

INTERAMERICAN CONGRESS OF RADIOLOGY

MIAMI - 1998

**US DOPPLER COLOR UTILITY
In the differential diagnostic of
Nodular Mammary Lesions**

Eduardo Rafael Cuvertino MD.



**National University of Córdoba
Faculty of Medical Sciences
National Hospital of Clinics
ARGENTINA**

Autor: Cuvertino Eduardo Rafael.

Universidad Nacional de Córdoba-Hospital Nacional de Clínicas
Paraná 533 Piso 2| "A" - Barrio Nueva Córdoba (5000). Córdoba - Argentina
ercuvertino@gmail.com.ar

Título:

“Utilidad del US Doppler Color en el Diagnóstico Diferencial de lesiones nodulares mamarias”

Objetivo:

Presentar nuestra experiencia en correlación Histopatológica y U.S. Doppler, en la interpretación de cambios vasculares de nódulos mamarios.

Material y Método:

Analizamos 105 lesiones sin tratamiento previo. Estudiamos el patrón de señal intra y extratumoral con Doppler Color (**DC**), Power Doppler (**PDC**) y Doppler Pulsado (**PD**) con transductor lineal de 10 - 12 MHz incorporando **Medios de Contraste** (Levovist) cuando el perfil diagnóstico no fue claro.

Resultados:

El 65 % de la lesiones fueron Malignas y el 35 % Benignas. Los **Vasos Extranodulares** fueron vistos en el 100 % de casos. El 100 % de nódulos malignos tenían **Vasos Intranodulares**, con signos penetrantes, irregularidad y dismorfía, con **IR > de 0,70** (92,3 %).

Los Agentes de Contraste reforzaron estos hallazgos, demostrando una sensibilidad del 91 % y especificidad del 87,5 %. El Valor Predictivo Positivo para demostrar lesiones benignas fue del 92 %.

Conclusiones:

La evaluación de la vascularidad de las lesiones mamarias aparece clínicamente útil y fácil de realizar. El PDC y DP mejoran los hallazgos del Modo B y el DC adicionando datos vasculares que facilitan la interpretación clínica y de la mamografía. Estos hallazgos son reforzados por el uso de agentes eco-realzadores incrementando la exactitud y la eficiencia clínica del US para la búsqueda de lesiones malignas.

Objetivos de Aprendizaje:

- **Como interpretar los cambios de la angiogenesis tumoral y demostrar la habilidad del DC, PDC, DP para identificar áreas de tejido atípico.**
 - **Informar acerca de la utilidad de los Agentes de Contraste.**
 - **Ilustrar sobre potenciales errores en el uso de Imágenes Doppler.**
-

Resumen:

Efectuamos un análisis de 20 exploraciones ecográficas de alteraciones mamarias que habían sido consideradas “dudosas” mediante el control clínico y mamográfico.

Se utilizó la técnica del Doppler Color, Pulsado y Potenciado, asociando la incorporación de Medio de Contraste Eco-realzador (Levovist). La evaluación se efectuó con y sin software de medios de contraste.

En todos los casos se efectuó correlación histopatológica.

Ocho lesiones fueron malignas. En estos casos se demostró la presencia de vascularidad dominante, caracterizada por la presencia de Vasos Penetrantes Irregulares y Vasos Intranodulares amorfos y erráticos, donde el Doppler Pulsado demostró elevados Indices de Resistencia (> 0,70). El Contraste Eco-realzador, permitió visualizar un 75 % más de vasos en casos de lesiones malignas, con importantes cambios en la señal del Doppler Pulsado; mientras que solo generó cambios en el 10 % de las lesiones benignas.

En estas condiciones podemos decir, que el US Doppler ha demostrado habilidad para poner en evidencia “otros signos de atipia”, constituyéndose en un aliado de la Mamografía y el US convencional.

Los cambios vasculares propios de la angiogenesis tumoral se expresan de manera particular y demuestran una sensibilidad próxima al 87 % para sugerir el diagnóstico de malignidad.

La aplicación del Contraste Eco-realizador, parece mejorar las posibilidades de cualificar y cuantificar el flujo, constituyéndose en un aporte de alta utilidad clínica al realzar el valor predictivo negativo (92 %) para malignidad, demostrado por el Doppler Convencional.

Introducción:

El papel actual del US de Alta Resolución en el algoritmo diagnóstico de la patología mamaria, ha superado aquel simple precepto del estado sólido o líquido de la lesión, para pasar a desempeñar un papel más dominante en la caracterización del nódulo sólido en la mama de alto riesgo. De esta manera, en los últimos años hemos visto esta suerte coalescencia entre la mamografía y la ecografía, que les han permitido crecer y sostenerse mutuamente, con el objetivo de llegar precozmente a los estadios iniciales de la enfermedad maligna.

Originalmente, el Doppler Color generó algunas controversias, pero el advenimiento de una tecnología madura y la presencia del Doppler Potencia, han cerrado muchos espacios permitiendo comprobar y comprender los cambios morfológicos y velocimétricos que genera la Angiogenesis Tumoral.

En los últimos 5 años, hemos efectuado aproximadamente 7000 exploraciones mamarias con US Doppler con un alto porcentaje de correlaciones histopatológicas. Esto nos ha permitido caracterizar apropiadamente los patrones vasculares normales de la mama y los cambios de perfusión que existen frente a cada afección focal o difusa.

Nuestra experiencia multidisciplinaria y la de otros muchos investigadores, han demostrado un alto valor agregado del Doppler Color unido al ultrasonido en modo B.

Fundados en estos hechos comprobados, decidimos incorporar la alternativa de los Medios de Contraste, con el objetivo de confirmar el valor clínico del Doppler (en sus diferentes modalidades), para el diagnóstico diferencial de las lesiones malignas y al mismo tiempo, evaluar la significación de los mismos frente a las situaciones de falsos positivos que podían darse en casos de mastopatías inflamatorias, necrosis grasa, papilomas intraductales y fallos en la evaluación de vasos mamarios principales, como así también en las mamas densas o las altamente displásicas.

Material y Método:

La plataforma de apoyo para nuestra tarea se fundó en el análisis topográfico, morfológico y velocimétrico de los distintos patrones vasculares de las lesiones mamarias malignas que habíamos investigado durante años anteriores, cuales eran los signos de vascularidad extranodular e intranodular irregular, dismorfía y anarquía, acompañados de cambios velocimétricos importantes, como elevadas velocidades sistólicas y consecuentes Índices de Resistencias > de 0,70.

En todos los casos se efectuó primeramente la evaluación clínica junto al Ginecólogo Especialista y seguidamente se efectuó la exploración radiológica con equipo de alta resolución. De todas las exploraciones efectuadas entre Noviembre de 1997 y Junio de 1998, se seleccionaron a 20 pacientes de alto riesgo por sus antecedentes, con o sin síntomas, con alteraciones glandulares y/o altamente dudosas ante la evaluación clínica y mamográfica. Las significaciones al respecto fueron incluidas en la ficha técnica protocolar.

La exploración con US se efectuó con Equipo GE Logic 700, con transductor lineal de 12 MHz realizando inicialmente la Caracterización Tisular (sólido, quístico, mixto), localización, volumetría, superficie, límites, homogeneidad, presencia de atenuación o refuerzo posterior, comportamiento del tejido periférico, piel y plano retromamario, como también la búsqueda de adenopatías.

El Doppler Color convencional y el Doppler Potencia fueron inicialmente usados como aproximación explorando la vascularidad Extra e Intranodular, definiendo la topografía y morfología de cada vaso en particular. Mediante el Doppler Pulsado se efectuaron múltiples muestras para valoración de velocimetrías de flujos y análisis de curvas espectrales.

Seguidamente se efectuó inyección endovenosa de Contraste Eco-realizador (Levovist – Schering) en concentraciones de 300 mg/ml.; con administración rápida. Se reiteraron las exploraciones vasculares, tipificando y caracterizando los cambios vasculares relacionados con la cantidad de vasos visibles, extensión de los mismos, intensidad de la señal, tiempo de duración como así también tiempo inicial de saturación tisular (wave-in) y el tiempo de lavado (wash-out). Los hallazgos fueron observados con Software convencional incluido comercialmente en los equipos con doppler color y además de ello con software de medios de contraste, diseñado especialmente para interpretar señales contrastadas.

En todos los casos se realizó estudio anatomopatológico.

Resultados:

Se detectaron 8 lesiones malignas y 12 benignas. Las lesiones malignas estuvieron representadas por 6 Carcinomas Ductales Invasivos y 2 Carcinomas Lobulillares Invasivos.

Las lesiones benignas fueron 4 Fibroadenomas, 1 Adenopatía reactiva intraglandular, 1 Papiloma, 4 casos de Adenosis y 2 casos de Necrosis Grasa.

El tamaño nodular varió entre 0,5 cc. hasta 4 cc. Las lesiones malignas tuvieron volúmenes entre 0,8 a 1,8 cc.

En todas las lesiones, ya fuesen benignas o malignas, el Doppler Color demostró vecinos a la superficie nodular a los **Vasos Periféricos o “Perinodulares”**:

En los **nódulos benignos** el patrón vascular estaba representado por:

Vasos Aislados Simples (de apariencia estelar, pequeños y en vecindades del nódulo);

Vasos Circulares (acompañantes de la superficie nodular y con calibre regular) y los

Vasos Penetrantes (Hiliares, siempre con calibre regular y sostenido).

En las **lesiones malignas**, fue dominante la presencia de:

Vasos Penetrantes Hiliares(94 %) que abordan las lesiones por múltiples sitios y están caracterizados por ser Irregulares con importantes cambios de calibre, tortuosidad, pérdida del eje principal del vaso y fracturas aparentes. Esta morfología vascular estuvo presente en más del 90 % de vasos, mientras que en otros estuvo representada por vasos que penetraban en forma “umbilicada” sobre la superficie nodular, manteniendo los parámetros de irregularidad descriptos.

La presencia de **Vasos Intrínsecos o “Intranodulares”** se evidenció en 14 lesiones (70 %) de los cuales 8 correspondían al 100 % de las lesiones malignas y los 6 restantes pertenecían a lesiones benignas (dos fibroadenomas, dos casos de necrosis grasa, un papiloma y una adenopatía). El 50 % de las lesiones benignas no evidenciaron flujo intranodular.

La morfología de Vasos Regulares, con calibre y orientación sostenida son patrimonio de los nódulos benignos. Estos son bien evidentes en los fibroadenomas de mayor volumen, como así también en los papilomas y en los casos de necrosis grasa donde es frecuente observar un vaso dominante que transcurre incluido en la lesión.

En contraposición a ello en las lesiones malignas resaltan los “vasos irregulares”: de variable calibre, forzosamente quebrantados, con morfología tortuosa y arrosariada y los “vasos amorfos”: por lo general múltiples, en forma de mancha vascular, con calibres proteiformes, cortos o en cadenas, de apariencia trabada, errática y anárquica.

La aplicación del Contraste Eco-realizador generó importantes cambios ya sea en las lesiones benignas o malignas.

En todos los vasos principales de la mama es posible demostrar un incremento en la señal doppler color y doppler pulsado que oscilaba entre 7 a 20 decibeles. En los casos de adenosis los cambios perilesionales son imperceptibles, tanto que en los primeros intentos pensamos en errores de implementación técnica, que luego pudimos descartar. En los casos de fibroadenoma, papiloma y necrosis grasa sí fue posible demostrar un cambio de señal similar al de los vasos principales con un incremento en la señal espectral y color, destacando que se visualizaban vasos en una “extensión” mayor de la original, que oscilaba entre el 30 y 50 %, pero en ninguno de los casos fue posible visualizar una mayor cantidad de vasos. En los casos de lesiones malignas se destaca igualmente un incremento en la señal, también acompañado de una mejor visualización de la extensión de los vasos, pero que se acompaña de un notable aumento en la visualización de estructuras vasculares que no habían sido detectadas previamente por el Doppler Color o Potenciado. Esto nos ha demostrado una impactante saturación vascular intralesional, con incremento en la señal del doppler pulsado, que confirman los cambios velocimétricos de la angiogenesis y en muchos casos muestran cambios turbulentos centrales.

La administración del contraste en forma rápida (bolo) demostró un tiempo inicial de saturación vascular entre los 50 y 90 segundos en el caso de lesiones benignas, pero que era más breve en las lesiones malignas (40-60 segundos). Del mismo modo el lavaje del contraste puso en evidencia que la evaluación de las lesiones malignas podía ser efectuada entre 5 a 9 minutos dependiendo de una inyección rápida o semi-rápida, mientras que en las benignas el tiempo de lectura apropiado oscilaba entre 3 y 5 minutos respectivamente. Si bien la administración lenta del contraste, nos ha demostrado una duplicación en los tiempos para exploración, los cambios cualitativos no han sido tan importantes en relación a los hallazgos

con administración rápida. Esto nos hizo desistir continuar con la doble modalidad luego de las primeras cinco exploraciones.

Exploración con el Doppler Pulsado:

Para el caso de los **Vasos Extranodulares**, poco más del 85 % de las lesiones benignas mostraron velocidades sistólicas inferiores a 15 cm/seg. con diástoles moderadas y consecuentes Índices de Resistencia Bajos (0,39 a 0,65 en el 91 % de casos).

En contraste con ello, el 100 % de nódulos malignos reveló IR mayor de 0.70 como respuesta a elevadas velocidades sistólicas y acentuadas caídas diastólicas.

Semejantes hallazgos pueden reflejarse en los **Vasos Intranodulares**, donde el 87 % de tumores malignos poseían IR mayores de 0.70.

Debemos además destacar que en las lesiones malignas, luego de la administración de medio de contraste es posible demostrar espectros francamente turbulentos, que no es posible observar en nódulos benignos. Este hallazgo es más demostrativo cuando existe una saturación vascular de la lesión, con el tipo de vasos amorfos probablemente vinculados con los fenómenos de múltiples shunt que genera la angiogenesis tumoral. Debe destacarse que en todos los casos donde hemos aplicado contraste, se ha realizado la señal del doppler pulsado, permitiendo la posibilidad de evaluar vasos de pequeño calibre que no habían podido ser observados previamente.

No se detectaron reacciones adversas por la administración del contraste endovenoso.

Discusión:

A pesar de contar con el US de alta resolución, no todas las exploraciones en modo “B” ponen en evidencia a los típicos y clásicos signos de malignidad. A este riesgo, debe adicionarse el componente subjetivo y la experiencia del ecografista, como elementos que pueden incrementar falsos positivos o negativos.

Por esta razón, la oportunidad de desenmascarar los patrones vasculares y poder objetivarlos, se convierte en un factor positivo de la ecuación diagnóstica.

Esto realza aún más, al poder evaluar un alto porcentaje de lesiones malignas de pequeño volumen, que pueden pasar desapercibidas frente a la exploración clínica o mamográfica cuando existen importantes componentes displásicos. Este concepto tiene mayor peso si se tiene en cuenta este efecto potenciador descrito de los medios de contraste.

Es importante poder visualizar **vasos extranodulares** en el 100% de lesiones, demostrando el evidente contraste entre la “regular topografía vascular benigna” donde se incluyen vasos aislados, circulares (explicados por el efecto de masa) y penetrantes regulares, frente a la categórica demostración de la “vinculante vascularidad maligna” signada en más del 90 % de casos por verdaderos Hilios Tumoraes, dominados por la irregularidad y el desorden.

En el caso de los **vasos intranodulares**, la visibilidad de los mismos parece estar relacionada en forma lineal con el volumen nodular. Esto podría significar una verdadera limitación para las exploraciones de pequeñas lesiones sospechosas de malignidad, pero el agente de contraste ha demostrado de manera especial el realce dominante e incremento en la visualización de los cambios vasculares propios de la atipia. La ausencia de vascularidad intranodular en el 50 % de tumores benignos y la visualización de aquella en el 100 % de las lesiones malignas, indica que la **neovascularidad maligna siempre tiende a ponerse en evidencia** a través de estos vasos erráticos, arrosariados, amorfos, de calibres variados y bifurcaciones múltiples, que demuestran la anarquía total.

La saturación dramática del color que demuestran estas lesiones malignas cuando aplicamos los agentes de contraste, debe ser un “signo guión” en la consecuente exploración, porque este comportamiento les es muy propio y hasta diríamos, casi unívoco.

Los vasos intrínsecos simples, uniformes, de calibre sostenido, límites netos y curso central parecen ser capital de la benignidad (50 %), concepto que se refuerza cuando la aplicación del contraste Eco-realizador solo consigue incrementar la señal y la visualización del vaso conocido, que conserva similares características a la exploración original. Esto es más llamativo en casos contrastados de polos adenosicos, donde no existen cambios absolutos o en casos de necrosis grasa o adenopatías, donde existe un vaso que a modo de “tutor” se encolumna a lo largo de la lesión, pero no revela el fenómeno de arborización errática de las atipias.

Las exploraciones efectuadas revelan que el Doppler Potenciado tiene una aparente mayor sensibilidad que el Doppler Color convencional, para poder discriminar sobre vasos de pequeño calibre. Sumado a ello, la aplicación del Contraste demuestra que es posible detectar vasos adicionales que no habían sido visualizados por aquel, “especialmente cuando las lesiones son malignas”.

La sola visualización de vasos ya sean periféricos, penetrantes o intranodulares no debería ser considerado como único parámetro para poder definir el perfil de una lesión.

Esto es válido frente a los riesgos que ofrece la topografía vascular como en caso de Vasos Penetrantes presentes en el 100 % de lesiones malignas pero también en el 50 % de las lesiones benignas o como además puede darse en caso de vasos intranodulares, también visibles en la mitad de lesiones benignas. Si bien existe la oportunidad de tipificarlos particularmente, es cierta la posibilidad del error por la pericia del operador. Debe tenerse en cuenta, que es posible identificar los vasos principales de la glándula, como así también los cambios que generan los fenómenos inflamatorios o necróticos que podrían llegar a inducir falsos positivos.

Los vasos principales de la glándula pueden ser reconocidos no solo por su topografía, sino también su curso y calibre. Los cambios de señal que aparecen tras la administración del contraste son bien acotados y no existen variables en su patrón topográfico o morfológico. Estos criterios son igualmente válidos para los vasos relacionados a fenómenos de necrosis grasa, papilomas o focos de adenosis.

Estos riesgos propios del Doppler Color parecen salvarse si asociamos la cualificación de flujos. Es altamente significativo poder comprobar que las lesiones malignas tienen índices de resistencia mayores de 0.70 consecuente con elevadas velocidades sistólicas (> de 15 cm/seg. en 95 % de casos) y bruscas caídas diastólicas.

Las observaciones orientan a explicar este fenómeno tan particular por la convergencia de dos hechos significativos: la **morfología y topografía** de los vasos de neoformación (irregularidad, estrecheces, tortuosidades) generan cambios velocimétricos en su interior.

En segundo lugar, el componente fibroestromal que sostiene a los vasos del cáncer se comporta como un **“continente pétreo”**, otorgando a los vasos una rigurosa rigidez que alcanzaría a compensar la pérdida del componente muscular liso de la pared del vaso neoplásico. Cuando participa alguno de estos factores está presente un elevado IR, que será tanto más significativo cuando exista convergencia de los dos hechos descriptos.

La aplicación del medio de contraste realza estos hallazgos porque no solo incrementa la posibilidad de visualizar los múltiples polos vasculares malignos, sino que también parece demostrar la avidez por el contraste cuando el arribo del mismo se hace en un tiempo considerablemente menor que en las lesiones benignas (40 segundos).

Aquí también es de mucho valor saber aprovechar un incremento de señal en más de 7 decibeles, porque potencia las valoraciones del doppler pulsado disminuyendo los riesgos de falsos negativos.

Los menores porcentajes estadísticos obtenidos en los IR de vasos intranodulares, pueden explicarse por la presencia de fístulas A-V que genera la angiomalignidad (que se expresan con flujos turbulentos). Ello debe advertir sobre la importancia de evaluar la vascularidad intrínseca al menos con tres rastreos. Al mismo tiempo, la presencia de estos shunts podría explicar el mayor tiempo de presencia del contraste en el tejido maligno (5 minutos) en contraposición a lo que ocurre en las lesiones benignas (3 minutos).

Conclusiones:

La problemática del nódulo dudoso o sospechoso sigue vigente y exige un prudente empleo de recursos con el objetivo final de una adecuada y eficaz ecuación diagnóstica, que nos permita llegar precozmente a la patología maligna.

La incorporación del Doppler Color y el Doppler Potenciado con transductores de alta resolución, ha demostrado una gran aptitud para representar vasos de pequeño calibre conduciendo con facilidad hacia: la **caracterización topográfica-morfológica** y la **cuali-cuantificación del flujo** de todos los vasos.

Esta ocasión permite señalar que **toda lesión nodular tiene representación de vasos extranodulares** y en un porcentaje elevado de casos (70 %) puede ponerse de manifiesto la vascularidad intranodular.

Los vasos hiliares **“penetrantes vinculantes”** (irregulares o umbilicados) que revelan **IR mayores de 0.70** asociados con Velocidades Máximas de Pico Sistólico **superiores de 15 cm/seg.** deben alertar para una cuidadosa exploración intranodular. Si esta última sostiene las características de **vasos amorfos e irregulares**, anárquicos y/o radiantes con semejantes signos o cualidades de flujos a los detectados extrínsecamente, estamos frente a una lesión altamente **“sugestiva de atipia”**.

Deben explorarse adecuadamente los vasos hiliares penetrantes o **“vinculantes”** porque reflejan fielmente **los cambios biológicos del tejido maligno**, evidenciando alteraciones en los gradientes de presión y variación en las velocidades sistólicas e índices de resistencia.

Además de esto, porque se hallan en más del 90 % de nódulos malignos, por lo general con calibres pródigos y múltiples cuando la lesión es de mayor volumen. Las lesiones de menor volumen podrían llegar a requerir la utilización de contraste adicional, teniendo presente que cuanto más pequeñas, menor es la cantidad de vasos visibles. Sumado a ello, el contraste no solo demuestra con vigor la presencia de la multiplicidad

vascular, sino que también nos pondría en evidencia la “avidez nutricia” ante la llegada precoz del agente en casos de atipia.

Una lesión nodular tiene francas posibilidades de ser benigna cuando “no presenta signos de vascularidad intrínseca” frente al Doppler en sus diferentes modalidades y especialmente cuando usamos sustancias de contraste. Esta consideración se acrecienta cuando puede observarse la topografía vascular signada por la regularidad y con IR menores de 0.70.

Las exploraciones con **Medios de Contraste** parecen tener un futuro sólido, pues incrementa la información cuando la evaluación con el Doppler Color no ha sido suficiente. La administración rápida permite un tiempo de exploración óptimo pero exige una aproximación previa y exigente con el doppler potenciado, con el objetivo de una evaluación final más crítica y serena de la lesión. En nuestra opinión, el Contraste hace posible incrementar la confiabilidad demostrada por el Doppler Color, al poder avalar sus hallazgos y **aumentar el valor predictivo negativo para malignidad**. En este contexto podemos decir, que los agentes eco-realzadores amplían las aplicaciones clínicas del Doppler.

No parece necesario el manipuleo de la señal a través de softwares especiales (medios de contraste) puesto que las imágenes tratadas por dicho medio no han tenido el peso suficiente para justificar su incorporación presupuestaria en los equipos con color convencional.

Por último, pensamos que los aportes conseguidos por la modalidad de exploración Doppler son muy alentadores ante una mama de alto riesgo, porque se incorpora un eslabón diagnóstico crítico entre el perfil clínico y mamográfico del nódulo con sospecha.

Igualmente, se fortalece y consolida el papel del US en el algoritmo diagnóstico de la patología mamaria aproximándonos a un manejo precoz y eficaz de la lesión maligna.

Bibliografía:

- Adler DD; “Doppler Ultrasound Color Flow Imaging in the study of Breast Cancer”
Ultrasound Med Biol 1990; 16:553.
- Bell DS; “Segmentation and analysis of Color Doppler Imaging in the study of tumor vasculature” Ultrasound Med Biol 1995; 41: 635.
- Burns PN; “Ultrasonic Doppler Studies of the breast” Ultrasound Med Biol 1992; 8 127.
- Cosgrove D.; “Color Doppler signals from breast tumors” Radiology 1990; 176.
- Cosgrove D.; “Breast Diseases: Color Doppler US in differential diagnosis”. Radiology 1993;189.
- Kedar RP; “Microbubble contrast agent for color Doppler US: effect on breast masses. Work in progress” Radiology; Mar 1996, 198(3) 679-86
- Feig S.; “Mamographie and Sonografic evaluation” Rad Clin North Am. 1992.
- Fornage B. “ Breast Imaging” Rad Clin North Am. January 1992.
- Spreafico C. “The Italian experience with SH U 508 A (Levovist) in breast disease”. Rad.Med (Torino) Italy. 87(Suplem 1) 59-64.
- Stavros A.” US of probably benign solid breast nodules” Abst. Radiology 1993; 189.