



ORAL MUKOZA VE EKSFOLİYATİF SİTOLOJİ

ORAL MUCOSA AND EXFOLIATIVE CYTOLOGY

Dr. Ümmühan TOZOĞLU*

Dr. Mustafa GÖREGEN*

ÖZET

"Exfoliative cytology" hücrelerin kaldırılması, cam slaytlar üzerine taşınması ve boyanmasıyla hücrelerin histopatolojik incelenmesidir. Bu işlemde "cytobrush" ile örnek alımı daha sıklıkla kullanılır, çünkü çok sayıda hücre alınmasını ve uniform bir şekilde mikroskop camına yayılmasını sağlar. Karakteristik olarak fiske edilir ve hücreler boyanır. Eksfoliyatif sitoloji non-agresif, basit ve ağrısız bir tekniktir. Böylece hastalar tarafından kabul edilir ve şüphelenilen lezyonların erken teşhisinde rutin taramalarda kullanılabilir ve düşünülen malign lezyonun tedavi öncesi ve sonrasında takibini sağlar. Bu yüzden oral eksfoliyatif sitoloji, oral kanserlerin erken teşhisi ve diyabet gibi sistemik hastalıklarda oral hücrelerin değişimlerini incelemeye olanak sağlar.

Anahtar kelimeler: oral eksfoliyatif sitoloji, sitobraş (cytobrush), oral kanser, sitoloji ve morfolometri

Ağız boşluğu tamamen mukoza ile kaplı olup epitel dilde endoderm, dudak, yanak, diş eti, vestibulum oris, damak ve ağız tabanında ise ektoderm orijinlidir. Ağız mukozası tat alma, çiğneme, yıkama, enzimatik sindirim işlemlerini başlatma ve immün sisteme yardımcı olma gibi fonksiyonları görecektek şekilde özelleşmiş olup, bu yapı fibroblastlar ve bağ dokusu, küçük kan damarları, inflamatuvar hücreler ve ekstraselüler matriksi barındıran lamina propria üzerinde yer alan çok katlı yassı epitelden oluşmaktadır. Yanaklar, dudakların iç kısmı, dilin alt

ABSTRACT

Exfoliative cytology is the histopathologic examination of cells that have been obtained by their physical removal, followed by their placement on a glass slide, and then appropriately stained. Cytobrush sampling is more frequently used for this examination, since it maximizes the number of cells obtained, and facilitates their uniform distribution onto the microscope slide. Characterization is traditionally based on microscopic examination of fixed and stained cell smears. Exfoliative oral cytology is a simple, non-aggressive, and relatively painless technique. It is thus well accepted by patients and suitable for routine application in population screening programmes, for early analysis of suspect lesions, and for pre-and post-treatment monitoring of confirmed malignant lesions. Therefore oral exfoliative cytology is attractive option for the early diagnosis of oral cancer and oral cellular alteration of systemic problems such as diabetes mellitus.

Key word: oral exfoliative cytology, cytobrush, oral cancer, cytology and morphometry

yüzeyi, ağız tabanı ve yumuşak damak gibi hareketli kısımların epiteli non-keratinize iken dil sırtı, sert damak ve diş eti epiteli keratinizedir.¹⁻³

Ağız mukozasında değişikliğe neden olan etkenler oldukça fazladır. Bunlar; bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlar, fiziksel ve termal etkenler, immün sistem değişiklikleri, diyabet mellitus gibi sistemik hastalıklar, neoplaziler, radyoterapi ve kemoterapi, bazı ilaçlar ve kimyasal maddeler ve travmadır. Ayrıca alkol ve sigara gibi kronik alışkanlıklar da prekanseröz ve kanseröz lezyonlara neden olmaktadır. Yine protezlerin uzun süreli kullanımı sonucu ağızda protez

*Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Diagnoz ve Radyoloji AD. Araştırma Görevlisi
(**Makale Gönderilme tarihi: 18.07.2008; Kabul Tarihi: 30.12.2008**)



stomatiti denilen durum ortaya çıkabilir. Özellikle ağız epiteli ve tükürük bezleri, immünolojik yanıtın azaldığı, DNA tamir kapasitesinin bozulduğu ve yumuşak dokularda ilerleyen yaşla birlikte atrofinin geliştiği durumlardan daha fazla etkilenmektedir.^{4,5}

Ağız mukozasını ilgilendiren patolojik süreçlerin çoğunu klinik olarak ayırt edilebilmektedir. Bununla birlikte çoğu lezyonun tedavisi için en uygun yöntemi belirlemeden önce kesin teşhis konması oldukça önemlidir. Oral mukozadaki lezyonları teşhisi için kabul edilen klinik tekniklerin çoğunu insizyonel ve eksizyonel biyopsiler oluşturur. Ancak diyabet gibi bazı özel klinik durumlarda pek çok büyük invaziv teknikler hastalığın kendi durumu ve kan glukozundaki değişiklik nedeniyle geçerliliğini kaybetmiştir. Bu durumda geleneksel yöntemlerle kıyaslandığında non-invaziv ağrısız ve hastalar tarafından kolay tolere edilebilen exfoliatif sitolojinin daha uygun bir alternatif olabileceği düşünülmektedir.⁶⁻¹⁰

Eksfoliatif sitoloji temelde boyanmış ve fiske edilmiş smear hücrelerinin mikroskopik olarak incelenmesi esasına dayanır. Oral kanserlerde bu teknik yetersiz hücre örneğinin alınması, bulguların değerlendirilmesindeki sübjektiflik ve prosedürel hatalardan dolayı eskiden çok kullanılmıyordu. Son yıllarda otomatize sitomorfometrik metotların geliştirilmesiyle, tümör markırlarının tespitinde immünohistokimyasal yöntemler kullanılmasıyla ve hatta DNA içeriğinin tespit edilebilmesiyle bu yöntem popülerite kazanmıştır.⁹ Bu tekniğin en iyi özelliği hücrelerin morfolojik ve morfometrik olarak görünüşünün kaydedilebilmesidir. Ayrıca bu teknikle hücrelerin yapısındaki değişikliklere bakılarak diyabet gibi ağız ilgilendiren bozuklukların erken teşhisinde bize yardımcı olmakta ve böylece hastalar yönlendirilebilmektedir. Böylelikle oral exfoliatif sitoloji hastalığın kontrolü, teşhisi ve önlenmesinde önemli rol oynar.^{6,11-15}

Kantitatif yöntemlerin kullanılmasıyla doğruluk oranı oldukça yükselen oral exfoliatif sitoloji, ağız mukozası yüzeyinden toplanan hücrelerin incelenmesi yöntemidir.^{9,16} İlk kez 1941 yılında Ziskin ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır.¹⁷ Bu yöntem ağız bölgesinde ortaya çıkan prekanseröz ve kanseröz lezyonların tanılarında özellikle 1955 – 1975 yılları arasında kullanılmış olan basit, non-invaziv ve nispeten ağrısız bir yöntemdir.⁹ Daha sonraki yıllarda yetersiz doku

örneği, teknik hata ve bulguların hatalı yorumlanması gibi problemlerden dolayı bu yöntem terk edilmiştir. Günümüzde ise gelişmiş görüntüleme teknikleri ve bilgisayar analiz sistemleri ile birlikte kantitatif tekniklerin uygulanması, sitomorfometrik çalışmaların güvenilirliğini oldukça artırmıştır.¹⁸

Oral eksfoliatif sitolojinin yaygın olarak kullanılmasının nedenleri şunlardır:¹⁷

1. Biyopsi için gönülsüz olan hastalarda bulunan şüpheli bir alanın teşhisinde kullanılabilmesi
2. Çok fazla öneme sahip olmayan lezyonların tanılarında kullanılabilmesi
3. Sistemik durumundan ötürü cerrahi risk taşıyan hastalarda uygun olması
4. Daha önce biyopsi sonucu negatif olan, fakat doku değişiklikleri kalıcı olan lezyonların takip edilmesinde faydalı olması
5. Radyoterapi gören malign lezyonlu hastalarda uygun olması

Bu yöntemin standardize edilebilmesi, hızlı ve ekonomik olması, objektif olması ve istatistiksel analiz için hazır veriler sunması da avantajlarındandır.¹⁹ Ayrıca oral mukozal lezyonların klinik olarak değişiklik olmadığı durumlarda rekürrens olup olmadığını takip etmede de bize yardımcı olabilmektedir.¹⁰

Oral eksfoliatif sitolojide hücreler ağız yıkama yoluyla doğal olarak, fırça (cytobrush) yardımıyla veya mukozanın kazınması gibi yöntemlerle toplanabilirler.¹⁶ İdeal bir sitolojik smear elde etmede fırça; kolay uygulanabilir olması, maksimum miktarda hücre toplanabilmesi ve toplanan bu hücrelerin mikroskop camına düzenli bir şekilde (uniform) yayılabilmesine olanak tanınmasından dolayı tavsiye edilmektedir.^{20,21} Maksimum miktarda hücre toplanmasına ve toplanan bu hücrelerin mikroskop camına uniform olarak yayılması bu teknikte önemlidir.^{9,16,22,23} Bununla birlikte mukoza yüzeyinin kazınması, ağız çalkalaması ve tükürük örneğinin alınması ile de smear alınabilir.^{16,19,22}

Oral Exfoliatif Sitolojide Sitomorfoloji ve Morfometri (Bilgisayarlı Görüntü Analizi)

Oral lezyonların daha kapsamlı tanılarının konulabilmesi amacıyla DNA cytophotometry (nükleer DNA içeriğinin incelenmesi) ve cytomorphology (nükleer ve stoplazmik alan ve volüm ölçümleri) gibi kantitatif teknikler uygulanmaktadır. 1985 yılında Papanicolau boyası ile boyanmış smarlarda nükleer alan/ sitoplazmik alan oranını tahmin etmek suretiyle



malign değişikliklerin tespit edilebileceği gösterilmiştir.^{15,24} Son yıllarda nükleer alan, sitoplazmik alan ve nükleer alan/ sitoplazmik alan, hücre geometrik volümü ve sitoplazma geometrik volümü gibi parametrelerin değerlendirilmesine dayanan kantitatif tekniklerin ağız kanserlerinin erken tanısında eksfoliatif sitolojinin değerini artırabileceğini belirtilmiş ve buna neden olarak da bu tekniklerin daha kesin, subjektif ve tekrarlanabilir olmasını gösterilmiştir.²⁵

İnsan görme sistemi kantitatif yorumlamada mükemmeldir. Hatta normalden küçük sapmaları bile kolayca fark edebilir. Bununla birlikte kantitatif yorumlama için aynı şeyi söylemek zordur. Özellikle sayılacak objelerin miktarı arttıkça bu işlem daha da güçleşir. Büyüklük, şekil ve yapı gibi özelliklerin kantitatif olarak yorumlanması oldukça zordur ve genellikle subjektiviteye neden olur.²⁶ Son yıllarda özellikle bilgisayar analiz sistemlerinin geliştirilmesi ile sitomorfometrik çalışmalar yeniden gündeme gelmiştir.

Bilgisayarlı görüntü analizi (İnteraktif bilgisayarlı morfometri), kanser hücrelerinin nükleer büyüklük ve şeklini ölçen kantitatif bir tekniktir.¹⁷ Bu yöntemle alınan sonuçlar objektiftir ve nükleer morfolojinin tespiti konvansiyonel mikroskopik analizlere göre daha hızlıdır. Hücrelerin büyüklük, şekil ve organizasyonu gibi diğer metotlarla mümkün olmayan özellikleri tespit etmemize imkân tanımaktadır. Bu sistemin hassasiyetinin %90'ın üzerinde olduğu belirtilmektedir. Bu yöntem meme, pankreas, larinks, tiroid, akciğer ve böbrek tümörlerinin biyolojik davranışlarını belirlemek ve yine benign hücrel değişiklikleri araştırmak için kullanılmıştır.²⁷ Bilgisayarlı görüntü analizi ile eksfolie bukkal mukoza hücrelerinin sitomorfometrisi de incelenebilmektedir.²⁵

Ogden ve ark.²⁸ oral kanserlerin erken tanısı için eksfoliatif sitolojiyi önermişler ve nükleer alan (NA), sitoplazmik alan (CA) ve NA/CA değerlerinin sitomorfometrik olarak ölçülmesiyle objektif sonuçlara ulaşabileceğini belirtmişlerdir. Ramaesh ve ark.²⁹ sitomorfometrik tekniğe squamous cell karsinoma lezyonlarında sitoplazmik çapın azaldığını ve nükleer çapın arttığını göstermişlerdir. Yine Ramaesh ve ark.²⁹ squamous cell karsinoma, displastik lezyonlar ve normal mukozada sitoplazmik çap ve nükleer çapa bakıldığında sitoplazmik çapın en çok squamous cell karsinoma da arttığını bulmuşlardır.

Sigara içen bireylerde de oral mukozada çeşitli değişiklikler gözlenmektedir. Bu bireylerde keratinizasyon sürecinin gecikmesinden dolayı mavi hücrelerde bir artışa yol açmaktadır. Sitomorfolojik olarak çekirdekte büyüme izlenebilmekte ve bu durum diyabetli hastaların eksfoliatif sitolojileri ile benzerlik arz etmektedir. Sigara ve tütün kullanımının oral mukozada kronik bir enflamasyona neden olması da hücre morfolojisini etkileyebilir.⁶ Ayrıca Ogden ve ark.³⁰ sigara içenlerde çekirdek çapının azaldığını rapor etmişlerdir. Proia ve ark.¹⁹ sigara içen bireylerde yanak hücrelerinde nükleuslarda küçülme olduğunu ve yine bu hücrelerde kromozomal ve genetik değişiklikler görülebileceğini belirtmişlerdir.

Alkol kullanımının oral mukoza hücrelerini etkileyebileceği düşünülmektedir. Anderson³¹ alkol kullanan bireylerde yaptığı oral smear çalışmasında diskeratotik hücrelerin sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Ogden ve ark.²⁵ ise alkol kullanan bireylerin ortalama CA ve NA'larında anlamlı bir şekilde azalma tespit etmişlerdir.

Alberti ve ark.⁶ Tip 2 diyabetli hastalarda yaptıkları çalışmada nükleer alanlarda bir artış olduğunu ve C/N oranlarının azaldığını göstermişlerdir.

Mollaoğlu ve ark.¹⁰ retiküler oral liken planuslarda NA değerlerinde sağlıklı bireylere kıyasla bir azalma tespit etmişlerdir. Bu durumun keratotik hücrel yapılardan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Huang ve ark.³² eksfoliatif sitolojiyi DNA yı izole etmede kullanmışlar ve p53 geninde oluşan değişiklikleri incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda p53 geninin aktive olmamasının oral kanser gelişmesinde veya ilerlemesinde etkili olacağını belirtmişlerdir. Ayrıca bu tekniğin basit, hızlı ve oral lezyonların takibinde faydalı olacağını vurgulamışlardır.

Brunotto ve ark.³³ liken planusta binükleasyonlu turuncu hücreler, lökoplaki de sadece turuncu hücreler, inflamatuvar hücrelerde ise artmış nükleer volüm tespit etmişlerdir.

Ogden ve ark.³⁴ malin ve normal mukozadan alınan smearların keratin yapıları arasında önemli farklılık olduğunu belirtmişlerdir.

Tozoglu ve ark.³⁵ periton diyalizi alan hastaların dil mukozasından alınan eksfoliyaları incelemeleri sonucunda periton diyalizi alan hastalarının çekirdek volümlerinin kontrol grubuna göre arttığını bulmuşlardır.



Oral eksfolia hücrelerinde sitomorfometrik olarak tespit edilen değişikliklerin diyabet gibi sistemik hastalıkların erken tanısında hastayı yönlendirmede kullanılabileceği muhtemeldir. Oral kanserler, kanser riski taşıyan lezyonlar, sigara ve alkole bağlı oluşabilecek lezyonlar gibi risk faktörleri içinde bu yöntem kullanılarak önemli bilgiler elde edilebilir. Ayrıca bu tip lezyonların kontrolünde ve takibinde hekim ve hastaya kolaylık sağlayabilir. Böylelikle diş hekimleri bu tür lezyonların tanı ve takibinde hastalara yardımcı olabilirler ve hastalar ilgili birimlere yönlendirilebilir.

KAYNAKLAR

- 1- Bhaskar S.N. In:ORBAN'S Oral Histology and Embryology. 9th Edition. St. Louis: Mosby Company; 1980. s.261-335.
- 2-Ross M.H, Kaye G.L, Pawlina W. Histology A Text and Atlas. 4th Edition. Lippincott Williams: 2003. s. 434-436.
- 3- Özbayrak S, Ağız Hastalıkları Atlası; Tanı Kriterleri, Ayırıcı Tanı ve Tedavi Yaklaşımları. Quintessence Yayıncılık. İstanbul,P:1, 2003.
- 4- Jainkittivong A, Aneksuk V, Langlais RP. Oral mucosal conditions in elderly dental patients. Oral Dis 2002; 8: 218–223.
- 5- Ho M, Chen ER, Hsu KH et al. An epidemic of enterofius 71 infection in Taiwan. N Engl J Med 1999; 341: 984–985.
- 6-Alberti S, Spadella CT, Francischone TRCG, Assis GF, Cestari TM, Taveira LAA. Exfoliative cytology of the oral mucosa in type II diabetic patients: morphology and cytomorphometry. J Oral Pathol Med 2003; 32:538-43.
- 7- Mealey BL. Impact of advances in diabetes care on dental treatment of the diabetic patient. Compend Contin Educ Dent 1998;19:41-4.
- 8- Morris HF, Ochi S, Winkler S. Implant survival in patients with type 2 diabetes. Ann Periodontol 2000; 5: 157-65.
- 9- Diniz FM, Garcia GA, Crespo AA, Martins CJL, Gandara RJM. Applications of exfoliative cytology in the diagnosis of oral cancer. Med Oral 2004; 9: 355–361..
- 10- Mollaoglu N, Cowpe J. G, Walker R. Quantitive Cytological Analysis of Smear Collected From Lesions Clinically Resembling Oral Lichen Planus. Cytopathology 2001;12:270-77.
- 11-Caruntu ID, Scutariu MM, Dobrescu G. Computerized morphometric discrimination between normal and tumoral cells in oral smears. J Cell Mol Med 2005; 9: 160-68.
- 12- Sugerman PB, Savage NW. Exfoliative cytology in clinical oral pathology. Aust Dent J 1996; 41: 71-4.
- 13- Remmerbach TW, Weindenbach H, Hemprich A, Böcking A. DNA image cytometry: diagnostic aid in brush cytology of oral cancer. Int Poster J Dent Oral Med 2001; 3: 86.
- 14- Molaoglu N, Cowpe JG, Walker R. Cytomorphologic analysis of papanicolaou stained smears collected from floor of the mouth mucosa in patients with or without oral malignancy. Turk J Med Sci 2001; 31: 225-28.
- 15- Ogden GR. The future role for oral exfoliative cytology. Oral oncology 1997; 33: 2-4.
- 16- Jones CJ, Pink FE, Sandow PL, Stewart CM, Migliorati CA, Baughman RA. The cytobrush cell collector in oral cytology. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1994; 77: 101–107.
- 17- Nayar AK, Sundharam BS. Cytomorphometric analysis of exfoliated normal buccal mucosa cells. Ind J Dent Res 2003; 14: 87–93.
- 18- Pektaş ZÖ, Keskin GÖ, Karslıoğlu Y. Evaluation of Nuclear Morphometry and DNA Ploidy Status for Detection of Malignant and Premalignant Oral Lesions: Quantitative Cytologic Assessment and Review of Methods for Cytomorphometric Measurements. J Oral Maxillofac Surg 2006; 64: 628–635.
- 19-Proia NK, Paszkiewicz GM, Nasca MA, Franke GE, Pauly JL. Smoking and smokeless tobacco-associated human buccal cell mutations and their association with oral cancer-a review. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006; 15: 1061-77.
- 20- Amelia Acha, María T. Ruesga, María J. Rodríguez, María A. Martínez de Pancorbo, José M. Aguirre Applications of the oral scraped (exfoliative) cytology in oral cancer and precancer. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2005; 10: 95-102.
- 21-Walling DM, Flaitz CM, Adler-Storhzh K, Nichols CM. A non-invasive technique for studying oral epithelial Epstein-Barr virus infection and disease. Oral Oncol. 2003; 39: 436–44.



- 22-Ogden GR, Cowpe JG, Green M. Cytobrush and wooden spatula for oral exfoliative cytology. A comparison. *Acta Cytol.* 1992; 36: 706-10.
- 23-Mehrotra R, Gupta A, Singh M, Ibrahim R. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Mol Cancer* 2006; 23; 5: 11.
- 24-Cowpe JG, Longmore RB, Green MW. Quantitative exfoliative cytology of normal oral squames: an age, site and sex-related survey. *J R Soc Med.* 1985; 78: 995-1004.
- 25- Ogden GR, Wight AJ, Rice P. Effect of alcohol on the oral mucosa assessed by quantitative cytomorphometry. *J Oral Pathol Med* 1999; 28: 216-220.
- 26- Rodenacker K, Bengtsson E. A feature set for cytometry on digitized microscopic images. *Anal Cell Pathol* 2003; 25: 1-36.
- 27- Ramaesh T, Mendis BRRN, Ratnatunga N, Thattil RO. Diagnosis of Oral Premalignant and Malignant Lesions Using Cytomorphometry. *Odontostomatol Trop* 1999; 85: 23-8.
- 28-Ogden GR, Cowpe JG, Wight AJ. Oral exfoliative cytology: review of methods of assesment. *J Oral Pathol Med.* 1997; 26: 201-205.
- 29- Ramaesh T, Mendis BR, Ratnatunga N, Thattil RO. The effect of tobacco smoking and of betel chewing with tobacco on the buccal mucosa: a cytomorphometric analysis. *J Oral Pathol Med.* 1999; 28: 385-388.
- 30- Ogden GR, Cowpe JG, Gren MW. Quantitative exfoliative cytology of normal buccal mucosa: effect of smoking. *J Oral Pathol Med.* 1990; 19: 53-55.
- 31-Anderson DL. Intraoral site distribution of malignancies and preinvasive malignant cell transformation in dental patients and alcoholics. *Acta Cytol.* 1972; 16: 322-326.
- 32- Huang MF, Changa YC, Liao PS, Huang TH, Tsayc CH, Choub MY. Loss of heterozygosity of p53 gene of oral cancer detected by exfoliative cytology. *Oral Oncology* 1999;35: 296-301.
- 33- Brunotto M , Zárate AM, Cismondi A, Fernández M, Halac RI. Valuation of exfoliative cytology as prediction factor in oral mucosa lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10: 92-102.
- 34- Ogden G R, McQueen S, Chisholm D M, Lane E B. Keratin profiles of normal and malignant oral mucosa using exfoliative cytology. *J. Clin. Pathol.* 1993;46;352-356.
- 35- Tozoğlu Ü, M. Keles, A.Uyanık, O.M. Bilge, A.B. Yılmaz, R. Çetinkaya. Exfoliative Cytology of Tongue Mucosa in PD Patients: A Cytomorphometric Study. *Journal of The International Society For Peritoneal Dialysis.*2008;28; 50.

Yazışma Adres:

Dr. Ümmühan TOZOĞLU
Atatürk Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Oral Diağnoz ve Radyoloji A.D.
25240, ERZURUM
TEL: 0442 2311805
Fax: 0 442 2360945
E mail: utozoglu@hotmail.com

