol* 1986; 30: 271 – 6.
9. Sidawy MK, Silverberg SG. Endosalpingiosis in female peritoneal washings: a diagnostic pitfall. *Int J Gynecol Pathol* 1987; 6: 340 – 6.
10. Clement PB, Young RH. Florid mesothelial hyperplasia associated with ovarian tumors: a potential source of error in tumor diagnosis and staging. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12: 51 – 8.
11. Leong AS, Parkinson R, Milios J. «Thick» cell membranes revealed by immunohistochemical staining: a clue to the diagnosis of mesothelioma. *Diagn Cytopathol* 1990; 6: 9 – 13.
12. Esteban JM, Yokota S, Husain S, Battifora H. Immunocytochemical profile of benign and carcinomatous effusions. A practical approach to difficult diagnosis. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 698 – 705.
13. Tickman RJ, Cohen C, Varma VA, Fekete PS, DeRose PB. Distinction between carcinoma cells and mesothelial cells in serous effusions. Usefulness of immunohistochemistry. *Acta Cytologica* 1990; 34: 491 – 6.
14. Shield PW, Callan JJ, Devine PL. Markers for metastatic adenokarsinoma in serous effusion specimens. *Diagn Cytopathol* 1994; 11: 237 – 45.
15. Frisman DM, McCarthy WF, Schleiff P, Buckner SB, Nocito JD jr., O"Leary TJ. Immunohistochemistry in the differential diagnosis of effusions: use of logistic regression to select a panel of antibodies to distinguish adenokarsinomas from mesothelial proliferations. *Mod Pathol* 1993; 6: 179 – 84.
16. Nance KV, Silverman JF. Immunocytochemical panel for the identification of malignant cells in serous effusions. *Am J Clin Pathol* 1991; 95: 867 – 74.

17. Delahaye M, van der Ham F, van der Kwast TH. Complementary value of five carcinoma markers for the diagnosis of malignant mesothelioma, adenokarsinoma metastasis, and reactive mesothelium in serous effusions. *Diagn Cytopathol* 1997; 17: 115 – 20.
18. Kuenen-Boumeester V, van Loenen P, de Bruijn EMCA, Henzen-Logmans SC. Quality control of immunocytochemical staining of effusions using a standardized method of cell processing. *Acta Cytologica* 1996; 40: 475 – 9.
19. Athanassiadou P, Athanassiades P, Lazaris D, Kyrkou K, Petrakakou E, Aravantinos D. Immunocytochemical differentiation of reactive mesothelial cells and adenokarsinoma cells in serous effusions with the use of carcinoembryonic antigen and fibronectin. *Acta Cytologica* 1994; 38: 718 – 22.
20. Lauritzen AF. Diagnostic value of monoclonal antibody B72.3 in detecting adenokarsinoma cells in serous effusions. *APMIS* 1989; 97: 761 – 6.
21. Robinson RJ, Royston D. Comparison of monoclonal antibodies AUA1 and BER EP4 with anti-CEA for detecting carcinoma cells in serous effusions and distinguishing them from mesothelial cells. *Cytopathology* 1993; 4: 267 – 71.
22. Bailey ME, Brown RW, Mody DR, Cagle P, Ramzy I. Ber-EP4 for differentiating adenokarsinoma from reactive and neoplastic mesothelial cells in serous effusions. Comparison with carcinoembryonic antigen, B72.3, and Leu-M1. *Acta Cytologica* 1996; 40: 1212 – 6.
23. Lee JS, Nam JH, Lee MC, Park CS, Juhng SW. Immunohistochemical panel for distinguishing between carcinoma and reactive mesothelial cells in serous effusions. *Acta Cytologica* 1996; 40: 631 – 6.
24. Flynn MK, Johnston W, Bigner S. Carcinoma of ovarian and other origins in effusions. Immunocytochemical study with a panel of monoclonal antibodies. *Acta Cytologica* 1993; 37: 439 – 47.
25. Matter-Walstra KW, Kraft R. Atypical cells in effusions: diagnostic value of cell image analysis combined with immunocytochemistry. *Diagn Cytopathol* 1996; 15: 263 – 9.
26. Maguire B, Whitaker D, Carello S, Spagnolo D. Monoclonal antibody Ber-EP4: its use in the differential diagnosis of malignant mesothelioma and carcinoma in cell blocks of malignant effusions and FNA specimens. *Diagn Cytopathol* 1994; 10: 130 – 4.
27. Diaz-Arias AA, Loy TS, Bickel JT, Chapman RK. Utility of Ber-EP4 in the diagnosis of adenokarsinoma in effusions: an immunocytochemical study of 232 cases. *Diagn Cytopathol* 1993; 9: 516 – 21.
28. Fetsch PA, Abati A, Hijazi YM. Utility of the antibodies CA 19 – 9, HMBE-1, and Thrombomodulin in the diagnosis of malignant mesothelioma and adenokarsinoma in cytology. *Cancer* 1998; 84: 101 – 8.

29. Barberis MCP, Faleri M, Veronese S, Casadio C, Viale G. Calretinin. A selective marker of normal and neoplastic mesothelial cells in serous effusions. *Acta Cytologica* 1997; 41: 1757 – 61.
30. Kupryjanczyk J, Karpinska G. Desmin expression in reactive mesothelium: a potential aid in evaluation of gynecologic specimens. *Int J Gynecol Pathol* 1998; 17: 123 – 8.
31. Shield PW. Lectin binding properties of cells from serous effusion and peritoneal washing specimens. *J Clin Pathol* 1989; 42: 1178 – 83.
32. Rosen-Levin E, Patil JR, Watson CW, Jagirdar J. Distinguishing benign from malignant pleural effusions by lectin immunocytochemistry. *Acta Cytologica* 1989; 33: 499 – 504.
33. Lee JS, Lee MC, Park CS, Juhng SW. Diagnostic value of p53 protein and flow cytometric DNA analysis in the study of serous effusions. *Acta Cytologica* 1995; 41: 1719 – 25.
34. Sikora J, Dworacki J, Trybus M, Batura-Gabryel H, Zeromski J. Correlation between DNA content, expression of Ki-67 antigen of tumor cells and immunophenotype of lymphocytes from malignant effusions. *Tumor Biol* 1998; 19: 196 – 204.
35. Joseph MG, Banerjee D, Harris P, Gibson S, McFadden RG. Multiparameter flow cytometric DNA analysis of effusions: a prospective study of 36 cases compared with routine cytology and immunohistochemistry. *Mod Pathol* 1995; 8: 686 – 93.
36. Pinto MM. DNA analysis of malignant effusions. Comparison with cytologic diagnosis and carcinoembryonic antigen content. *Analyt Quant Cytol Histol* 1992; 14: 222 – 6.
37. De Castro PR, Molero T, Acosta O, Julia-Serda G, Caminero J, Cabrera P et al. Value of DNA analysis in addition to cytological testing in the diagnosis of malignant pleural effusions. *Thorax* 1994; 49: 692 – 4.
38. Frierson HF, Mills SE, Legier JF. Flow cytometric analysis of ploidy in immunohistochemically confirmed examples of malignant epithelial mesothelioma. *Am J Clin Pathol* 1988; 90: 240 – 3.
39. Rijken A, Dekker A, Taylor S, Hoffman P, Blank M, Krause JR. Diagnostic value of DNA analysis in effusions by flow cytometry and image analysis. *Am J Clin Pathol* 1991; 95: 6 – 12.
40. Motherby H, Marcy T, Hecker M, Ross B, Nadjari B, Mller HAKM et al. Static DNA cytometry as a diagnostic aid in effusion cytology. I. DNA aneuploidy for identification and differentiation of primary and secondary tumors of the serous membranes. *Analyt Quant Cytol Histol* 1998; 20: 153 – 61.

41. Motherby H, Nadjari B, Rammerbach T, Marcy T, Pomjanskaja N, Mller W et al. Static DNA cytometry as a diagnostic aid in effusion cytology. II. DNA aneuploidy for identification of neoplastic cells in equivocal effusions. *Analyt Quant Cytol Histol* 1998; 20: 162 – 8.
42. Kaern J, Trope CG, Kristensen GB, Pettersen EO. Flow cytometric DNA ploidy and S-phase heterogeneity in advanced ovarian carcinoma. *Cancer* 1994; 73: 1870 – 7.
43. Tamai M, Tanimura H, Yamaue H, Iwahashi M, Tsunoda T, Tani M et al. Expression of carcinoembryonic antigen in fresh human gastric cancer cells assessed by flow cytometry. *J Surg Oncol* 1993; 52: 176 – 80.
44. Roka S, Fiegl M, Zojer N, Filipits M, Schuster R, Steiner B et al. Aneuploidy of chromosome 8 as detected by interphase fluorescence in situ hybridization is a recurrent finding in primary and metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 48: 125 – 33.
45. Zojer N, Fiegl M, Mullauer L, Chott A, Roka S, Ackermann J et al. Chromosomal imbalances in primary and metastatic pancreatic carcinoma as detected by interface cytogenetics: basic findings and clinical aspects. *Br J Cancer* 1998; 77: 1337 – 42.
46. Zojer N, Fiegl M, Angerler J, Mullauer L, Gsur A, Roka S et al. Interface fluorescence in situ hybridization improves the detection of malignant cells in effusions from breast cancer patients. *Br J Cancer* 1997; 75: 403 – 7.
47. Augustus M, Bruderlein S, Gebhart E. Cytogenetic and cell cycle studies in metastatic cells from ovarian carcinomas. *Anticancer Res* 1986; 6: 283 – 9.
48. Musilova J, Michalova K. Cytogenetic study of cancer cells in effusions. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 19: 271 – 9.
49. Bruderlein S, Gebhart E. Double minutes in prematurely condensed chromatin of human tumor cells. *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 16: 145 – 52.
50. Gebhart E, Bruderlein S, Tulusan AH, von-Maillot K, Birkmann J. Incidence of double minutes, cytogenetic equivalents of gene amplifications, in human carcinoma cells. *Int J Cancer* 1984; 34: 369 – 73.
51. Engel H, Friedrich J, Kleespies C, Kurbacher CM, Schondorf T, Grecu O et al. Detection of chromosomal aberrations in tumor cells and tumor infiltrating lymphocytes by molecular cytogenetics in patients with gynecological cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 1998; 106: 159 – 65.
52. Renshaw AA, Dean BR, Antman KH, Sugarbaker DJ, Cibas AS. The role of cytologic evaluation of pleural fluid in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Chest* 1997; 111: 106 – 9.
53. Johnson TM, Kuffel DJ, Dewald GW. Detection of hyperdiploid malignant cells in pleural effusions with chromosome-specific probes and fluorescence in situ hybridization. *Mayo Clin Proc* 1996; 71: 643 – 8.

54. Granados R, Cibas ES, Fletcher JA. Cytogenetic analysis of effusions from malignant mesothelioma. A diagnostic adjunct to cytology. *Acta Cytol* 1994; 38: 711 – 7.
55. Tanaka K, Boice CR, Testa GR. Chromosome aberrations in nine patients with ovarian cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; 43: 1 – 14.
56. Sikora J, Dworacki G, Zeromski J. DNA ploidy, S-phase, and Ki-67 antigen expression in the evaluation of cell content of pleural effusions. *Lung* 1996; 174: 303 – 13.
57. El-Habashi A, Freeman SM, el-Morsi B, Morris GF, Marrogi AJ. p53 and PCNA coexpression of 81 pleural and peritoneal specimens: an immunohistochemical study. *Pathol Res Pract* 1996; 192: 834 – 9.
58. Huang MS, Tsai MS, Hwang JJ, Wang TH. Comparison of nucleolar organizer regions and DNA flow cytometry in the evaluation of pleural effusion. *Thorax* 1994; 49: 1152 – 6.
59. Derenzini M, Nardi F, Farabegoli F, Ottinetti A, Roncaroli F, Bussolati G. Distribution of silver-stained interphase nucleolar organizer regions as a parameter to distinguish neoplastic from non-neoplastic reactive cells in human effusions. *Acta Cytol* 1989; 33: 491 – 8.
60. Lim SM, Duggan MA, Ruff M, Rahim S, McGregor SE, Green FH. Morphometric analysis of nucleolar organizer regions in benign and malignant peritoneal washings using backscattered electron microscopy. *J Pathol* 1992; 166: 53 – 60.
61. Davidson B, Risberg B, Kristensen G, Kvalheim G, Emilsen E, Bjåmer A et al. Detection of cancer cells in effusions in patients diagnosed with gynecological malignancies – evaluation of five epithelial markers. *Virch Arch* 1999; 435: 43 – 9.
62. Carillo R, Sneige N, el-Naggat AK. Interphase nucleolar organizer regions in the evaluation of serosal cavity effusions. *Acta Cytol* 1994; 38: 367 – 72.
63. Zoppi JA, Pellicer EM, Sundblad AS. Diagnostic value of p53 protein in the study of serous effusions. *Acta Cytologica* 1995; 39: 721 – 4.
64. Dowell SP, McGoogan E, Picksley SM, el-Deiry WS, Vogelstein B, Hall PA. Expression of p21waf1/cip1, MDM2 and p53 in vivo: analysis of cytological preparations. *Cytopathology* 1996; 7: 340 – 51.
65. Dowell SP, Wilson PO, Derias NW, Lane DP, Hall PA. Clinical utility of the immunocytochemical detection of p53 protein in cytological specimens. *Cancer Res* 1994; 54: 2914 – 8.
66. Mayall F, Heryet A, Manga D, Kriegeskotten A. p53 immunostaining is a highly specific and moderately sensitive marker of malignancy in serous fluid cytology. *Cytopathology* 1997; 8: 9 – 12.

67. Mullick SS, Green LK, Ramzy I, Brown RW, Smith D, Gondo M et al. p53 gene product in pleural effusions. Practical use in distinguishing benign from malignant cells. *Acta Cytol* 1996; 40: 855 – 60.
68. Walts AE, Said JW, Koeffler HP. Is immunoreactivity for p53 useful in distinguishing benign from malignant effusions? Localization of p53 gene product in benign mesothelial and adenokarsinoma cells. *Mod Pathol* 1994; 7: 462 – 8.
69. El-Habashi A, El-Morsi B, Freeman SM, El-Didi M, Marrogi AJ. Tumor oncogenic expression in malignant effusions as a possible method to enhance cytologic diagnostic sensitivity. An immunohistochemical study of 87 cases. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 206 – 14.
70. Tawfik MS, Coleman DV. C-myc expression in exfoliated cells in serous effusions. *Cytopathology* 1991; 2: 83 – 92.
71. Ascoli V, Scalzo CC, Nardi F. C-erbB-2 oncoprotein immunostaining in serous effusions. *Cytopathology* 1993; 4: 207 – 18.
72. Yamashita K, Kuba T, Shinoda H, Takahashi E, Okayasu I. Detection of K-ras point mutations in the supernatants of peritoneal and pleural effusions for diagnosis complementary to cytologic examination. *Am J Clin Pathol* 1998; 109: 704 – 11.
73. Athanassiadou PP, Veneti SZ, Kyrkou KA, Athanassiades PH. Detection of c-Ha-ras oncogene expression in pleural and peritoneal smear effusion by in situ hybridization. *Cancer Detect Prev* 1993; 17: 585 – 90.
74. Rochlitz CF, Scott GK, Dodson JM, Liu E, Dollbaum C, Smith HS et al. Incidence of activating ras oncogene mutations associated with primary and metastatic human breast cancer. *Cancer Res* 1989; 49: 357 – 60.
75. Liu E, Dollbaum C, Scott G, Rochlitz C, Benz C, Smith HS. Molecular lesions involved in the progression of a human breast cancer. *Oncogene* 1988; 3: 323 – 7.
76. Tojo N, Inase N, Ichioka M, Miyazato I, Nara N. Differential expression of CD44 splice variants in malignant and benign pleural effusions. *Tohoku J Exp Med* 1996; 179: 273 – 9.
77. Taylor DD, Gercel-Taylor C, Gall SA. Expression and shedding of CD44 variant isoforms in patients with gynecologic malignancies. *J Soc Gynecol Investig* 1996; 3: 289 – 94.
78. Filie AC, Abati A, Fetsch P, Azumi N. Hyaluronate binding probe and CD44 in the differential diagnosis of malignant effusions: disappointing results in cytology material. *Diagn Cytopathol* 1998; 18: 473 – 4.
79. Matsuura K, Kawanishi J, Fujii S, Imamura M, Hirano S, Takeichi M et al. Altered expression of E-cadherin in gastric cancer tissues and carcinomatous fluid. *Br J Cancer* 1992; 66: 1122 – 30.

80. Schofield K, D'Aquila T, Rimm DL. The cell adhesion molecule, E-cadherin, distinguishes mesothelial cells from carcinoma cells in fluids. *Cancer* 1997; 81: 293 – 8.
81. Barth TF, Bruderlein S, Rinaldi N, Mechttersheimer G, Moller P. Pleural mesothelioma mimics the integrin profile of activated, sessile, rather than detached mesothelial cells. *Int J Cancer* 1997; 72: 77 – 86.
82. Kitsuki H, Katano M, Morisaki T, Torisu M. CEA-mediated homotypic aggregation of human colorectal cells in malignant cells in a malignant effusion. *Cancer Lett* 1995; 88: 7 – 13.
83. Mutti L, Piacenza A, Valenti V, Castagneto B, Betta PG. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) by reactive mesothelial cells in pleural effusions. *Pathologica* 1993; 85: 725 – 8.
84. Koyama S, Ebihara T, Fukao K. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) during the development of invasion and/or metastasis of gastric carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 1992; 118: 609 – 14.
85. Villena V, Lopez-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Martin-Escribano P, Ortuno-de-Solo B, Estenoz-Alfaro J. Diagnostic value of CA 72 – 4, carcinoembryonic antigen, CA 15 – 3, and CA 19 – 9 assay in pleural fluid. A study of 207 patients. *Cancer* 1996; 78: 736 – 40.
86. Shinozuka T, Ebisawa K, Miyamoto T, Murakami M, Fujii A, Osamura Y. Application of immunocytochemistry to the cytologic study of peritoneal fluids in patients with ovarian cancer. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1991; 43: 1355 – 62.
87. Eickelberg O, Sommerfeld CO, Wyser C, Tamm M, Reichenberger F, Bardin PG et al. MMP and TIMP expression pattern in pleural effusions of different origins. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1987 – 92.
88. Hurewitz AN, Zucker S, Mancuso P, Wu CL, Dimassimo B, Lysik RM et al. Human pleural effusions are rich in matrix metalloproteinases. *Chest* 1992; 102: 1808 – 14.
89. Petrova-Skalkova D, Krepela E, Rasnick D, Vicar J. A latent form of cathepsin B in pleural effusions. I. Characterization of the enzyme in breast cancer patients. *Biochem Med Metab Biol* 1987; 38: 219 – 27.
90. Kamiya Y, Ohmura E, Murakami H, Shizume K, Tsushima T, Demura H et al. Transforming growth factor-alpha activity in effusions: comparison of radioimmunoassay and radioreceptorassay. *Life Sci* 1993; 52: 1381 – 6.
91. Langerak AW, De Laat PA, Van Der Linden-Van Beurden CA, Delahaye M, Van Der Kwast TH, Hoogsteden HC et al. Expression of platelet-derived growth factor (PDGF) receptors in human malignant mesothelioma in vitro and in vivo. *J Pathol* 1996; 178: 151 – 60.

92. Ascoli V, Scalzo CC, Facciolo F, Nardi F. Platelet-derived growth factor receptor immunoreactivity in mesothelioma and nonneoplastic mesothelial cells in serous effusions. *Acta Cytol* 1995; 39: 613 – 22.
93. Safi A, Sadmi M, Martinet N, Menard O, Vaillant P, Gallati H et al. Presence of elevated levels of platelet-derived growth factor (PDGF) in lung adenokarsinoma pleural effusions. *Chest* 1992; 102: 204 – 7.
94. Yang CT, Lee MH, Lan RS, Chen JK. Telomerase activity in pleural effusions: diagnostic significance. *J Clin Oncol* 1998; 16: 567 – 73.
95. Cunningham VJ, Markham N, Shroyer AL, Shroyer KR. Detection of telomerase expression in fine-needle aspirations and fluids. *Diagn Cytopathol* 1998; 18: 431 – 6.
96. Gorham H, Yoshida K, Sugino T, Marsh G, Manek S, Charnock M et al. Telomerase activity in human gynecological malignancies. *J Clin Pathol* 1997; 50: 501 – 4.
97. Bittl A, Nap M, Jager W, Lathan B, Lang N. Immunohistochemical detection of P-glycoprotein in normal and malignant tissues: a comparative study of three monoclonal antibodies, JSB-1, C219 and 265/F4, against different epitopes using frozen and paraffin tissue sections. *Tumour Biol* 1993; 14: 155 – 66.
98. Jørgensen T, Berner A, Kaalhus O, Tveter KJ, Danielsen HE, Bryne M. Up-regulation of the oligosaccharide sialyl LewisX: a new prognostic parameter in metastatic prostate cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 1817 – 9.
-

Publisert: 10. februar 2000. Tidsskr Nor Legeforen.

© Tidsskrift for Den norske legeforening 2026. Lastet ned fra tidsskriftet.no 3. juli 2026.