

Formalin fiksasyonu sonrası dil örneklerinde cerrahi sınır küçülmesinin değerlendirilmesi

Evaluation of shrinkage of surgical margins on tongue specimens following formalin fixation

Dr. Özgür Gököğlü,¹ Dr. Kerem Polat,¹ Dr. Erdinç Aydın,² Dr. İsmail Önder Uysal,³
Dr. Mansur Doğan,³ Dr. Özlem Işıksaçan Özen⁴

¹Akşehir Devlet Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniği, Konya, Türkiye

²Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

⁴Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada koyun dil örneklerinde cerrahi sınır mesafesinin rezeksiyon, formalin fiksasyonu, frozen inceleme ve mikroskopik inceleme ile değişimi değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 50 adet taze koyun dili kullanıldı. Dillerin lateral bölümüne tümör dokusunu temsilen metal plak yerleştirildi. Bu plak etrafında 1 cm ve 2 cm cerrahi güvenlik sınırı bırakılarak ve bistüri ve monopolar koter kullanılarak, toplam 40 örnek (her bir grup için 10 örnek) hazırlandı. Frozen inceleme için 1 cm'lik sınırı olan bistüri ve monopolar koter kullanılarak elde edilen ilave 10 örnek (her bir grup için 5 örnek) daha hazırlandı. Bu örneklerin eksizyon sonrası, 24 saatlik formalin fiksasyonu ve mikroskopik inceleme sonrası belirlenen cerrahi sınıra olan uzaklıkları ölçüldü ve eksizyon öncesi ölçümler ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Rezeksiyon, %10'luk formalin fiksasyonu ve mikroskopik kesit hazırlama sonrası tüm örneklerde cerrahi sınıra olan uzaklıkların azaldığı saptandı. Başlangıç değerlerine kıyasla, uzaklıkların rezeksiyon sonrası ortalama %6.5-7.5, formalin fiksasyonu sonrası ortalama %10-12 ve mikroskopik ölçüm sonrası ortalama %30 oranında azaldığı görüldü. Frozen incelemede ise mikroskopik kesit hazırlama sonrasında %6.3-10 arasında daha az büzüşme olduğu saptandı.

Sonuç: Koyun dili rezeksiyonu sırasında 5 mm'lik temiz bir cerrahi sınır elde etmek için en az 7-8 mm mesafe bırakılmalıdır. Patolog tarafından belirlenen cerrahi sınır mesafesi 1.42 ile çarpılarak in-situ cerrahi sınır yaklaşık olarak tahmin edilebilir. Bu nedenle, 1.42 değeri koyun dil dokusu için düzeltici faktör olarak kullanılabilir.

Anahtar Sözcükler: Formalin; büzüşme; cerrahi sınır; dil.

Objectives: This study aims to evaluate the alterations in distances to the surgical margins on sheep tongue specimens, through resection, formalin fixation, frozen section, and microscopic examination.

Materials and Methods: Fifty fresh sheep tongues were used in the study. A metal plate was fixed on the lateral aspect of each tongue to represent tumor tissues. A total of 40 specimens with either 1 cm or 2 cm distances as surgical safety margins of the surrounding plate were prepared using either scalpel or monopolar cautery (10 specimens were prepared for each group). Additional 10 specimens with 1 cm safety margins were prepared using either scalpel or monopolar cautery (5 specimens per group) for frozen section examination. Distances to the metal plates before resection were compared with the ones which were determined after resection, frozen section examination, 24-hour formalin fixation and microscopic examination.

Results: Distances to the surgical margins were found to be decreased in all specimens after resection, 10% formalin fixation and microscopic examination. The distances to the surgical margins were observed to be reduced by 6.5-7.5% on average after resection, 10-12% on average after formalin fixation and 30% on average after microscopic examination, compared to the baseline values. The level of shrinkage was reduced by 6.3-10% following microscopic section preparation during frozen section examination.

Conclusion: Seven to eight-millimeter distance to the surgical margin at minimum should be maintained to achieve a 5 mm in height surgical safety margin during sheep tongue resection. The distance defined by the pathologist may be multiplied with 1.42 to estimate around in-situ distance to the surgical margins. Therefore, 1.42 may be used as a corrective factor for sheep tongue tissues.

Key Words: Formalin; shrinkage; surgical margins; tongue.

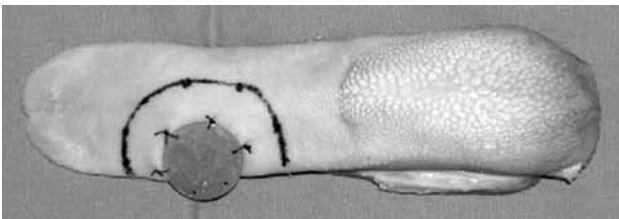


Ağız boşluğu kanserli hastaların cerrahi tedavisinde başarı için önemli olan noktalardan biri tümör hücreleri içermeyen yeterli mesafede cerrahi sınır elde etmektir. Her ne kadar tekrarlama riski tamamıyla ortadan kaldırılamasa da lokal tekrarlama ve beş yıllık sağkalım açısından cerrahi sınırda tümör hücreleri bulunan hastalarda prognoz daha kötüdür.^[1] Çeşitli çalışmalarda ağız boşluğu kanserlerinde cerrahi sınırın tümör dokusuna olan uzaklığının 5 mm'den az olmasının yüksek lokal tekrarlama ile ilgili olduğu ve bu durumun beş yıllık sağkalımı azalttığı gösterilmiştir.^[1-3] Bu nedenle baş boyun cerrahları dil kanserleri rezeksiyonunda en az 5 mm'lik cerrahi sınır mesafesi bırakmayı amaçlar.^[4,5] Literatürde 5 mm'lik emniyet sınırının cerrah tarafından belirlenen ölçüm mü yoksa çeşitli işlemlerden geçen dokunun histopatolojik incelemesi sırasında patolog tarafından belirlenen ölçüm mü olduğuna dair yeterli bilgi yoktur. Ameliyat sırasında alınan dokular histopatolojik örnekleme yapılabilmesi için fiksasyon, parafin bloklaya ve kesme gibi farklı işlemlerden geçmekte ve buna bağlı doku büzülmesi meydana gelmektedir. Bu çalışmanın yapılmasındaki amaç numunelerde oluşturulan cerrahi sınır mesafesinin rezeksiyon, formalin fiksasyonu, frozen inceleme ve mikroskopik inceleme sonrası değişimini değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Patoloji Anabilim Dallarında gerçekleştirildi. Çalışmada 50 adet günlük kesilmiş koyun kafasından çıkarılan dil numuneleri kullanıldı. Günlük kesim olmayan, dil üzerinde laserasyon, kopukluk ve renk değişikliği olan numuneler çalışmaya dahil edilmedi.

Küçük mukozal bir tümörü temsil etmek için 10 mm çapında 1 mm kalınlığında etrafında dil yüzüne dikişler ile tespit edebilmek için altı adet 1 mm'lik delik bulunan sirküler yapıda pirinçten yapılmış disk tasarlandı.^[4] Bu disk etrafında cetvel ve ölçülü pergel yardımı ile 1 ve 2 cm'lik sınır bırakılarak cerrahi sınır belirlendi (Şekil 1).



Şekil 1. Disk etrafında 10 mm'lik sınır.

Daha sonra 15 numara bistüri veya 40 joul monopolar koter kullanılarak belirlenen sınırdan numuneler elde edildi. Disk etrafında 10 mm veya 20 mm sınır bulunan bistüri veya koter kullanılarak hazırlanan toplam 40 adet numune hazırlandı. Her grupta 10 adet numune bulunmaktaydı. Çalışmada koter kesimleri için Conmed Excalibur Plus elektrokoter cihazı (ConMed Aspen Labs, Engelwood, CO, USA) ve tek kullanımlık monopolar koter ucu (Multikan Sağlık Ürünleri Sanayi ve Dış Ticaret AŞ, PRC) kullanıldı. Çalışmanın görüntüleri Canon EOS 20D dijital fotoğraf makinesi ile elde edildi.

Rezeksiyon sonrası gerçekleşen doku büzülmesinin cerrahi sınıra olan etkisini değerlendirmek için numunelerin eksizyon sonrası cerrahi sınıra olan uzaklıkları tekrar ölçüldü. Farklı noktalardan alınan ölçümlerin ortalaması alındı ve rezeksiyon sonrası doku büzülmesi her bir numunede altı ayrı noktadan ölçüm yapılarak değerlendirildi. Daha sonra bu numuneler 24 saat %10 formalin solüsyonunda bekletildi.

Formalin solüsyonunun cerrahi sınıra olan etkisini değerlendirmek için %10'luk formalin solüsyonunda bekletilen numuneler çıkarılarak kurutulmadan altı ayrı noktadan cerrahi sınır ölçümü tekrar yapıldı ve her biri için ortalama cerrahi sınıra olan uzaklık değişimi belirlendi. Fiksasyonu sağlanmış numunelerde disk etrafındaki dil dokusu patolog tarafından doku boyası ile boyandı ve diske 90 derece açı yapacak şekilde kesildi. Kesilen parçalar rutin histopatolojik takip işlemlerinden sonra parafin bloklandı. Parafin bloklardan mikrotom ile kesilen 5 mikronluk seri kesitler hematoksilin-eozin (H-E) yöntemi ile boyandı. Daha sonra mikroskopik incelemede cerrahi sınırın boyalı alana olan uzaklığı oküler mikrometre (2x, 0.5 mm, 5 mm) kullanılarak tekrar değerlendirildi. Bu şekilde her bir dil numunesinden rezeksiyon sonrası, %10 formalin fiksasyonu sonrası ve mikroskopik inceleme sonrası ölçümler alındı. Ortalama cerrahi sınır değişim miktarı belirlendi. Sonuçlar kendi içlerinde karşılaştırıldı.

Ayrıca kontrol grubu olarak belirlenen ve disk etrafında 10 mm sınır bırakılarak beş adet bistüri ve beş adet monopolar koter ile numuneler hazırlandı. Rezeksiyon sonrası ölçümleri alındıktan sonra frozen inceleme için dondurularak kesit alındı. Hematoksilin-eozin ile boyanıp mikroskopik incelemeye hazır hale getirildi. Bu numunelerde de frozen incelemenin cerrahi sınır değişimine

Tablo 1. On milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri ve koter gruplarında her bir işlemten sonra cerrahi sınır ölçümleri ve yüzde değişim miktarları (n=20)

	Bistüri grubu (n=10)		Koter grubu (n=10)	
	Ort.±SS (mm)	Yüzde değişim Ort.±SS	Ort.±SS (mm)	Yüzde değişim Ort.±SS
Rezeksiyon sonrası	9.25±0.33	7.5±3.25	9.35±0.24	6.5±2.41
Fiksasyon sonrası	8.74±0.25	12.6±2.55	8.78±0.17	12.2±1.75
Mikroskopik ölçüm sonrası	7.01±0.76	29.9±7.62	7.74±0.62	22.6±6.23
p*	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; * Friedman testi.

olan etkisi bistüri ve koter gruplarında ayrı ayrı değerlendirildi.

Çalışmanın verileri Windows için SPSS versiyon 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) istatistik paket programına aktararak analiz edildi. Bistüri ve koter kullanılarak 10 mm ve 20 mm cerrahi sınır bırakılarak elde edilen numunelerde rezeksiyon sonrası, formalin fiksasyonu sonrası ve mikroskopik preparat hazırlama sonrasında; frozen grubunda da rezeksiyon ve mikroskopik preparat hazırlama sonrasında ölçülen cerrahi sınır ve doku büzüşme mesafeleri ortalama ± standart sapma (SS) cinsinden sunuldu. Her grup kendi içerisinde değerlendirilerek, rezeksiyon sonrası, formalin fiksasyonu sonrası ve mikroskopik preparat hazırlama sonrasında saptanan büzüşme oranları Friedman testi ile karşılaştırıldı. Her bir aşama sonrasında ölçülen cerrahi sınır değişimlerinin gruplar arasında karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testleri kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

On ve yirmi milimetre cerrahi sınır bırakılarak, bistüri, koter, frozen bistüri ve frozen koter

grubu olmak üzere dört gruba ayrılan ve incelenen numunelerin hepsinde rezeksiyon sonrası, fiksasyon sonrası ve mikroskopik kesit hazırlama sonrası (dehidratasyon, parafin bloklama, ve kesme) oluşturulan temsili tümör dokusunun belirlenen cerrahi sınıra olan uzaklığında istatistiksel olarak anlamlı değişimler oldu (p<0.0001).

On milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri grubunda rezeksiyon sonrası, %10 formalin fiksasyonu ve mikroskopik kesit hazırlama sonrası ortalama cerrahi sınır ölçümleri yapılmış ve sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Bu grupta her bir işlemten sonra cerrahi sınırda yüzde değişim miktarları saptanarak Tablo 1'de belirtilmiştir. Aynı ölçümler 10 mm cerrahi sınır bırakılan koter grubunda da yapılmış ve sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Numunelerde büzüşme sonucu ortalama boyut kaybı her iki grup için tüm basamaklarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.0001).

Yirmi milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri grubunda rezeksiyon sonrası, %10 formalin fiksasyonu ve mikroskopik kesit hazırlama sonrası ortalama cerrahi sınır ölçümleri yapılmış ve sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir. Bu grupta cerrahi sınırda yüzde değişim miktarları saptanarak Tablo 2'de

Tablo 2. Yirmi milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri ve koter gruplarında her bir işlemten sonra cerrahi sınır ölçümleri ve yüzde değişim miktarları (n=20)

	Bistüri grubu (n=10)		Koter grubu (n=10)	
	Ort.±SS (mm)	Yüzde değişim Ort.±SS	Ort.±SS (mm)	Yüzde değişim Ort.±SS
Rezeksiyon sonrası	18.65±0.32	6.75±1.62	18.58±0.61	7.1±3.08
Fiksasyon sonrası	18.11±0.41	9.45±2.06	17.67±0.45	11.65±2.29
Mikroskopik ölçüm sonrası	14.02±1.34	29.9±6.73	14.57±0.84	27.15±4.24
p*	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; * Friedman testi.

Tablo 3. On ve yirmi milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri grubunda her bir işlemden sonra büzüşme sonucu boyut kaybının yüzde değişim tablosu (n=20)

	Yüzde değişim		p*
	10 mm (n=10)	20 mm (n=10)	
	Ort.±SS	Ort.±SS	
İlk ölçüm-rezeksiyon sonrası	7.5±3.27	6.75±1.62	>0.05
İlk ölçüm-fiksasyon sonrası	12.6±2.59	9.45±2.06	>0.05
İlk ölçüm-mikroskopik ölçüm sonrası	29.9±7.62	29.9±6.73	>0.05

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; * Mann-Whitney U testi.

verilmiştir. Aynı ölçümler 20 mm cerrahi sınır bırakılan koter grubunda da yapılmış ve sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir. Numunelerde büzüşme sonucu ortalama boyut kaybı her iki grup için tüm basamaklarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.0001$).

On ve yirmi milimetre cerrahi sınır bırakılan gruplardaki sonuçlar dikkate alındığında bistüri veya monopolar koter kullanımının cerrahi sınır mesafesinin değişiminden bağımsız olarak işlemde geçen numunelerdeki cerrahi sınır mesafesinde anlamlı değişime neden olmadığını göstermektedir.

On milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri grubunda rezeksiyon öncesi ölçüm ile rezeksiyon sonrası ölçüm arasında büzüşme sonucu ortalama boyut kaybı 0.75 mm (%7.5) olarak bulundu. %10'luk formalin fiksasyonu sonrası bu grupta ek olarak ortalama 0.51 mm'lik (%5.1) bir büzüşme sonucu boyut kaybı oldu. Mikroskopik kesit hazırlama sonrası ek olarak ortalama 1.73 mm'lik (%17.3) bir boyut kaybı oldu. Bu grupta ilk ölçüm ile mikroskopik kesit hazırlama sonrası ortalama büzüşme sonucu boyut kaybı 2.99 mm (%29.9) olarak bulundu (Tablo 3).

Yirmi milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri grubunda ilk ölçüm ile rezeksiyon sonrası ölçüm

arasında büzüşme sonucu ortalama boyut kaybı 1.35 mm (%6.75) olarak bulundu. Yüzde onluk formalin fiksasyonu sonrası bu grupta ek olarak ortalama 0.54 mm'lik (%2.7) bir büzüşme sonucu boyut kaybı oldu. Mikroskopik kesit hazırlama sonrası bu grupta ek olarak ortalama 4.09 mm'lik (%20.45) boyut kaybı oldu. Bu grupta ilk ölçüm ile mikroskopik kesit hazırlama sonrası ortalama boyut kaybı 5.98 mm (%29.9) olarak bulundu (Tablo 3).

On milimetre ve 20 mm cerrahi sınır bırakılan koter gruplarında da aynı ölçümler yapılmış ve sonuçlar Tablo 4'de verilmiştir.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde rezeksiyonun, formalin fiksasyonun ve mikroskopik kesit hazırlama işlemlerinin cerrahi sınır mesafesinden ve bistüri veya monopolar koter kullanımından bağımsız olarak dokuda büzüşme meydana getirdiği ve cerrahi sınır mesafesinin değişimine neden olduğu görüldü. Ayrıca 10 ve 20 mm cerrahi sınır bırakılan bistüri ve koter gruplarında her bir işlemden sonra ilk ölçüme göre en fazla ortalama boyut küçülmesi mikroskopik kesit hazırlama sonrasında ortaya çıktı. Bu değer diğer işlemlerden sonra ortaya çıkan ortalama boyut küçülmesine göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Tablo 4. On ve yirmi milimetre cerrahi sınır bırakılan koter grubunda her bir işlemden sonra büzüşme sonucu boyut kaybının yüzde değişim tablosu (n=20)

	Yüzde değişim		p*
	10 mm (n=10)	20 mm (n=10)	
	Ort.±SS	Ort.±SS	
İlk ölçüm-rezeksiyon sonrası	6.5±2.41	7.3±3.35	>0.05
İlk ölçüm-fiksasyon sonrası	12.2±1.75	11.65±2.29	>0.05
İlk ölçüm-mikroskopik ölçüm sonrası	22.6±6.23	26.2±3.69	>0.05

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; * Mann-Whitney U testi.

Tablo 5. On milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri ve koter grubunda frozen inceleme sonrası ortalama büzüşme miktarları (n=10)

	Bistüri grubu (n=5)		Koter grubu (n=5)	
	Ort.±SS (mm)	Yüzde değişim Ort.±SS (mm)	Ort.±SS (mm)	Yüzde değişim Ort.±SS (mm)
Rezeksiyon sonrası	9.0±0.30	10.0±3.08	9.16±0.24	8.4±3.63
Mikroskobik ölçüm sonrası	7.64±0.81	23.6±8.14	8.74±0.32	12.6±3.28
<i>p</i> *	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; * Friedman testi.

Yukarıda yapılan ölçümlerin hepsinde dokular formalin fiksasyonu aşamasından geçirildi. Rezeksiyon, fiksasyon ve mikroskobik ölçüm sonrası oluşan boyut küçülmesinin ne kadarının formalin fiksasyonuna bağlı olduğunu anlayabilmek için formalin solüsyonu kullanmadan gerçekleştirilen frozen inceleme yöntemi ile doku büzüşmesi kontrol edildi. Kontrol grubu olarak belirlenen frozen grubunda 10 mm cerrahi sınır bırakılarak bistüri ile beş adet ve koter ile beş adet numune hazırlandı. Ölçümlerimiz sonucunda elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

On milimetre cerrahi sınır bırakılan frozen bistüri grubunda rezeksiyon ve mikroskobik kesit hazırlama sonrası ortalama cerrahi sınır ölçümleri yapılmış, cerrahi sınırda yüzde değişim miktarları tespit edilmiş ve sonuçlar Tablo 5'te verilmiştir. On milimetre cerrahi sınır bırakılan frozen koter grubunda da aynı ölçümler yapılarak Tablo 4 ve 5'te verilmiştir.

Numunelerde büzüşme sonucu ortalama boyut kaybı frozen incelemede de her iki grup için tüm basamaklarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Frozen inceleme gruplarında da en fazla büzüşme mikroskobik kesit hazırlama aşamasında meydana geldi. Bistüri ve koter grubu arasındaki farklar ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

On milimetre cerrahi sınır bırakılan ve %10 formalin ile fiske edilen dil numunelerinin cerrahi sınır değişimleri 10 mm cerrahi sınır bırakılan frozen inceleme yöntemi ile hazırlanan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık sadece mikroskobik kesit hazırlama sonrası dokuda meydana gelen büzüşme miktarında saptandı ($p<0.05$) (Tablo 6 ve 7).

Frozen inceleme yönteminde de dokularda rezeksiyon sonrası ve mikroskobik kesit hazırlama sonrası cerrahi sınırda değişimler saptandı. Bu yöntemde dokular %10'luk formalin fiksasyonu işlemine sokulmadı. On milimetre sınır bırakılarak %10 formalin ile fiske edilen ve frozen inceleme yöntemi ile fiske edilmeden hazırlanan tüm numunelerde büzüşme sonrası cerrahi sınır mesafesinin değişimi en fazla mikroskobik kesit hazırlama sonrasında ortaya çıktı. Fiske edilmeyen dokulardaki mikroskobik ölçüm sonrası cerrahi sınır değişimi, fiske edilen dokulardaki mikroskobik ölçüm sonrası cerrahi sınır değişiminden daha az saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Aradaki bu farklılık %10 formalin fiksasyonunun dokuda oluşturduğu büzüşmenin etkisidir. Frozen inceleme yönteminde, formalin ile işleme sokulan dokulara göre mikroskobik kesit hazırlama sonrasında %6.3 ile %10 arasında daha az büzüşme olduğu saptandı. Böylece histopatolojik

Tablo 6. On milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri ve koter grubunun 10 mm cerrahi sınır bırakılan frozen inceleme ile hazırlanan kontrol grubu ile karşılaştırılması (n=30)

	Bistüri (n=10)	Frozen bistüri (n=5)	Koter (n=10)	Frozen koter (n=5)	<i>p</i> *
	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS	
Rezeksiyon sonrası	9.25±0.32	9.0±0.30	9.35±0.24	9.16±0.34	>0.05
Fiksasyon sonrası	8.74±0.25		8.78±0.17		
Mikroskobik ölçüm sonrası	7.01±0.76	7.64±0.81	7.74±0.62	8.74±0.32	<0.05

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; * Kruskal-Wallis testi.

Tablo 7. On milimetre cerrahi sınır bırakılan bistüri ve koter grubunun 10 mm cerrahi sınır bırakılan frozen inceleme ile hazırlanan kontrol grubu ile yüzde değişimlerinin karşılaştırılması (n=30)

	Bistüri (n=10)	Frozen bistüri (n=5)	Koter (n=10)	Frozen koter (n=5)	p*
	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS	
Rezeksiyon sonrası	7.5 ± 3.27	10±3.08	6.5±2.41	8.4±3.43	>0.055
Fiksasyon sonrası	12.6±2.55		12.2±1.75		
Mikroskopik ölçüm sonrası	29.9±7.62	23.6±8.14	22.6±6.23	12.6±3.28	<0.05

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; * Kruskal-Wallis testi.

incelemelerde kullanılan formalin fiksasyonunun dokularda bistüri ve koter kullanımından bağımsız olarak ortalama %6.3 ile %10 arasında büzüşme yarattığı doğrulandı.

TARTIŞMA

Onkolojik cerrahide rezeksiyon sonrası yeterli mesafede tümör hücreleri içermeyen negatif cerrahi sınır elde etmenin önemi büyüktür. Cerrahi sınırda tümör hücrelerinin olup olmaması ve cerrahi sınırın tümör dokusuna olan uzaklığı hastanın daha sonraki tedavi stratejisini de belirlemektedir. Cerrahi sınırda tümör hücresi bulunan hastalar veya yeterli emniyet sınırı sağlanamayan hastalar ek bir cerrahi tedaviye veya ameliyat sonrası radyoterapiye gereksinim duyabilir.^[4,5]

Literatürde çeşitli çalışmalarda ağız boşluğu karsinomlu hastalarda negatif cerrahi sınır elde etmenin önemi vurgulanmıştır. Byers ve ark.^[6] cerrahi sınırın negatif olduğu ağız boşluğu karsinomlu hastalarda %12'lik bir lokal tekrarlama saptarken, cerrahi sınırın pozitif olduğu hastalarda %80'lik bir lokal tekrarlama oranı saptamışlardır.

Looser ve ark.^[1] 1978 yılında yapmış oldukları çalışmada baş boyun kanserlerinde pozitif cerrahi sınır kriteri olarak cerrahi sınırda karsinoma in situ ve ciddi displazik özellik bulunmasını veya mikroskopik incelemede tümöre 5 mm'den daha yakın histolojik sınır bulunmasını esas olarak belirlemişlerdir. Cerrahi sınıra 5 mm'den daha yakın histolojik sınır bulunan hastalarda lokal tekrarlama oranı ve beş yıllık sağkalım oranı sırası ile %73.3 ve %21.1 olarak bulunmuştur.^[1] Cerrahi sınırda karsinoma in situ ve displazik özellikler bulunan hastalarda ise lokal tekrarlama ve beş yıllık sağkalım sırasıyla %64 ve %28 olarak saptanmıştır.^[1] Bu iki grubun sonuçları birbirine yakın olarak saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. Cerrahi sınır negatif olan hastalarda (>5 mm ve tümör hücresi yok) ise lokal

tekrarlama ve beş yıllık sağkalım oranları sırasıyla %31.7 ve %35.9 olarak saptanmıştır.^[1] Cerrahi sınırda karsinoma in situ ve premalign özellikler gösteren hastalarda ve tümöre 5 mm'den daha yakın sınır bırakılan hastalarda, 5 mm'den fazla cerrahi sınır bırakılan ve cerrahi sınırda tümör hücresi içermeyen hastalara göre daha yüksek oranda lokal tekrarlama ve daha düşük oranda beş yıllık sağkalım oranları saptanmıştır.

Ravasz ve ark.^[2] ağız boşluğu, orofarenks ve larengofarenks karsinomlu hastaların cerrahi tedavisi sırasında tümör sınırına 5 mm'den daha yakın bir sınır bırakılması durumunda hastalarda daha yüksek oranda lokal tekrarlama saptamışlardır.

Literatürde 5 mm'lik emniyet sınırının ameliyat sırasında cerrah tarafından belirlenen ölçüm mü olduğu yoksa çeşitli işlemlerden geçen dokunun histopatolojik incelemesi sırasında patolog tarafından belirlenen ölçüm mü olduğuna dair yeterli bilgi yoktur. Ayrıca ağız boşluğu karsinomlarının eksizyonu sırasında cerrahlar sık sık cerrahi sınır uzaklığının in situ ve rezeksiyon öncesi ölçüme göre dramatik olarak daha yakın belirten patoloji doktorlarının raporları ile karşılaşmaktadır. Bu durum cerrahi sonrası dönemde bir miktar hoşnutsuzluk yaratmakta, hastaların prognozunu tahmin etmede ve daha sonraki tedavinin planlanmasında belirsizliklere yol açmaktadır. Aynı zamanda histopatolojik inceleme sırasında cerrahi sınırda tümör hücreleri görülmesi de moleküler düzeyde malign değişimler söz konusu olabilir. Bu durum da cerrahi sınır pozitifliğinden bağımsız olarak lokal tekrarlamalara neden olabilir.

Brennan ve ark.^[7] bu konu ile ilgili yaptıkları bir çalışmada baş boyun karsinomu nedeni ile tedavi edilen, histopatolojik incelemede negatif cerrahi sınır elde edilen ve tümör hücrelerinin p53 mutasyonu içerdiği 25 hastadan moleküler analiz için 72 adet cerrahi sınır biyopsisi olarak cerrahi sınırdaki hücrelerin tümör hücrelerine benzer

şekilde p53 mutasyonu içerip içermediğine bakmışlar ve 25 hastanın 13'ünde (%52) cerrahi sınır hücrelerinin tümör hücrelerine benzer şekilde p53 mutasyonu içerdiğini saptamışlardır. Yazarlar ayrıca cerrahi sınırdaki p53 mutasyonu saptadıkları 13 hastanın %38'inde lokal tekrarlamaya saptarken, cerrahi sınırdaki p53 mutasyonu saptanmayan hastaların hiçbirinde lokal tekrarlamaya saptamadıklarını bildirmişlerdir.

Bunun bir diğer nedeni de ameliyat sırasında alınan dokuların histopatolojik örneklenmesinin yapılabilmesi için fiksasyon, parafin bloklama ve kesme gibi farklı işlemlerden geçmesi ve buna bağlı doku büzülmesinin meydana gelmesi olabilir. Fiksasyon klasik doku takip işleminin ilk aşamasıdır ve dokunun canlı organizmadaki durumuna en yakın şekilde sabitlenip dış etkenlere dirençli hale getirilmesidir. Cerrahi patolojide en yaygın olarak kullanılan fiksatif %10 formalin (%3.7'lik formaldehid) çözeltilisidir.^[8] Bu yöntemin avantajları basit ve kolay uygulanabilir olması ve ince doku kesitlerinin kolaylıkla elde edilebilmesidir. Bu yöntemin majör dezavantajı ise dokularda deformasyon ve büzülme oluşturmasıdır.^[4,9,10] Çeşitli çalışmalarda formalin fiksasyonunun doku boyutunda büzülmeyle ilgili değişim oluşturduğu ve bu durumda cerrah ve patolojist arasında uyumsuzluk yarattığı gösterilmiştir.^[9,11-18]

Bizim çalışmamızda koyun dilinden bistüri ve koter kullanılarak hazırlanan ayrıca 10 ve 20 mm sınır bırakılarak elde edilen numunelerin hepsinde rezeksiyon sonrası, %10 formalin fiksasyonu sonrası ve mikroskopik kesit hazırlama sonrası büzülmeyle ilgili cerrahi sınır değişimi olduğu saptandı. Tüm aşamalarda büzülmeyle ilgili cerrahi sınır değişimi ilk ölçüme göre istatistiksel olarak anlamlı derecede küçülmüş olarak bulundu. Rezeksiyon öncesi ölçümlere göre rezeksiyon sonrası, fiksasyon sonrası ve mikroskopik kesit hazırlama sonrası en fazla büzülme mikroskopik kesit hazırlama işlemi sonrasında ortaya çıktı. Bunun nedeni dokunun formaldehid ile fikse edildikten sonra dehidratasyon, şeffaflandırma ve sertleştirme işlemlerini içeren doku takibi sürecine girmesidir. Bu aşamalarda alkol, aseton, ksilen ve parafin gibi maddeler kullanılır. Bu aşamalara bağlı olarak doku kalan sıvıyı atacağı için dokuda küçülme beklenir. Elde ettiğimiz sonuç literatürde formalinin farklı dokular üzerine olan etkisi ile karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda formalinin dil numuneleri üzerine olan etkisinin biraz daha az olduğu saptandı. Bu durum dilin

kaslı bir organ olması, herhangi bir lümen içermemesi ve gözenekli yapıya sahip olmamasından kaynaklanabilir. Ayrıca kullanmış olduğumuz dil dokusunun ölü hayvandan elde edilmiş olması özellikle rezeksiyon sonrası ve fiksasyon sonrası daha az büzülme olmasına neden olmuş olabilir. Literatürde formalin fiksasyonuna bağlı doku büzülmesi ile ilgili yapılmış çeşitli deneysel ve klinik araştırmalar da bulunmaktadır.^[7,11,17] Fakat ağız boşluğu ve dil numunelerinde rezeksiyon, %10 formalin fiksasyonu ve mikroskopik kesit hazırlama sonrası cerrahi sınır büzülmesinin bistüri ve koter kullanımı ile değişip değişmediği ve numune boyutunun artması ile değişip değişmediği ölçülüp tanımlanmamıştır.

Johnson ve ark.^[4] ağız boşluğu cerrahi sınır büzülmesi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada dilin mukozal sınırında rezeksiyon sonrası büzülme miktarını ortalama 3 mm (%24.8), %10 formalin fiksasyonu sonrası büzülme miktarını ortalama 3.9 mm (%32.4), mikroskopik kesit hazırlama sonrası büzülme miktarını 3.7 mm (%30.7) olarak saptamışlardır. Sonuç olarak bu çalışmada ağız boşluğunda rezeksiyon, formalin fiksasyonu ve mikroskopik kesit hazırlama sonrası ortalama %30-50 arasında büzülmeyle ilgili cerrahi sınır küçülmesi görüldüğünü belirtmişler ve maksimum büzülmenin rezeksiyon sonrası geliştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca ağız boşluğu kanserlerinin cerrahi tedavisinde 5 mm'lik negatif cerrahi sınır elde etmek için en azından 8-10 mm'lik bir mesafe bırakılması gerektiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak rezeksiyon sonrası tüm gruplarda ortalama büzülme %6.75-7.5 olarak saptandı. Johnson ve ark.^[4] yapmış oldukları çalışmada dil dokusu üzerine %10'luk formalin fiksasyonunun etkisi ortalama %7.6 olarak saptanmıştır. Bu durum bizim çalışmamız ile uyumlu bulundu. Bizim çalışmamızda da tüm gruplarda %10'luk formalin fiksasyonunun dil numuneleri üzerine olan etkisi ortalama %5.1 ile %6.7 oranında bulundu.

Literatürde rezeksiyon, fiksasyon ve mikroskopik kesit hazırlama işlemlerinin bistüri ve koter kullanımından ve farklı mesafede cerrahi sınır bırakılmasından etkilenip etkilenmediğine dair herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. Ayrıca frozen incelemenin numuneler üzerine etkisi olup olmadığı ve formalin fiksasyonunun frozen kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmadı.

Sonuç olarak, çalışmamızda bistüri ve monopolar koter kullanımının ve farklı mesafede sınır bırakılarak incelenen dil numunelerinin rezeksiyon,

%10'luk formalin fiksasyonu ve takip eden histopatolojik inceleme yöntemlerinin cerrahi sınır mesafesini ne şekilde etkilediğine bakıldı. Bistüri veya koter kullanımının ve farklı mesafede cerrahi sınır bırakılmasının rezeksiyon, formalin fiksasyonu ve mikroskopik kesit hazırlama işlemlerinden sonraki ölçümleri etkilemediği saptandı. Ayrıca çalışmamızda cerrah tarafından ilk olarak yapılan ölçüm ile patoloğ tarafından mikroskopik kesit hazırlama sonrası yapılan ölçüm arasında dil numunelerinde ortalama %30 oranında farklılık bulunduğu saptandı. Bu bulgu literatürde yapılan diğer çalışmalar ile uyumlu bulundu. Bu çalışmaya dayanarak dil kanserlerinin rezeksiyonu sırasında 5 mm'lik temiz bir cerrahi sınır bırakmak için yaklaşık 7-8 mm cerrahi sınır belirlenerek rezeksiyon yapılmıştır.

Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

- Looser KG, Shah JP, Strong EW. The significance of "positive" margins in surgically resected epidermoid carcinomas. *Head Neck Surg* 1978;1:107-11.
- Ravasz LA, Slootweg PJ, Hordijk GJ, Smit F, van der Tweel I. The status of the resection margin as a prognostic factor in the treatment of head and neck carcinoma. *J Craniomaxillofac Surg* 1991;19:314-8.
- Loree TR, Strong EW. Significance of positive margins in oral cavity squamous carcinoma. *Am J Surg* 1990;160:410-4.
- Johnson RE, Sigman JD, Funk GF, Robinson RA, Hoffman HT. Quantification of surgical margin shrinkage in the oral cavity. *Head Neck* 1997;19:281-6.
- Woolgar JA. Histopathological prognosticators in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2006;42:229-39.
- Byers RM, Bland KI, Borlase B, Luna M. The prognostic and therapeutic value of frozen section determinations in the surgical treatment of squamous carcinoma of the head and neck. *Am J Surg* 1978;136:525-8.
- Brennan JA, Mao L, Hruban RH, Boyle JO, Eby YJ, Koch WM, et al. Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 1995;332:429-35.
- Doğan Ö, Ahıskalı R, Çakalağaoğlu F, Özkan N, Ekicioğlu G, Şalva E ve ark. Patolojide temel histopatolojik laboratuvar teknikleri. İstanbul: Türk Patoloji Derneği Meslek içi Eğitim Kursu; 2004.
- Kimura M, Tayama N, Chan RW. Geometrical deformation of vocal fold tissues induced by formalin fixation. *Laryngoscope* 2003;113:607-13.
- Schned AR, Wheeler KJ, Hodorowski CA, Heaney JA, Ernstoff MS, Amdur RJ, et al. Tissue-shrinkage correction factor in the calculation of prostate cancer volume. *Am J Surg Pathol* 1996;20:1501-6.
- Goldstein NS, Soman A, Sacksner J. Disparate surgical margin lengths of colorectal resection specimens between in vivo and in vitro measurements. The effects of surgical resection and formalin fixation on organ shrinkage. *Am J Clin Pathol* 1999;111:349-51.
- Pritt B, Tessitore JJ, Weaver DL, Blaszyk H. The effect of tissue fixation and processing on breast cancer size. *Hum Pathol* 2005;36:756-60.
- Siu KF, Cheung HC, Wong J. Shrinkage of the esophagus after resection for carcinoma. *Ann Surg* 1986;203:173-6.
- Schoen RE, Gerber LD, Margulies C. The pathologic measurement of polyp size is preferable to the endoscopic estimate. *Gastrointest Endosc* 1997;46:492-6.
- Gopalswamy N, Shenoy VN, Choudhry U, Markert RJ, Peace N, Bhutani MS, et al. Is in vivo measurement of size of polyps during colonoscopy accurate? *Gastrointest Endosc* 1997;46:497-502.
- Salmhofer W, Rieger E, Soyer HP, Smolle J, Kerl H. Influence of skin tension and formalin fixation on sonographic measurement of tumor thickness. *J Am Acad Dermatol* 1996;34:34-9.
- Quester R, Schröder R. The shrinkage of the human brain stem during formalin fixation and embedding in paraffin. *J Neurosci Methods* 1997;75:81-9.
- Hsu PK, Huang HC, Hsieh CC, Hsu HS, Wu YC, Huang MH, et al. Effect of formalin fixation on tumor size determination in stage I non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2007;84:1825-9.