

Oral mukoza sitolojik incelemelerinde konvansiyonel eksfoliyatif yöntem ile likid bazlı yöntemin karşılaştırılması

Hande Ezerarslan ¹, Selma Kurukahvecioğlu ², Fulya Köybaşıoğlu ³, Gülru Erdoğan ⁴, Sinan Kocatürk ¹

¹Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları AD, Ankara

²Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları AD, Ankara

³Ankara Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji AD, Ankara

⁴Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD, Ankara

Özet

Amaç: Bu çalışmada oral sitoloji incelemeleri için kullanılan konvansiyel ve likid bazlı yöntemlerin, hücrelerin değerlendirilmesi ile preparat değerlendirme süreleri açısından farklı olup olmadığının, sağlıklı gönüllülerde araştırılması amaçlanmıştır. **Yöntem:** Araştırma Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesinde 31 sağlıklı gönüllünün katılımı ile gerçekleştirilmiştir. Katılımcıların dil lateral kenarlarından ve bukkal mukozalarından, mukozada kanama ve ülserasyon yaratmayacak şekilde fırça ile sürüntü alındı. Örnekler Papanicolaou ile boyandı ve aynı patolog tarafından ışık mikroskobu ile keratinize hücre, intermediate hücre, parabazal hücre, nukleus sitoplazmik oran (n/c) artışı, nukleer hiperkromazi, kromatinde kabalaşma ve zemin açısından değerlendirildi. Ayrıca preparat değerlendirme süresi ölçüldü. **Bulgular:** Yapılan patolojik incelemede iki yöntem arasında keratinize yüzeyel hücre ve intermediate hücre görülme yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p<0.05). Ayrıca likid bazlı yöntem kullanıldığında preparatların zemininde daha az artefakta rastlandı ve preparat değerlendirme süresi daha kısaydı (p<0.05). **Sonuç:** Likid bazlı yöntemin sitodiagnostik doğruluğu arttırabileceği ve oral sitolojik incelemelerde rutin olarak kullanılabilmesi düşünüldü.

Anahtar Sözcükler:Ağız mukozası;teşhis; sitoloji

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg. 2014;7(2)

Geliş tarihi: 04.11.2014

Kabul tarihi: 09.04.2015

Yazışma Adresi: Hande Ezerarslan, Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, E-posta: handearsan5@yahoo.com

Comparision of conventional exfoliative & liquid based methods in oral cytologic examinations

Abstract

Aim: In this study, it was aimed to compare conventional exfoliative and liquid based methods with respect to cell determination and specimen evaluation periods in oral mucosal cytologic examinations carried out in healthy volunteer population. **Methods:** This study was conducted on 31 healthy volunteers at Ufuk University. Samples were collected from the lateral border of the tongue and buccal mucosa of participants without causing any bleeding or ulcer formation. Slides of both techniques were stained by Papanicolaou method and evaluated by the same pathologist by means of cell distribution, nucleo-cytoplasmic ratio, hyperchromasia and background of slides with light microscope. In addition, specimen evaluation period was measured. **Results:** As result of the pathological evaluation, a statistically significant difference was found ($p<0.05$) between two methods with respect to the detection rates of superficial keratinized cells and inter-mediate cells. Furthermore, the background of slides had less artefact and specimen evaluation period was shorter when liquid based method was employed. **Conclusion:** It was suggested that liquid based method might improve cytodiagnostic accuracy and might have been used in oral cytologic examinations routinely.

Keywords: Oral mucosa; cytology; diagnosis

Giriş

Oral kavite kanserleri (OKK) çoğunlukla orta ve ileri yaş erkeklerde görülür. Dünya genelinde diğer kanserler arasında altıncı sırada yer almaktadır.¹ Ülkemizde ise malign tümörler arasında oral kavite kanserlerinin erkeklerde 13. sırada, kadınlarda ise 18. sırada yer aldığı gösterilmiştir.² Dünyada yeni teşhis edilen oral kanser olgusunun yaklaşık 300.000 olduğu tahmin edilmektedir.³ OKK görülme sıklığı tüm dünyada giderek artmaktadır ve sağ kalım süresi oldukça düşüktür.⁴ Oral mukozada görülen malign değişimlerin erken tanısının konulabilmesi için yüksek riskli hastalarda birçok yöntem geliştirilmiştir. Kesin tanı soğuk bıçak yada punch yardımıyla alınan doku örneklerinin histopatolojik incelemesi ile konulabilir ancak soğuk bıçak ile alınan biyopsilerde bile malign şüphesi yüksek lezyonlarda yanlış negatiflik oranının %23 olduğu bilinmektedir.⁵ Eksfoliyatif konvansiyonel yöntem ve likid bazlı yöntemlerde spesifite sırasıyla %95.9 ve %99 olarak tespit edilmiştir. ⁶ Likid bazlı yöntemde inflamatuvar hücreler ve mukus daha az olup preparat üzerinde hücreler eksfoliyatif konvansiyonel yöntemle göre daha randomize

olarak dağılır.⁷ Bu durum hem uygunsuz preparat sayısını azaltmakta hem de yanlış negatiflik oranını düşürmektedir.⁸

Bu çalışmada sağlıklı popülasyonda oral sitoloji incelemeleri için kullanılan konvansiyel ve likid bazlı yöntemlerde hücrelerin değerlendirilmesi ile preparat değerlendirme süreleri arasında fark olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma için Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan izin alınmış (Tarih:31.03.2015; Karar no:1) ve çalışmaya katılacak kişi ve/veya velilerinden de onam alınmıştır. Çalışmaya 31 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Sistemik hastalığı olan, alkol ve sigara dışında diğer tütün ürünlerini kullanan, son bir yıl içerisinde oral mukozada lezyon yaratmış viral enfeksiyon geçiren, oral kanser, oral mukozal lezyonu olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Bireylerden örnek alınmadan önce her katılımcı ağızını distile su ile çalkalayıp temizledi. Ardından katılımcıların dil lateral kenarlarından ve bukkal mukozalarından,

Oral mukoza sitolojisinde eksfoliyatif ve likid bazlı yöntem

mukozada kanama ve ülserasyon yaratmayacak şekilde fırça ile sürüntü alındı. Konvansiyonel yöntemin değerlendirilmesi için alınan örnekler fırça ile lama yayılarak ardından alkolle fikse edilip laboratuara gönderildi. Likid bazlı yöntem için ise alınan örnekler kendi solusyonun içine yerleştirilerek laboratuara gönderildi.

Örnekler aynı patolojik tarafından papanicolaou boyası ile boyanıp ışık mikroskobu ile keratinize hücre, intermediate hücre varlığı, parabazal hücre, nükleus sitoplazmik oran (n/c) artışı, nükleer hiperkromazi, kromatinde kabalaşma, mikronükleoli, zemin açısından değerlendirildi ve preparat değerlendirme süresi ölçüldü (Tablo 1).

Elde edilen tüm veriler PASW (Predictive Analytics Software) Statistics 21.0 programına aktarıldı. Gruplanmış veriler için ki-kare analizi kullanılarak değerlendirmeler

yapıldı. Gruplararası farklılığı saptamak amacıyla Mann-Whitney U ve McNemar-Bowker testleri kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Çalışmaya 15'i (%48.4) sigara kullanan toplam 31 sağlıklı gönüllü katıldı. Sigara kullananların 7'si (%46.7), sigara kullanmayanların ise 8'i (%50.0) kadındı. Çalışmaya katılan gönüllülerden sigara kullanan ve kullanmayanlarının yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımı açısından aralarında fark yoktu (sırasıyla p=0.51 ve p=0.85, Tablo 2).

Yapılan patolojik incelemede iki yöntem arasında keratinize yüzeyel hücre ve intermediate hücre görülme yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Tablo 3,4).

Tablo 1. Preparatların patolojik olarak değerlendirilmesinde kullanılan parametreler

Keratinize Yüzeyel Hücre	Yok	≤ % 25	%25-50	≥% 50
Intermediate Hücre	Yok	≤ % 25	%25-50	≥% 50
Parabazal Hücre	Yok	≤ % 25	%25-50	≥% 50
Mikronükleoli	Yok	Intermediate hücre nükleusundan küçük	Intermediate hücre nükleusundan büyük	
N/C Artış	Yok	Intermediate hücre nükleusunun 3 katından az	Intermediate hücre nükleusunun 3 katından fazla	
Zemin	Temiz	Granüle (Non-inflamatuar debris)	İnflamatuar	
Nükleer Hiperkromazi	Yok	Var		
Kromatinde Kabalaşma	Yok	Var		
Preparat Değerlendirme Süresi	5 dk ve altı	5-10 dk	10 dk ve üstü	

Oral mukoza sitolojisinde eksfoliyatif ve likid bazlı yöntem

Tablo 2. Çalışmaya katılan gönüllülerin demografik özellikleri

	Sigara Kullanan		Sigara Kullanmayan		p
	s	%/ortalama	s	%/ortalama	
Kadın	7	%46.7	8	%50.0	0.85
Erkek	8	%53.3	8	%50.0	
Yaş (Ortalama ± ss)	15	33.87±6.88	16	32.12±7.13	0.51

Tablo 3. Kullanılan iki yöntem arasında keratinize yüzeysel hücre görülme yüzdeleri (p değeri:0.002).

Konvansiyonel Eksfoliyatif Yöntem	Likid Bazlı Yöntem			
	GS	≤ % 25	% 25-50	≥ % 50
≤ % 25		4	2	0
% 25-50		9	0	0
≥ % 50		4	6	6

(GS: Çalışmaya katılan gönüllü sayısı.)

Tablo 4. Kullanılan iki yöntem arasında intermediate hücre görülme yüzdeleri (p değeri:0.001).

Konvansiyonel Eksfoliyatif Yöntem	Likid Bazlı Yöntem			
	GS	≤ % 25	% 25-50	≥ % 50
≤ % 25		6	9	3
% 25-50		1	1	7
≥ % 50		0	0	4

(GS: Çalışmaya katılan gönüllü sayısı.)

Ancak parabazal hücrenin sadece likid bazlı yöntem kullanılan üç (%9.7) örnekte tespit edilmesi nedeniyle, parabazal hücre görülme yüzdesi ile ilgili istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Yine mikronükleoli varlığı konvansiyonel yöntemle smear alınan yedi (%22.6) örnekte saptanırken, likid bazlı yöntem ile örnek alınanlarda olmadığı için ilgili istatistiksel değerlendirme yapılamadı. N/c oranı değerlendirilmesinde iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık

saptanmadı (p=0.23). Alınan sürüntü örneklerinin hiçbirisinde nükleer hiperkromazi ve kromatinde kabalaşma saptanmadı.

Preparatların zemin incelemesinde konvansiyonel yöntemde preparatların zemini %16.1'ünde temiz, % 67.7'sinde granüle, % 16.1'inde inflamatuvar görünümde iken likid bazlı yöntemin kullanıldığı preparatlarda bunlar sırasıyla %51.6; %9.7 ve %38.7 olarak tespit edildi (p<0.001).

Likid bazlı yöntem kullanıldığında preparat değerlendirme süresi tüm örneklerin incelemesinde beş dakikanın altındayken, konvansiyonel yöntemde preparat değerlendirme süresinin 27 (%87.1) örnekte 5-10 dakika arasında, 4 (%12.9) örnekte ise 10 dakikadan daha uzun sürdüğü görüldü ($p < 0.001$).

Tartışma

Bu çalışmada likid bazlı yöntem ile alınan oral mukozal sitolojinin konvansiyonel yöntemle göre keratinize hücre değerlendirmesinde daha etkili olduğu ve oluşturulan örneğin zemininin daha temiz olduğu görüldü. Ayrıca likid bazlı yöntem kullanıldığında patoloğun inceleme için ayırdığı süre daha kısa idi.

Oral mukozal sitoloji yöntemleri OKK teşhisinde kullanılabilen basit, hızlı, non invaziv ve rölatif olarak ağrısız yöntemlerdir.⁹ Bu yöntemlerden konvansiyonel smear yöntemi en sık kullanılan yöntemdir ve önemli dezavantajlarından biri yanlış negatif sonuçlardır.¹⁰ Geleneksel smear de örnek lama transfer edilirken küçük bir oranda epitelyal hücreler zarar görür ve örnekleme randomize değildir. Bu da yanlış negatif sonuçlara neden olur.¹¹ Likid bazlı yöntem ile tüm hücre örnekleri homojenize dağılır bu da sitolojik incelemede yanlış negatifliğin azalmasına katkıda bulunur.⁶ Likid bazlı yöntem kullanıldığında tüm epitelyal hücreler gösterilebilir. Bazal ve parabazal hücreler daha az sıklıkta görülür. Böylece ağır derecede displazi ya da invaziv kanser şüphesi daha yüksek olasılıkla belirlenebilir. Bu çalışmada da benzer şekilde konvansiyonel yöntemle göre keratinize hücre görülme oranı yüksekken, intermediate hücre görülme yüzdesi daha düşüktür.

Likid bazlı yöntemde preparatın zeminindeki artefakt oranı konvansiyonel yöntemle göre belirgin derecede azdır.¹² Bu inflamatuvar komponentlerin ve kanın konvansiyonel yöntem kadar preparatta görülmemesi ile sağlanır. Bu çalışmada da zemin likid bazlı yöntemde konvansiyonel yöntemle göre daha temizdi. Bu özellik hem hücrelerin tanınması ve değerlendirilmesinde olumlu yönde katkıda bulunurken, hem de

preparat inceleme süresini kısaltıyor olabilir. Likid bazlı yöntemin diğer bir avantajı da koleksiyon sıvısında arta kalan hücrelerin ek testlerle incelenmesine (immünohistokimya, sitometri, HPV testi vs.) imkan vermesidir.^{13,14}

Yapılan çalışmalarda likid bazlı yöntem kullanıldığında nukleus/sitoplazma oranının daha doğru incelendiği de gösterilmiştir.^{15,16} Ancak bu çalışmada iki yöntem arasında fark bulunmamıştır.

Çalışmamızda katılımcılar sağlıklı gönüllülerden oluşmaktaydı. Bu nedenle premalign/malign hücreler görülmedi. Örnek çapının daha geniş olduğu, premalign ve malign lezyonların bulunduğu hastalar ile yapılacak ek çalışmalar likid bazlı yöntemin avantajlarını ve dezavantajlarını belirlemede yardımcı olacaktır.

Bu sonuçlara göre likid bazlı yöntemin sitodiagnostik doğruluğu arttırabileceği ve oral sitolojik incelemelerde rutin olarak kullanılabilceği düşünüldü.

Kaynaklar

1. Parker S.L., Tong T., Bolden S. Cancer Statistics 1997. *CA Cancer J Clin* 1997;47;5-27.
2. Bilir N. Cancer frequency in Turkey. *Kanser* 1981; 2; 93-7.
3. Rana M., Zapf A., Kuehle M., Gellrich N.C., Eckardt AM. Clinical evaluation of an autofluorescence diagnostic device for oral cancer detection: a prospective randomized diagnostic study. *Eur J Cancer Prev* 2012;21;460-6.
4. Baykul T., Yilmaz H.H., Aydin U., Aydin M.A., Aksoy M., Yildirim D. Early diagnosis of oral cancer. *J Int Med Res* 2010;38;737-49.
5. Pentenero M., Carrozzo M., Pagano M., Galliano D., Broccoletti R., Scully C., et al. Oral mucosal dysplastic lesions and early squamous carcinomas: underdiagnosis from incisional biopsy. *Oral Dis* 2003;9;68-72.
6. Navone R., Burlo P., Pich A., Pentenero M., Broccoletti R., Marsico A., et al. The impact of liquid-based oral cytology on the

- diagnosis of oral squamous dysplasia and carcinoma. *Cytopathology* 2007;18;356-60.
7. Dwivedi N., Agarwal A., Raj V., Kashyap B., Chandra S. Comparison of centrifuged liquid based cytology method with conventional brush cytology in oral lesions. *Eur J Gen Dent* 2012;1;192-6.
 8. Sprenger E., Schwazmann P., Kirkpatrick M., Fox W., Heinzerling R.H., Geyer J.W., et al. The false negative rate in cervical cytology. *Acta Cytol* 1996;40;81-9.
 9. Hayama F.H., Motta A.C., Silva Ade P., Migliari D.A. Liquid-based preparations versus conventional cytology: specimen adequacy and diagnostic agreement in oral lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10;115-22.
 10. Trullenque-Eriksson A., Muñoz-Corcuera M., Campo-Trapero J., Cano-Sánchez J., Bascones-Martínez A. Analysis of new diagnostic methods in suspicious lesions of the oral mucosa. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009;14;210-6.
 11. Potter T.J., Summerlin D.J., Campbell J.H. Oral malignancies associated with negative transepithelial brush biopsy. *J Oral MaxillofacSurg.* 2003;61;674-7.
 12. Kujan O., Desai M., Sargent A., Bailey A., Turner A., Sloan P. Potential applications of oral brush cytology with liquid-based technology: results from a cohort of normal human mucosa. *Oral Oncol* 2006;42;810-8.
 13. Mehrotra R., Madhu, Singh M. Serial scrape smear cytology of radiation response in normal and malignant cells of oral cavity. *Indian J Pathol Microbiol* 2004;47;497-502.
 14. Hayama F.H., Motta A.C., Silva Ade P., Migliari D.A. Liquid-based preparations versus conventional cytology: specimen adequacy and diagnostic agreement in oral lesions. *Oral Medicine and Pathology* 2005;23;1927-33.
 15. Patel P.V., Kumar S., Kumar V., Vidya G. Quantitative cytomorphometric analysis of exfoliated normal gingival cells. *Journal of Cytology/Indian Academy of Cytologists* 2011;28;66-72.
 16. Mendes S.F., de Oliveira Ramos G., Rivero E.R., Modolo F., Grando L.J., Meurer M.I. Techniques for precancerous lesion diagnosis. *J Oncol.* 2011;326094.