



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Başkan: Prof. Dr. Sibel ERDAMAR ÇETİN

SERÖZ EFÜZYON SİTOLOJİSİNDE KONVANSİYONEL SİTOLOJİ VE SIVI BAZLI SİTOLOJİ (THİNPREP) YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Ertuğrul ORUÇ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nesrin UYGUN

İstanbul – 2015

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim süresince bilgi birikimleri ve değerli tecrübelerini esirgemeyen, emek ve tavsiyeleri ile her an desteğini hissettiğim, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sibel Erdamar Çetin olmak üzere tüm Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi, tecrübe, hoşgörü, sabır ve desteğiyle bana yol gösteren, düzeltilmesinde ve son halini almasında büyük emeği olan tez danışmanım Prof. Dr. Nesrin Uygun'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca kısa veya uzun süreli beraber çalışma olanağı bulduğum, bilgi, tecrübe ve tavsiyelerinden istifade ettiğim, yanımda oldukları için kendimi şanslı hissettiğim, tezimin bitmesinde bana yol gösterici ve teşvik edici olan, tökezlediğim anlarda hep yanımda bulduğum asistan arkadaşım Emre başta olmak üzere eş kıdemlilerim Bilge, Songül, Zeynep, Doğu, Emel ve diğer tüm asistan arkadaşlarıma, benimle beraber mikroskop başında uzun saatler geçiren ve gelişmemde büyük katkıları olan uzmanlarıma, beraber çalışmaktan her zaman keyif aldığım patoloji bölümü teknisyen arkadaşlarıma; güler yüzlerini ve yardımlarını hiçbir zaman benden esirgemeyen personel ve sekreter arkadaşlarıma sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezimi, uzmanlık eğitimim boyunca çok büyük sabır ve fedakarlıklar gösteren, karamsarlığa düştüğüm anlarda her zaman beni motive eden aileme ve kendime örnek aldığım biricik Gamze'me adıyorum.

Dr. Ertuğrul Oruç

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
TABLO, RESİM VE GRAFİK LİSTESİ	v
KISALTMALAR VE ORJİNAL YAZILIŞIYLA KULLANILAN TERİMLER.....	x
ÖZET	1
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. SERÖZ BOŞLUK.....	7
2.1.1. ANATOMİ, HİSTOLOJİ, EMBRİYOLOJİ VE FİZYOLOJİ.....	7
2.2. SERÖZ EFÜZYON	8
2.2.1. TANIM	8
2.2.2. ETYOPATOGENEZ	8
2.2.3. SINIFLANDIRMA.....	8
2.2.4. SERÖZ EFÜZYON DEĞERLENDİRMESİNDE KULLANILAN TESTLER.....	12
2.2.5. SERÖZ EFÜZYONLARDA SİTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME....	13
2.2.5.1. TARİHÇE.....	13
2.2.6. BENİGN SERÖZ EFÜZYONUN HÜCRESEL ELEMANLARI.....	22
2.2.6.4. SERÖZ EFÜZYONDA GÖRÜLEBİLEN HÜCRESEL OLMAYAN ELEMANLAR	27
2.2.7. BENİGN SERÖZ EFÜZYONLAR	27
2.2.8. MALİGN SERÖZ EFÜZYONLAR	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. OLGU SEÇİMİ.....	36
MATERYALLERİN HAZIRLANMASI VE ANALİZİ.....	36

3.1.1. OLGU SEÇİMİ.....	36
3.1.2. MATERYALLERİN HAZIRLANMASI.....	36
3.1.3. MATERYALLERİN ANALİZİ	41
3.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ.....	45
4. BULGULAR.....	47
4.1. KLİNİK BULGULAR.....	47
4.2. MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME	48
4.3. BENİGN SERÖZ EFÜZYONLARA AİT DEĞERLENDİRMELER	50
4.3.1. BENİGN SERÖZ EFÜZYONLARDA SİTOMORFOLOJİK AYRINTILARIN ANALİZİ.....	50
4.3.2. BENİGN SERÖZ EFÜZYONLARDA THINPREP® SIVI BAZLI SİTOLOJİ PREPARATI İLE KONVANSİYONEL SİTOLOJİ PREPARATINI KİYASLAMA ANALİZİ	53
4.4. MALİGN SERÖZ EFÜZYONLARA AİT DEĞERLENDİRMELER	54
4.4.1. MALİGN SERÖZ EFÜZYONLARDA SİTOMORFOLOJİK AYRINTILARIN ANALİZİ.....	54
4.4.2. MALİGN SERÖZ EFÜZYONLARDA THINPREP® SIVI BAZLI SİTOLOJİ PREPARATI İLE KONVANSİYONEL SİTOLOJİ PREPARATI KİYASLAMA ANALİZİ	58
4.5. PREPARASYON YÖNTEMLERİNİN TEKNİK ÖZELLİKLERİNİN KİYASLANMASI.....	59
4.5.1. KONVANSİYONEL SİTOLOJİ PREPARATLARININ KALİTESİ.....	59
4.5.2. PİKNOZ	60
4.5.3. PERİFERAL RİM ARTEFAKTI.....	64
4.5.4. ARTİFİSYEL AÇIKLIKLAR.....	68
4.5.5. THINPREP® PREPARATINDA KALAN ERİTROSİT DEBRİSİ	73
4.5.6. THINPREP® PREPARATINDAKİ EKSTRASELLÜLER MATERYAL KALINTISI.....	77

4.5.7. THINPREP® YÖNTEMİNİN SİTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMEYE EKSTRA KATKISI.....	80
5. TARTIŞMA	87
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	97
7. RESİMLER.....	101
8. KAYNAKLAR	117
EKLER.....	120



TABLO, RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

TABLolar

Tablo 1. En Sık Karşılaşılan Efüzyon Sebepleri.....	9
Tablo 2. Plevral, Peritoneal ve Perikardiyal Efüzyonların En Sık Karşılaşılan Sebepleri	11
Tablo 3. Başlıca Benign Seröz Efüzyon Nedenleri (1-3)	29
Tablo 4. Başlıca Özgün Patern Tipleri ve Sık Görüldükleri Tümörler.....	34
Tablo 5. Belli Başlı Tümör Tiplerine Özgü En Sık Kullanılan İmmunositokimyasal Belirteçler.....	35
Tablo 6. Materyalin Ekstrasellüler Madde İçeriği ile KS Preparat Kalitesinin Karşılaştırılması	60
Tablo 7. Materyalin Eritrosit İçeriği ile KS Preparat Kalitesinin Karşılaştırılması.....	60
Tablo 8. Benign Efüzyonlarda Piknozun Teknik Bazı Parametreler ile İlişkisi	61
Tablo 9. Benign Efüzyonlarda Piknozun Bazı Sitolojik Parametreler ile İlişkisi	62
Tablo 10. Malign Efüzyonlarda Piknozun Teknik Bazı Parametreler ile İlişkisi	63
Tablo 11. Malign Efüzyonlarda Piknozun Bazı Sitolojik Parametreler ile İlişkisi	64
Tablo 12. Benign Efüzyonlarda Periferik Rim Artefaktının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi.....	65
Tablo 13. Benign Efüzyonlarda Periferik Rim Artefaktının Diğer Bazı Parametreler İle İlişkisi	66
Tablo 14. Malign Efüzyonlarda Periferik Rim Artefaktının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi	67
Tablo 15. Malign Efüzyonlarda Periferik Rim Artefaktının Diğer Bazı Parametreler İle İlişkisi	68
Tablo 16. Benign Efüzyonlarda Artifiyel Açıklıkların Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi	70

Tablo 17. Benign Efüzyonlarda Artifisyonel Açıklıkların Bazı Sitolojik Parametreler İle İlişkisi	71
Tablo 18. Malign Efüzyonlarda Artifisyonel Açıklıkların Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi	72
Tablo 19. Malign Olgularda Artifisyonel Açıklıkların Bazı Sitolojik Parametreler İle İlişkisi	73
Tablo 20. Benign Efüzyonlarda ThinPrep® Preparatında Kalan Eritrosit Debrisinin Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi	75
Tablo 21. Malign Efüzyonlarda ThinPrep® Preparatında Kalan Eritrosit Debrisinin Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi	77
Tablo 22. Benign Efüzyonlarda ThinPrep® Preparatındaki Ekstrasellüler Materyal Kalıntısının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi	78
Tablo 23. Malign Efüzyonlarda ThinPrep® Preparatındaki Ekstrasellüler Materyal Kalıntısının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi	80
Tablo 24. Benign Efüzyonlarda ThinPrep® Yönteminin Sitopatolojik Değerlendirmeye Ekstra Katkısının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi	81
Tablo 25. Benign Efüzyonlarda ThinPrep® Yönteminin Sitopatolojik Değerlendirmeye Ekstra Katkısının Bazı Sitolojik Parametreler İle İlişkisi	82
Tablo 26. Malign Efüzyonlarda ThinPrep® Yönteminin Sitopatolojik Değerlendirmeye Ekstra Katkısının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi	84
Tablo 27. Malign Efüzyonlarda ThinPrep® Yönteminin Sitopatolojik Değerlendirmeye Ekstra Katkısının Bazı Sitolojik Parametreler İle İlişkisi	85

RESİMLER

Resim 1. Vücudumuzdaki seröz boşluklar (57).....	101
Resim 2. Normal seröz zarın histolojisi. Fibröz doku ile desteklenen tek tabakalı küboidal mezotel hücreleri (1).	101
Resim 3. Batın yıkama sıvısında izlenen normal mezotel hücreleri (PAP boyalı KS). 102	
Resim 4. Makroskopik görünümüleriyle renk yelpazesi oluşturmuş seröz efüzyonlar (8).	102

Resim 5. TP 2000 cihazı (26).	103
Resim 6 A ve B. Wet film tekniği ile değerlendirilen seröz efüzyon. A: Kalabalık gruplar halinde bol hücre. B: Grubu oluşturan malign epitelyal hücreler (Toluidin mavisi boyalı wet film)	103
Resim 7 A, B ve C. Mezotel hücrelerinin oluşturduğu grup çeşitleri. A: Tek tek ve küçük kümeler halinde mezotel hücreleri. B: Papilla benzeri grup. C: Tek sıralı dizi halinde mezotel hücreleri ve aralarında mezotelyal yarıklar (A, B ve C: PAP boyalı TP).	104
Resim 8A ve B. Benign mezotel hücresi. A: MGG boyası ile sitoplazmada iki farklı tonda boyanma: endoplazma açık, ektoplazma koyu; yüzeyde belirginleşmiş sitoplazmik “bleb”ler. B: PAP boyası ile sitoplazmada iki farklı tonda boyanma: endoplazma koyu, ektoplazma açık; parasantral yerleşimli çekirdek (A: MGG boyalı KS; B: PAP boyalı TP).	104
Resim 9. Mezotelyal pencere görünümü. (PAP boyalı KS).	105
Resim 10. Tek, büyük sitoplazmik vakuol nedeniyle taşlı yüzük hücresi görünümüne sahip mezotel hücresi (PAP boyalı KS).	105
Resim 11 A, B ve C. Atipik mezotel hücreleri. A ve B: Malignite kuşkusu uyandıran anormal hücre şekilleri. C: Karsinom metastazlarında beklenen tarzda sıkı tutunan küme oluşturmuş atipik mezotel hücreleri (A, B ve C: PAP boyalı TP).	106
Resim 12 A, B, C ve D. SE’da görülen inflamatuvar hücreler. A: Nötrofil polimorflar. B: Lenfositler. C: Makrofajlar. D) Eozinofil polimorflar (A, B ve C: PAP boyalı KS; D: PAP boyalı TP).	107
Resim 13. Reaktif mezotel hücreleri ile çevrili kollajen top (PAP boyalı TP).	108
Resim 14 A ve B. Reaktif mezotel hücresinde mitoz (A: PAP boyalı TP; B: Toluidin mavisi boyalı Wet film).	108
Resim 15 A, B ve C. Romatoid artriti olan hastanın plevral efüzyonu. A ve B: İzole halde atipik epiteloid hücreler. C: Hücre bloğu kesitinde bazıları geniş vakuollü sitoplazmalı atipik epiteloid hücreler (A: PAP boyalı TP; B: PAP boyalı KS; C: H&E).	109
Resim 16 A ve B. Tümör hücrelerinin oluşturduğu grup çeşitleri. A: Papiller grup. B: Küresel grup (A: PAP boyalı KS; B: PAP boyalı TP).	109
Resim 17 A ve B. Tek tek duran malign tümör hücreleri. A: İndiferansiye karsinom metastazı. B: Non-Hodgkin lenfoma yayılımı (A: PAP boyalı KS; B: PAP boyalı TP).	110

Resim 18 A ve B. Tümör hücre gruplarının sınır özellikleri. A: Düzgün, ortak sınır. B: Lobüle sınır (A ve B: PAP boyalı TP).	110
Resim 19 A, B ve C. Mezotel hücresine kıyasla tümör hücresi boyutları. A: Küçük boyutlu karsinom hücreleri (kırmızı ok ile işaretli; siyah ok, mezotel hücresi). B: Orta boyutlu karsinom hücreleri (kırmızı ok ile işaretli; siyah ok, mezotel hücresi). C: Büyük boyutlu karsinom hücreleri (kırmızı ok ile işaretli; siyah ok, mezotel hücresi) (A ve B: PAP boyalı KS; C: PAP boyalı TP).....	111
Resim 20 A ve B. Anaplazinin belirgin olduğu karsinom hücreleri. A ve B: Çekirdek/sitoplazma oranı artmış, çekirdek zarı ve kromatin dağılımı düzensiz, çekirdekçik belirgin (A ve B: PAP boyalı TP).	111
Resim 21. Taşlı yüzük hücresi görünümünde karsinom hücresi (PAP boyalı KS).	112
Resim 22 A, B, C ve D. Müsin içeren karsinom hücreleri. A: Sitoplazmada müsin varlığına işaret eden geniş, vakuollü görünüm. B: Tümör hücrelerinin zemininde mukoid materyal. C: “Öküz gözü” şeklinde intrasitoplazmik müsin. D: Hücre bloğu kesitinde intrasitoplazmik müsin içeren karsinom hücreleri (A: PAP boyalı TP; B: PAP boyalı KS; C ve D: Müsikarmin boyası).....	112
Resim 23 A, B, C ve D. Seröz karsinom metastazında psammoma cisimcikleri. A: Tek, izole halde. B: Papiller grup içinde çok sayıda. C: Hücre bloğu kesitinde konsantrik görünüm. D: Grup ortasında (A ve B: PAP boyalı TP; C: H&E; D: Toluidin mavisi boyalı wet film).	113
Resim 24 A, B ve C. Mezotelyomada sitomorfolojik özellikler. A ve B: Çok sayıda kalabalık grup halinde tümör hücreleri. C: Mezotelyal hücre özelliklerini yansıtan tümöral hücre grubu (A, B ve C: PAP boyalı TP).	114
Resim 25 A ve B. TP preparatında ortaya çıkan piknotik değişiklikler A: Özellikleri seçilemeyen büzüşmüş çekirdeğe sahip mezotel hücreleri. B: Aynı değişikliğe uğramış tümör hücreleri (A ve B: PAP boyalı TP).....	114
Resim 26. TP preparatında ortaya çıkan periferik rim artefaktı. Kırmızı ok ile gösterilen taraf, hücrelerin yayıldığı dairesel alanın dış kenarı; mavi ok ile gösterilen taraf periferik rim artefaktı ile sitomorfolojik özelliklerin olağan olduğu alanın geçişi; ikisinin arası periferik rim artefaktı bölgesi (PAP boyalı TP).	115
Resim 27 A ve B. TP preparatında görülen artifisyel açıklıklar (A ve B: PAP boyalı TP).....	115

Resim 28. TP preparatında kalan eritrosit debris (PAP boyalı TP).....	116
Resim 29 A ve B. TP preparatlarında kalite. A: İyi kalite preparata örnek: Artefakt içermeyen, hücresel, homojen yayma. B: Düşük kalitede preparata örnek: Bolca ekstrasellüler materyal kalıntısı içeren hücreden fakir yayma (A ve B: PAP boyalı TP).	116

GRAFİKLER

Grafik 1. Olguların Cinsiyete Göre Dağılımı	47
Grafik 2. Olguların Anatomik Boşluklara Göre Dağılımı	47
Grafik 3. Benign ve Malign Olguların Anatomik Boşluklara Göre Dağılımı	48
Grafik 4. Efüzyonun Makroskopik Görünümüne Göre Olguların Anatomik Boşluklarda Dağılımı	49
Grafik 5. Benign ve Malign Olguların Efüzyonun Makroskopik Görünümüne Göre Dağılımı.....	50
Grafik 6. Benign Efüzyonlarda Mezotel Hücre Miktarının Dağılımı.....	51
Grafik 7. Mezotelyal Atipi Gösteren Olguların Anatomik Boşluklara Göre Dağılımı ..	52
Grafik 8. Malign Epitelial Tümör Metastazı Olgularının Tümöral Hücre Yoğunluğuna Göre Dağılımı.....	55
Grafik 9. Olguların Hücre Dağılım Paternine Göre Dağılımı.	55
Grafik 10. Tümöral Hücre Boyutuna Göre Olguların Dağılımı	56
Grafik 11. Anaplazi Derecesine Göre Olguların Dağılımı	57

EKLER

EK 1: ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ	120
EK 2: SERÖZ EFÜZYON MAKROSKOPİ MATBU FORM	122

KISALTMALAR VE ORJİNAL YAZILIŞIYLA KULLANILAN TERİMLER

KISALTMALAR

Seröz Efüzyon	SE
ThinPrep®	TP
Sıvı Bazlı Sitoloji	SBS
Konvansiyonel Sitoloji	KS
SurePath®	SP
Papanicolaou boya yöntemi	PAP

ORJİNAL YAZILIŞIYLA KULLANILAN TERİMLER

Pellet: Bir sıvı örneğin, santrifüj işlemi sonrasında, dipte toplanan, hücre ve ekstrasellüler materyalden zengin kısmı.

Süpernatant: Bir sıvı örneğin, santrifüj işlemi sonrasında, pellet üzerinde kalan, hücreden fakir sıvı kısmı.

Bleb: Mezotel hücre sitoplazma yüzeyinde bulunan mikrovillusların şişmesi sonucu oluşan, nadiren ışık mikroskobu altında seçilebilen, genellikle Romanowsky bazlı boyalar ile daha iyi görülebilen, hücre yüzeyindeki kabarcıklara verilen ad.

ÖZET

SERÖZ EFÜZYON SİTOLOJİSİNDE KONVANSİYONEL SİTOLOJİ VE SIVI BAZLI SİTOLOJİ (THINPREP) YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Amaç: Seröz efüzyon (SE) sitolojisinde esas amaç, eğer varsa, sıvıdaki malign hücreleri tespit etmektir. Bu amaca ulaşmadaki en önemli faktör, sıvıdan değerlendirmeye uygun kaliteli preparat elde etmektir.

SE'ların sitopatolojik değerlendirmesi için farklı yöntemlerle preparat hazırlanabilmektedir. Bu çalışmada amaç, konvansiyonel yöntemle kıyaslayarak ThinPrep (TP) sıvı bazlı sitoloji (SBS) yöntemiyle preparat hazırlamadaki olumlu ve olumsuz faktörleri ortaya koymak ve yöntemi geliştirmenin yollarını araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya alınan 250 adet SE materyalinden TP-SBS ve konvansiyonel sitoloji (KS) yöntemleriyle yaymalar; plazma-trombin ve konvansiyonel yöntemler kullanılarak hücre blokları hazırlandı. Benign ve malign olarak 2 kategoriye ayrılan olgulara ait tüm preparatlar, sitomorfolojik özellikleri ve teknik ayrıntıları açısından belirlenen parametreler çerçevesinde kıyaslamalı olarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Bulguların istatistiksel analizinde, gereksinime göre seçilen testler için SPSS 21.0 istatistik paket programı kullanıldı.

Bulgular: Olguların 154'ü (%61.6) benign, 96'sı (%38.4) malign efüzyondu.

Benign ve malign efüzyonların sitomorfolojik özelliklerinin ayrıntılı değerlendirilmesinde klasik literatürde tanımlananlar dışında dikkat çeken bulgu saptanmadı.

TP-SBS ve KS yöntemleri teknik ayrıntıları açısından kıyaslandığında, hem benign, hem malign efüzyonlarda, başta çekirdek morfolojisi (sırasıyla, %77.9 ve %81.3) olmak üzere, hücrelerin sitomorfolojik özelliklerini iyi yansıtması ve içerdikleri hücre miktarları açısından TP preparatlarının belirgin şekilde iyi oldukları görüldü.

Kaliteli TP preparatı hazırlamada, yıkama aşamasında titizlikle çalışılmasının ve TP PreservCyt solüsyonuna, kontrollü olarak, olabildiğince çok materyal aktarılmasının önemli olduğu belirlendi ($p=0,011$ ve $p=0,000$).

Sitomorfolojik özellikleri iyi yansıtan TP preparatları hazırlandığında, özellikle KS ile değerlendirme güçlüğü yaşanan durumlarda, TP-SBS yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkı sağladığı saptandı ($p=0,000$).

Sonuc: Tanımlanan yöntem çerçevesinde titiz bir çalışma ile elde edilen kaliteli TP preparatları, sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkı sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Seröz efüzyon, ThinPrep, sıvı bazlı sitoloji, konvansiyonel sitoloji, hücre bloğu



ABSTRACT

COMPARISON OF CONVENTIONAL AND LIQUID-BASED CYTOLOGY (THINPREP) PREPARATIONS IN SEROUS EFFUSION

Objectives: The main purpose of serous effusion (SE) cytology is to determine the malignant cells if they are present. The most important factor for this goal is to prepare slides from serous fluid that are of high quality and appropriate for the evaluation. The slides of SE can be prepared by a number of different methods. The aim of this study is to reveal the favorable and unfavorable factors of the ThinPrep liquid-based cytology (LBC) by comparing LBC with conventional method and to investigate a variety of ways to improve the method.

Materials and methods: The slides were prepared by using LBC and conventional cytology (CC) methods, the cell blocks were prepared by using plasma-thrombine and conventional methods for each of 250 SE materials. The slides were categorized as benign and malignant and were evaluated comparatively under light microscope, in terms of the cytomorphological features and technical details by using the preset criteria. SPSS 21.0 program was used for the statistical analysis.

Results: 154 cases (%61.6) had benign, 96 cases (%38.4) had malignant effusion.

The detailed evaluation of cytomorphological properties of the benign and malignant effusions did not reveal any new discriminative finding other than the ones that had already been described in the classical literature.

When TP-LBC and CC methods were compared in terms of the technical details for both benign and malignant effusions, TP preparations were found to be markedly better since the TP technique reflected the cell properties, especially the nuclear features (respectively %77.9, %81.3), better and the TP slides had high amount of cells.

It was found that the preparation of high quality TP slides required a meticulous work during the washing phase and as a result to achieve the controlled transfer of as much as material as possible to the TP PreservCyt solution ($p=0,011$ and $p=0,000$).

It was also noted that when there was any difficulty in the evaluation of a case with CC method, the slides that had been prepared with TP-LBC method, had high quality, reflecting the cytomorphological features much better, resulting in a great contribution to the diagnosis ($p=0,000$).

Conclusions: TP slides prepared with meticulous work according to the described method make a fabulous contribution to the cytological evaluation.

Key words: Serous effusion, ThinPrep, liquid-based cytology, conventional cytology, cell block



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vücudumuzda, plevral, peritoneal ve perikardiyal olmak üzere üç ana seröz boşluk bulunur (1, 2). Seröz boşluklarda sıvı birikimine, seröz efüzyon (SE) denir ve daima patolojik bir sürece işaret eder (2, 3).

SE oluşumunda rol oynayan pek çok sebep mevcuttur; malign tümör yayılımları bunların en önemlilerini oluşturur (1-4). Seröz boşluklara malign tümör yayılımı, hastalığın son evreye girdiğini gösteren bir bulgudur ve hastanın beklenen yaşam süresini oldukça kısaltır. Bu nedenle, SE sitolojisinde esas amaç, eğer varsa, sıvıda malign hücre içeriğini tespit etmektir. (1).

Sitoloji uygulamasında, çok uzun yıllardır kullanılan KS yöntemlerinin, teknik ve sitomorfolojik sınırlılıklarını aşmak amacıyla, yeni nesil teknoloji olan sıvı bazlı sitoloji (SBS) yöntemleri kullanıma girmiştir (5). SBS yöntemlerinin başlıca avantajları olarak, sitomorfolojik detayları daha iyi seçilebilen ince tabaka halinde yayılmış hücreler ve daha temiz bir zemine sahip preparatlar elde edilebilmesi; başlıca dezavantajları olarak ise pahalı bir yöntem oluşu ve ek personel ihtiyacı göstermesi sayılabilir (1, 6, 7).

Her sitolojik materyalden hücre bloğu oluşturulması tavsiye edilmektedir. Hücre bloğu, çoklu kesitlerle hücre veya hücre gruplarının morfolojisini inceleme olanağı sunmasının yanında, yardımcı ek çalışmalar yapmaya olanak vererek doğru tanıya ulaşmada yardımcı olur (4).

Çalışmamızda, Eylül 2014-Mayıs 2015 tarihleri arasında bölümümüze gelen 250 adet SE materyalinden hem TP-SBS, hem de KS yöntemleriyle ayrı ayrı sitolojik preparatlar hazırlandı. Ayrıca, her SE materyalinden plazma-trombin yöntemiyle 1 adet; hacmi yeterli olanlardan hem plazma-trombin, hem de konvansiyonel hücre bloğu oluşturma yöntemleri kullanılarak en az 2 adet hücre bloğu oluşturuldu. Rapor sonuçları esas alınarak olgular, benign ve malign efüzyonlar olmak üzere 2 ana kategoriye ayrıldı. Olgulara ait sitolojik preparatlar ve hücre bloğu kesitleri, sitomorfolojik ayrıntılar ve teknik özellikler açısından belirlenen parametreler çerçevesinde ışık mikroskobunda değerlendirildi; her bir kategorideki olgulara ait bulgular, kendi içinde analiz edildi. İstatistiksel analizde, gereksinime göre seçilen testler için SPSS 21.0 istatistik paket programı kullanıldı.

Bu çalışmadaki amacımız, SE sitolojisinde TP-SBS yönteminin kullanımının hem sitomorfolojik, hem de teknik açıdan olumlu ve olumsuz yanlarını değerlendirmek ve saptanan olumsuzlukların nlenebilmesinin yollarını araştırmaktı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. SERÖZ BOŞLUK

2.1.1. ANATOMİ, HİSTOLOJİ, EMBRİYOLOJİ VE FİZYOLOJİ

Seröz boşluk, içinde organların bulunduğu, dış ortamla ilişkisi olmayan kapalı bir boşluktur. Vücudumuzda 3 ana seröz boşluk bulunmaktadır; bunlar plevral, peritoneal ve perikardiyal boşluklardır. Bu boşluklara **seröz** denmesinin nedeni, normal şartlarda az miktarda, serum benzeri sıvı içermesidir. Ayrıca bu boşluklar, **vücut boşluğu** olarak da bilinirler (1). Peritoneal boşluk makroskopik olarak, biri pelvis boşluğu olmak üzere, 5 bölgeye ayrılmaktadır (Resim 1). Embriyolojik olarak periton boşluğunun devamı olan ve testisi kısmen saran tunika vaginalis testis de, seröz boşluk sayılabilir (1, 8).

Bu boşluklar, **seröz zar** veya **seroza** denilen bir tabakayla örtülüdür. Seröz zarlar, damar ve sinir ağı içeren bağ dokusuyla desteklenmiş, tek katlı, yassı veya küboidal mezotelyal hücre tabakasından oluşur (Resim 2). Mezotel hücreleri embriyolojik olarak, mezenkimal dokuların da köken aldığı mezoderm kaynaklıdır; ancak epitelyal hücre morfolojisi ve biyolojisine sahiptirler. Histolojik kesitlerde nadiren izlenen normal mezotel hücreleri, laparotomi sırasında alınan batın yıkama sıvılarından hazırlanan sitoloji preparatlarında görülebilir (Resim 3). Bunlar, hücre sınırları belirgin, geniş berrak sitoplazmalı hücrelerdir; homojen kromatin paternine sahip, çekidekçik içermeyen, santral yerleşimli, küçük çekirdekleri vardır (9). Ultrastrüktürel olarak mezotel hücrelerinin en belirgin özelliği, denk uzunlukta mikrovilluslarının olmasıdır. Diğer organelleri nonspesifiktir.

Seröz zarlar, birbirleriyle devamlılık halinde olan iki yapraktan oluşur: Organları saran **visseral yaprak** ve bu tabakanın dış tarafında bulunan, boşluk duvarını örten **paryetal yaprak**. Normal şartlarda visseral ve paryetal yapraklar arasında, yaprakların birbirleri üzerinde kolayca hareket edebilmesini sağlayan, çok az miktarda sıvı içerecek kadar boşluk bulunur. Bu nedenle bunlar, **potansiyel boşluk** olarak değerlendirilir; **gerçek boşluk** olarak kabul edilmezler. Normal şartlarda bulunan bu az miktardaki (yaklaşık 7-16 ml) sıvı, paryetal ve visseral yaprakların birbirleri üzerinde kaymasını sağlayarak kalbin pompalama hareketine, akciğerlerin havayla dolup boşalmasına ve barsakların peristaltik hareketine olanak verir. Bu sıvı, bir glikozaminoglikan olan hyaluronik asitten zengindir (3, 8).

Patolojik süreçler sonucunda yapraklar arasında biriken hava, sıvı, kan gibi materyaller, yapraklar arasını açarak, gerçek boşluk haline gelmesine neden olurlar. Peritoneal boşlukta 15-20 litre, plevral boşlukta 3 litre ve perikardiyal boşlukta ise 0.6 litreye kadar sıvı toplanabilir (10).

Seröz boşluktaki sıvının miktarı, yapım ve geri emilim arasındaki dengeye bağlıdır. Yapımı etkileyen başlıca faktörler, kapillerlerdeki hidrostatik basınç, plazma onkotik basıncı ve kapillerlerin geçirgenliğidir. Oluşan sıvı, kapillerler, venüller ve lenfatikler aracılığıyla geri emilmektedir. Bu dengedeki herhangi bir bozukluk, seröz boşlukta sıvı birikmesine sebep olur (2, 3, 8).

2.2. SERÖZ EFÜZYON

2.2.1. TANIM

Seröz boşluklarda sıvı birikimine, **seröz efüzyon (SE)** adı verilir.

2.2.2. ETYOPATOGENEZ

Seröz zarların visseral ve paryetal yaprakları arasına biriken SE, daima patolojik bir sürece işaret eder. SE'lar, damar duvar geçirgenliğinin artması, vazodilatasyon, lenfatik drenajın bozulması, küçük çaplı kan damarlarında hasar ve mikrodolaşımdaki hemodinamik dengesizlik sonucunda oluşur (10).

Bu sorunlara yol açan nedenlere göre efüzyonlar, benign ve malign olmak üzere iki gruba ayrılırlar. En sık benign efüzyon nedenleri arasında enfeksiyonlar (bakteriyel, fungal, viral, parazitik, tüberküloz), konjestif kalp yetmezliği, pulmoner emboli, miyokard enfarktüsü, karaciğer sirozu, nefrotik sendrom, kollajen doku hastalıkları, pankreatit ve travma sayılabilir. Malign efüzyonların başlıca sebebi ise primer veya metastatik tümörlerdir (11).

2.2.3. SINIFLANDIRMA

SE'lar, klinik olarak, biyokimyasal özelliklerine ve biriktiği vücut boşluğuna göre sınıflandırılır.

2.2.3.1. BİOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNE GÖRE SINIFLANDIRMA

SE'lar, biyokimyasal özelliklerine göre **transuda** ve **eksuda** olmak üzere iki gruba ayrılır.

2.2.3.1.1. TRANSUDA

Transuda, genellikle berrak görünümde, özgül ağırlığı (specific gravity) düşük (<1.015), total protein değeri düşük (<3 g/100 ml), sıvı LDH / serum LDH oranı 0.6'dan küçük, hücreden fakir özelliktedir.

Transuda niteliğindeki SE'lar, damar içi onkotik ve hidrostatik basınçlardaki dengesizlikler nedeniyle sağlam damar duvarından serumun sızması sonucu oluşur. Belli başlı nedenleri, Tablo-1'de verilmiştir.

2.2.3.1.2. EKSUDA

Eksuda, genellikle bulanık, bazen kanamalı görünümde, özgül ağırlığı (specific gravity) yüksek (>1.015), total protein değeri yüksek (>3 g/100 ml), sıvı LDH / serum LDH oranı 0.6'dan büyük, hücreden zengin özelliktedir.

Eksuda niteliğindeki SE'lar, kapiller damar duvarı hasarı sonucu oluşur. Başlıca sebepler, Tablo-1'de sıralanmıştır (2, 3).

Tablo 1. En Sık Karşılaşılan Efüzyon Sebepleri

Transuda	Eksuda
Konjestif kalp yetmezliği	Maligniteler
Karaciğer sirozu	Bakteriyel, viral ve mantar enfeksiyonları
Nefrotik sendrom	Tüberküloz
Peritoneal dializ	Akciğer enfarktı
Hipotiroidizm	Pankreatit
Pulmoner emboli	Otoimmün hastalıklar
Bazı maligniteler	Asbestoz
	Bazı ilaçlar

2.2.3.2. VÜCUT BOŞLUĞUNA GÖRE SINIFLANDIRMA

SE'lar, anatomik olarak biriktiği vücut boşluğuna göre **plevral**, **peritoneal** ve **perikardiyal** efüzyon olmak üzere 3'e ayrılır.

2.2.3.2.1. PLEVRAL EFÜZYON

Plevral efüzyon, primer olarak toraks içinde gelişmekle birlikte, sağ diafragmatik lenfatik drenaj yolunu kullanarak peritoneal efüzyona ikincil olarak da ortaya çıkabilir.

Masif plevral efüzyonlar, genellikle malign karakterdedir. Malign plevral efüzyonu olan pek çok hastanın nefes darlığı, öksürük, göğüs ağrısı gibi şikayetleri mevcuttur. Çoğu malign plevral efüzyon olgusunda primer tümöral odak bilinmiyordur.

2.2.3.2.2. PERİTONEAL EFÜZYON

Peritoneal boşluğa biriken efüzyona “assit” de denilmektedir. “Assit” kelimesi, Yunanca kese demek olan “askos” kelimesinden türemiştir (12).

Assit materyali, çoğu zaman transuda niteliğindedir ve en sık nedeni, karaciğer sirozudur. Eksuda niteliğindeki assit, çoğunlukla peritoneal karsinomatozda ortaya çıkar.

2.2.3.2.3. PERİKARDİYAL EFÜZYON

Perikardiyal efüzyon, çoğu zaman, perikardiyal zar hasarı sonucu oluşan kapiller geçirgenlik artışı nedeniyle ortaya çıkar ve eksuda karakterindedir. Transuda karakterindeki perikardiyal efüzyonların en sık nedeni, konjestif kalp yetmezliğidir.

Çoğu perikardiyal efüzyon, hastada şikayet oluşturmaz; ancak efüzyon, hacim olarak belli bir eşik değeri geçtiğinde kalbin pompalama fonksiyonunu bozarak kardiyak tamponad tablosu oluşturur.

Malign perikardiyal efüzyonlar, genellikle plevral efüzyon ile ilişkilidir ve en sık nedenleri, akciğer ve meme karsinomu metastazlarıdır.

Diğer boşluklarda biriken efüzyonlardan farklı olarak perikardiyal efüzyondaki mezotel hücreleri, papiller yapıların da eşlik edebildiği oldukça atipik görünüme sahip olabilirler. Malignite açısından dikkatli incelemeyi gerektiren bu özelliğin, muhtemelen, kalbin pompalama hareketinin etkisiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Plevral, peritoneal ve perikardiyal efüzyonların ortaya çıkmasına yol açan en sık nedenler, Tablo-2’de özetlenmiştir (2, 3).

Tablo 2. Plevral, Peritoneal ve Perikardiyal Efüzyonların En Sık Karşılaşılan Sebepleri

	Transuda	Eksuda
Plevra	Konjestif kalp yetmezliği Akciğer embolisi Karaciğer sirozu	Maligniteler (akciğer, meme, lenfoma gibi) Bakteriyal ve viral enfeksiyonlar Akciğer embolisi
Periton	Karaciğer sirozu (en sık) Konjestif kalp yetmezliği Budd-Chiari sendromu Konstrüktif perikardit Malnütrisyon	Maligniteler Bazı enfeksiyonlar Pankreatit Nefrotik sendrom Pelvik inflamatuvar hastalık
Perikard	Konjestif kalp yetmezliği Üremi Koagülopati	Maligniteler Bazı enfeksiyonlar Konjestif kalp yetmezliği Travma Geçirilmiş kalp cerrahisi Otoimmün hastalıklar Bazı ilaçlar

2.2.4. SERÖZ EFÜZYON DEĞERLENDİRMESİNDE KULLANILAN TESTLER

2.2.4.1. SİTOLOJİ

Efüzyon sitolojisi, malign efüzyonların kesin tanısını sağlayan basit bir yöntemdir (konunun ayrıntıları, sonraki bölümde anlatılmaktadır).

2.2.4.2. DİĞER LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

Efüzyon materyallerinin tanısı için kullanılabilen çeşitli testler mevcuttur.

Protein içeriği, özgül ağırlık ve LDH düzeyi: Efüzyon sıvısının transuda mı, eksuda mı olduğunu belirlemek için yapılan testlerdir.

Glukoz oranı: Tüberküloz, romatoid hastalık, bakteriyel enfeksiyon ve parapnömonik nedenli efüzyonlarda glukoz oranı düşük (<60-80 mg/dl) bulunabilir. Malign SE'da nadir saptanan bir bulgudur.

Amilaz seviyesi: Akciğer adenokarsinomunda belirgin olmak üzere, pankreas ve over karsinomlarında, mezotelyomada SE'nun amilaz seviyesi yüksek bulunur. Pankreatit, tüberküloz ve siroz gibi benign hastalıklarda da artabilir.

pH: SE'da düşük pH (<7.2) değeri, romatoid efüzyon, tüberküloz, hemotoraks ve malignitelerle ilişkilidir. Malignitelere eşlik eden pH düşüklüğü, kötü prognoz göstergesi olarak bildirilmektedir.

Amonyak seviyesi: Amonyak varlığı, SE ve idrar ayrımında yardımcı olur; SE'da bulunmayan amonyak idrarda saptanır. Ancak barsak nekrozu veya perforasyonu geliştiğinde SE'da, amonyak seviyesi artabilir.

Alkalın fosfataz: SE'da alkalın fosfataz saptanması, ince barsak nekrozu veya perforasyonunu akla getirir.

Hyaluronik asit: SE'da yüksek hyaluronik asit seviyesi, mezotelyoma ile ilişkilidir; ancak diğer bazı malignitelerde; konjestif kalp yetmezliği, bazı enfeksiyonlar ve asbestoz gibi benign durumlarda da hyaluronik asit seviyesi yükselebilir.

Karsinoembriyonik antijen (13): CEA, çoğunlukla adenokarsinom ile ilişkilidir. Tüberküloz, siroz ve pankreatit gibi benign durumlarda da hafifçe yükselebilir.

Mikrobiyolojik kültür: SE'nun mikrobiyolojik kültürünün yapılması, enfeksiyonların kesin tanısı için en önemli laboratuvar yöntemidir.

İmmunositokimya: Malign hücrelerin tespiti ve orjininin belirlenmesinde yararlı olabilir.

Elektron mikroskopi: Adenokarsinom ile mezotelyomanın ayırıcı tanısında yardımcı olabilir.

Akım sitometrisi: Hematolojik malignitelerin tanısında çok önemli bir yere sahiptir.

Morfometri: SE’da morfometrik analiz, benign mezotel hücresi, mezotelyoma ve metastatik karsinom ayırıcı tanılarında yardımcı olabilir.

Sitogenetik: Sitolojik bulguları malignite açısından negatif olan fakat buna rağmen malignite şüphesi bulunan olgularda sitogenetik inceleme yardımcı olabilir. Ayrıca prognozu belirlemede de faydalıdır.

Moleküler analiz: Günümüz patoloji pratiğinin ayrılmaz bir parçasıdır. Moleküler analiz ile erken evrede tümör tanısını koymak, tümör progresyonu tespit etmek ve tedaviyi şekillendirecek mutasyon analizlerini yapmak mümkündür.

2.2.5. SERÖZ EFÜZYONLARDA SİTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

2.2.5.1. TARİHÇE

SE, mikroskop altında incelenen ilk insan örnekleri arasındadır. 1845 yılında, bir efüzyon sıvısında malign hücreleri ilk raporlayan kişi Hermann Lebert’tir (3). 1849 yılında John Hughes Bennett, over kanserli genç bir kadının assit sıvısında, mikroskopik olarak, çok küçük cisimciklerin (corpuscles) varlığını rapor etmiştir (14, 15). Heinrich Quincke 1875 yılında plevral ve abdominal efüzyon sıvı yaymalarında karsinom hücrelerini rapor etti. 1882 yılında ise sitokimyasal boyaların da geliştirilmesine katkıda bulunan Paul Erlich, plevral efüzyonda maligniteyi tanımlamıştır (3).

2.2.5.2. MAKROSKOPİK GÖRÜNÜM

SE’lar hücrel ve kimyasal içeriklerine göre, çok farklı görünümde olabilirler (8). SE’nun renk, berraklık, kan içeriği gibi çıplak gözle gözlenebilen fiziksel özellikleri, SE etyolojisinin ayırıcı tanısına yardımcı olabilir (3). Ayrıca bu değerlendirme, sübjektif olsa da, sitolojik bulguları makroskopik bulgularla ilişkilendirmeye olanak sağladığı için yararlı bir uygulamadır (8).

Materyalin rengi, SE'nun niteliği ve etyolojisi gibi konular hakkında ön fikir verebilir: Açık sarı SE'lar, genellikle transuda niteliğindedir. Kahverengi SE'lar, hemosiderinden zengin içeriği veya amebik abse rüptürünü gösterir. Siyah SE'lar, melanom metastazını veya *Aspergillus niger* sporlarını düşündürür. Yeşil SE'lar, safra içeriğini gösterebilir. İnflamatuvar olaylarla ilişkili SE'lar, genellikle bulanıktır (3). Süt beyazı renğinde SE'lar, lenfoma yayılımı gibi hücreden zengin bir efüzyonu veya zengin lipid içeriğini gösterir. Eğer süt beyazı renğinde olan SE, santrifüj sonrası berraklaşırsa hücreden zengin olduğu (psödoşilöz); rengi değişmezse zengin lipid içeriğine sahip olduğu düşünülür (Resim 4) (3).

Kanlı SE'lar, malignite açısından şüpheli kabul edilmekle birlikte bunların yalnızca %46'sının malign hücre içerdiği bildirilmektedir (1, 16).

2.2.5.3. KOKU

SE'nun kokusu iki tanının verilmesinde yardımcı olabilir. Bunlardan ilki, çürümüş gibi kötü koku, SE'da anaerobik enfeksiyonun olduğunu gösterir. Diğeri ise keskin bir idrar kokusu alınmasıdır ki bu, SE'na idrar karıştığını gösterir; SE'da kreatinin değerinin yüksek olması, durumun kanıtıdır.

2.2.5.4. YOĞUN KIVAM

Malign SE'lar, genellikle hücreden zengin eksuda karakterinde olduklarından benign SE'lara kıyasla daha yoğun kıvamdadır. Bal gibi aşırı yoğun kıvama sahip SE'lar, yüksek müsin içeriğini ya da mezotelyomada görülen yüksek hyaluronik asit içeriğini akla getirir.

2.2.5.5. SİTOPATOLOJİK İNCELEMENİN AMACI

Sitopatolojik incelemenin temel amacı, eğer varsa, SE'da malign hücre içeriğini tespit etmektir. Bu tespit, hasta için çok önemli bir bulgudur; çünkü hastalığının oldukça ilerlediğinin ya da hastanın hastalığın son dönemine girdiğinin bir göstergesidir ve kötü prognoz ile ilişkilidir (1, 17).

SE değerlendirmesinde sitopatoloğun 2 temel sorumluluğu vardır:

- Malign hücreleri tespit etmek
- Tespit edilen malign hücrelerin tipini ve eğer mümkün olursa, primer kaynağını ortaya koymak (4).

2.2.5.6. SİTOPATOLOJİK İNCELEMENİN ZORLUKLARI

SE'nun sitopatolojik değerlendirmesi, birtakım tanısal zorluklar içermektedir. Efüzyon sebebinin benign ya da malign olup olmadığı sorusu, bu zorlukların en önemlisidir (18). Karsinom metastazları, en sık saptanan SE nedenleri arasındadır ve ilerlemiş kanserlerin ilk bulgusu, SE olabilmektedir (2).

Efüzyon sitolojisinin özgüllüğü, %95'in üzerinde bildirilmektedir. Yanlış pozitif sonuçların en sık nedeni, atipik mezotel hiperplazisine sebep olan durumlardır. Bu nedenle, klinik bilgi olmadığında bir olguya malignite tanısı verirken çok dikkatli olmak gerekir.

Vücut boşluğunda metastatik karsinom tanısı atlanan bir hasta, tedavi edilebilir hastalığı varken yanlış tanı aldığı için etkin tedaviden mahrum kalabilir (4).

Malign SE'larda, genellikle tümör hücrelerine eşlik eden ciddi inflamatuvar reaksiyon bulunmaz; böyle bir durum, öncelikle, inflamatuvar bir olayı akla getirir. Ancak bazen malignitelere de şiddetli inflamatuvar reaksiyon eşlik edebilmektedir. Bundan dolayı, ciddi inflamatuvar yanıt içeren SE'larda da, malignite açısından dikkatli bir inceleme gerekir (4).

Genel bir kural olarak, tanı hatalarından korunmak için olguya ait doğru ve yeterli klinik bilginin elde edilmesi ve SE'nun transuda mı, eksuda mı olduğunun tespiti önemlidir. Hücre morfolojisinin iyi seçilemediği, hücrelerin çekirdek/sitoplazma oranı korunduğu, çekirdekte yapısal düzensizliğin olmadığı, akut veya kronik inflamasyonun eşlik ettiği durumlarda olguya kanser tanısı verirken çok dikkatli olmak gerekir (4).

Bu nedenlerden ötürü patolog ve sitopatologlar, SE sitopatolojisindeki tanı zorluklarını ve tanı tuzaklarını iyi bilmelidirler (2).

2.2.5.7. SERÖZ EFÜZYON SİTOLOJİSİNDE TEKNİĞİN ÖNEMİ

SE'nun sitopatolojik değerlendirmesinde, iyi belirlenmiş ilkeler mevcuttur. Seröz boşluktan değerlendirmeye olanak veren, tanı koyduracak, iyi korunmuş hücrelerin elde edilebilmesi, en zorlu problemlerden biridir. Bu zorlukların aşılması, sıvının elde edilmesinden, boyalı hazır preparat haline gelene kadar her basamağın doğru işlemesine bağlıdır.

Bu tanısal zorlukları azaltacak yegane tek bir yöntem yoktur. Her klinik ve laboratuvar kendine uygun olan tekniği ve yöntemi belirler; tutarlı bir şekilde uygulamaya çalışır (19).

Genelde, iyi fikse edilmiş ve iyi hazırlanmış materyal, laboratuvarında çok fazla işleme gerek kalmadan kolayca değerlendirilebilir ve yanlış tanı verme olasılığı azalır (4).

Kalın yayılmış, koyu boyanmış, teknik olarak yetersiz yayma preparatlar ve uygunsuz hazırlanmış hücre blokları, tanı hatalarına neden olan başlıca etmenlerdir (4).

2.2.5.8. MATERYAL TOPLANMASI VE GÖNDERİLMESİ

SE aspirasyonu genellikle ultrasonografi (20) altında lokal anestezi uygulanarak yapılan bir işlemdir (8). Biriktiği seröz boşluğa göre aspirasyon işlemi farklı isimler alır. Plevral boşluk için **torasentez**, perikardiyal boşluk için **perikardiyosentez**, peritoneal boşluk için ise **parasentez** adı verilir (3, 8).

SE'lar, günlük sitopatoloji yükünün önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Görece kolay elde edilmesinin aksine SE'ların sitopatolojik değerlendirmesi karmaşıktır ve materyalin elde edilmesinden kalıcı raporun yazımına kadar olan adımların usulüne uygun olarak takip edilmesini gerektirir. Verilecek tanının kalitesinin en üst düzeyde olabilmesi için bu basamaklarda yer alacak personelin - klinisyen, hemşire, sitotekniker, patolog gibi - materyalin elde edilmesi, toplanması, gönderimi ve işlenmesi aşamalarına aşina olması gerekir (2). Klinisyenin eğitimi başta olmak üzere, bu basamakları kısa ve öz bilgiler vererek anlatan bir form oluşturmak, rutin işleyişin sağlıklı yürümesi açısından yararlı olmaktadır. Edinilen tecrübeler göstermiştir ki, klinisyenlerin en doğru olanı bildiklerini varsayması, pek akıllıca gözükmemektedir (5).

Sitopatolojik analiz için en az 30-50 ml sıvı gereklidir (21). Çok fazla miktarda sıvı göndermek çalışma için pratik olmamakla birlikte, tanı özgüllüğünü de arttırmamaktadır (22).

Temiz, kuru bir kapta toplanan SE, herhangi bir fiksatif eklenmeden taze şekilde, vakit kaybetmeden sitoloji laboratuvarına gönderilmelidir. SE toplamak ve göndermek için, ml başına 3 IU heparin ile önceden muamele edilmiş kaplar kullanılabilir. SE'nun antikoagulan madde ile muamele edilmiş kaplarda gönderilmesinin tercihi, merkezden merkeze değişiklik gösterebilmektedir (2, 5, 8, 23). Materyali hemen göndermek mümkün değilse veya materyal hemen çalışılmayacaksa buzdolabında +4 °C'de saklanabilir (5, 8, 23). SE, oldukça dayanıklı bir materyaldir; hücre morfolojisi ve antijenitesi bozulmaya uğramadan 14 güne kadar buzdolabında +4 °C'de saklanabilir (24).

2.2.5.9. PREPARAT HAZIRLAMADA KULLANILAN BAŞLICA TEKNİKLER

2.2.5.9.1. KONVANSİYONEL SİTOLOJİ

Efüzyon sıvılarının sitolojik incelemesi için yayma preparatlar hazırlanır. Konvansiyonel yöntemle preparat hazırlarken hacmi azaltmak ve hücre yoğunluğunu arttırmak için sıvı, santrifüj edilir. Dipte oluşan çökeltiden alınan bir-iki damla örnek, direkt olarak lamlara yayılır. Lamalar, %95'lik etil alkole daldırılarak hemen fikse edilir (5).

2.2.5.9.2. KONVANSİYONEL BOYALAR

Yayılmış olan preparatın mikroskopik olarak incelenebilmesi için boyanması gerekmektedir. Günümüzde çok farklı boyama tekniği bulunmakla birlikte günlük sitoloji pratiğinde, sitomorfolojik açıdan birbirlerini tamamlayan başlıca iki boyama yöntemi kullanılmaktadır. Bunlardan biri, havada kurutulmuş preparatlara uygulanan Romanowski boyama yöntemi, diğeri ise uygun fiksatif ile fikse edilmiş preparatlara uygulanan Papanicolaou (PAP) boyama yöntemidir (5).

Sitopatoloji pratiğinde mümkün olan her materyale, her iki boyama yönteminin de uygulanması tavsiye edilmektedir. Böylece iki boya yönteminin birbirini tamamlayıcı özellikleri, daha doğru değerlendirmeyi mümkün kılmaktadır (25).

2.2.5.9.3. PAPANİCOLAOU BOYA YÖNTEMİ

Yirminci yüzyılın ortalarında G.N. Papanicolaou tarafından tanımlanan ve sonrasında yöntemsel iyileştirmeler yapılan PAP boyama yöntemi, başlıca vaginal, servikal ve endometrial sitoloji rutininde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (5).

PAP boyama yöntemi, polikromatik bir boyama tekniği olup Harris hematoksilin, Orange G ve EA (eozin azure) boyalarını kapsar.

Hematoksilin, çekirdek boyası olup kromatin ile çekirdek zarını mavi-mora, çekirdekçiği ise kırmızı, pembe ya da portakal rengine boyar.

Orange G, sitoplazmaya iyi nüfuz eden bir boyadır; sitoplazmayı sarı ya da portakal rengine boyar.

EA ise Eosin-Y, Light Green ve Bismarck kahverengisinden oluşan çoklu boya karışımıdır. Eosin-Y, asidofilik sitoplazmalı hücreleri pembeden sarıya farklı tonlarda boyar. Light Green, bazofilik sitoplazmalı hücreleri soluk mavi ya da yeşilimsi boyar. Bismarck kahverengisi ise glikojen ve keratohyalin granüllerde pozitif boyanma gösterir (5, 26).

Bu boyama yöntemi, sitomorfolojik açıdan başlıca 3 avantaj sunar:

- Çekirdek detayını çok iyi göstermesi
- Sitoplazmik şeffaflık sağlaması
- Hücre matürasyon evresine göre hücre sitoplazmalarının farklı boyanması (5).

Günümüzde laboratuvarlar tarafından ticari olarak elde edilebilen PAP boyası, istenirse, laboratuvar koşullarında da hazırlanabilir. PAP boyasının uygulama tekniği laboratuvarı laboratuvara çok fazla değişiklik göstermektedir (1).

2.2.5.9.4. ROMANOWSKY BOYALARI

Romanowsky boyaları, birbirlerinden çok küçük farklar içeren Giemsa, Wright, Diff-Quick (Field), Jenner ve Leishman boyalarından oluşur (2).

PAP boyasının aksine Romanowsky boyaları, çekirdek boyutunu, sitoplazmik detayı, zemin elemanlarını ve ekstrasellüler materyalleri daha iyi gösterir (5).

Romanowsky boyalarında havada kurumaya bağlı olarak bir takım morfolojik değişiklikler oluşur. Hücre ve çekirdek boyutu normalden daha büyük gözüktür. Sitoplazmik pigment, vakuol ve granülleri çok iyi gösterir. Çekirdek kromatini daha yoğun ve dolayısıyla daha koyu görünür. Sitoplazmik detayı iyi gösteren Romanowsky boyalarının sitoplazmik keratinizasyonu yansıtmama gücü, PAP boyasına göre oldukça zayıftır. Çekirdek detaylarını PAP boyası kadar iyi göstermez; ancak hücre ve çekirdek boyut farklılıklarını daha iyi ortaya koyar. Kalın düşmüş 3 boyutlu grupların bulunduğu ve nekrozun eşlik ettiği preparatlarda, boyanmanın bu alanlarda istenilen düzeyde olmamasından dolayı, çoğu zaman değerlendirme mümkün olmaz (25).

2.2.5.9.5. TOLUIDİN MAVİSİYLE BOYANAN WET FİLM YÖNTEMİ

Toluidin mavisiyle boyanan wet film, hazırlaması kolay olan ve hızlı tanı vermek için kullanılabilen bir boyama yöntemidir (1). Wet film preparatlarda fiksasyon etkisi olmaksızın hücreler, yaşam alanlarında nasıl görünüyorsa o şekilde gözlenebilir (27).

Wet film uygulamasının faydaları şu şekilde sıralanabilir:

- SE materyalinin pek çoğuna 10-15 dakika gibi kısa bir sürede tanısal değerlendirme olanağı sağlar.

- Kalıcı yayma preparatlarda seçilemeyen kolesterol, Charcot–Leyden ve hematoidin kristalleri gibi yapıların daha iyi görülmesine olanak verir. Keza bu yapılar, Romanowsky boyalı preparatlarda da görülebilmektedir.
- Wet film uygulaması, kalıcı yayma preparat ve hücre bloğu hazırlanmasından önceki aşamada, materyalinin hücreliliği, hücrelerin niteliği, ekstrasellüler materyal içeriği gibi SE özelliklerini hızlı değerlendirmeye olanak verir; böylece en doğru sitoloji preparatı ve hücre bloğu hazırlama yönteminin tercih edilmesine katkıda bulunur (2).
- Wet film preparatlarda, hücrelerin iyi korunmuş sitoplazmik ve çekirdek özelliklerini gözlemek, sitoplazmik vakuollerini korumasından dolayı makrofajları tespit etmek ve mezotel hücrelerinden ayırmak daha kolaydır.
- Malign ve benign hücre gruplarının birbirlerinden farklılığı, wet film preparatlarda daha belirgindir (Resim 6A ve B). Bu özellik, sıvıların malign hücre içerip içermediğine karar vermede oldukça yardımcıdır (27).

2.2.5.9.6. HÜCRE BLOĞU

Sıvılardan hücre bloğu oluşturma tekniği, mikroskopik değerlendirme için materyal hazırlama metotları arasında en eski olanlarından (28). Hücre bloğu, hematoksilin&eozen, sitokimyasal ve immunositokimyasal boyamalar yapabilmek için çoklu kesit alma olanağı sağlamasının yanında hücrelerin morfolojisi ve böylece metastatik tümör hücrelerinin kökeni hakkında bilgi edinilmesine olanak verir. Bu nedenlerden ötürü her sitolojik materyalden hücre bloğu oluşturulması şiddetle tavsiye edilmektedir (4). Sıvı materyallerin % 5'inde, malign hücrelerin sitoloji preparatlarına ek olarak oluşturulan hücre bloğu kesitlerinde saptandığı bildirilmektedir (29).

Bir hücre bloğunun aşağıda sayılan temel morfolojik beklentileri karşılaması amaçlanır:

- PAP boyalı preparatlarda görülen kalitede hücrelere benzer hücreler içermelidir.
- Çekirdek ve sitoplazmik detaylar uygun berraklık ve netlikte olmalıdır.
- Serbest hücreler, hücre kümeleri ve mikroskopik doku fragmanları kolayca seçilebilmelidir.
- Yöntem basit, tekrar edilebilir ve laboratuvar rutinine uyumu kolay olmalıdır (30, 31).

2.2.5.9.7. SIVI BAZLI SİTOLOJİ

Sitolojide preparat hazırlama işlemi, sitomorfolojinin temelini oluşturur. Havada kuruma artefaktı gösteren, kalın yayılmış veya buna benzer nedenlerle sitomorfolojisi kötü etkilenmiş ve bundan dolayı tanı koymakta çok güçlük çekilen preparatlarda, bu sözün haklılığı kanıtlanmaktadır (32).

Sıvı bazlı sitoloji terimi, toplanan sitolojik materyali koruyucu solüsyona mümkün olduğunca çabuk aktarmaya dayanan sitoloji yayma tekniğini tanımlar (8).

SBS yönteminin hem jinekolojik, hem de jinekoloji dışı sitoloji materyallerinde kullanımı giderek artmaktadır. Halihazırda kullanımda olan FDA onaylı ThinPrep® (CytycCorp, Marlborough, MA) ve SurePath® (TriPath Imaging Inc., Burlington, NC) olmak üzere 2 adet SBS teknolojisi bulunmaktadır. SBS yönteminde hücreler, otomatik çalışan aletler yardımıyla koruyucu solüsyon içinde karıştırılır ve işlenir (6).

On yıldır kullanılmasına rağmen, SBS yöntemiyle morfolojik değerlendirme, fiksasyon ve işlem tekniğinden kaynaklanan bir takım değişiklikler ve artefaktların eşlik etmesinden dolayı tanısal zorluklar içermektedir. Ekstrasellüler materyalden ve inflamatuvar hücreden arınmış daha temiz zemin, kohezyon yeteneği azalmış ve iyi seçilen çekirdek özellikleriyle beraber daha küçülmüş hücreler, daha az 3 boyutlu ve papiller yapı içeren kümeler, SBS yöntemiyle ilişkili morfolojik değişimlerdir (6).

SBS'nin başlıca avantajları aşağıda sıralanmıştır:

- Hücre morfolojisini iyileştirmesi
- Tanısal olan hücre kümelerini ortaya çıkarması
- Hücre yoğunluğunun kontrol edilebilmesi
- Çekirdek detaylarının daha iyi seçilebilmesi
- Hücreden fakir yayma sayısının azalması
- Havada kuruma artefaktının oluşmaması
- Hücrelerin doğrudan koruyucu sıvı içine aktarılması ve böylece optimum fiksasyon sağlanması
- Örneklerin oda sıcaklığında, koruyucu solüsyon içinde, 3 haftadan uzun bir süre bozulmadan saklanabilmesi; böylece yayma yapıldıktan sonraki günlerde ek

yayma preparat hazırlanmasına ve immunositokimya gibi yardımcı tekniklerin çalışılmasına olanak vermesi

- Hücrelerin üst üste binmemiş, ince bir tabaka hâlinde yayılmış olmaları
- Lam üzerinde küçük bir alanda yayma oluşturma; böylece tarama alanının küçülmesi ve zamanının kısalması
- Yaymalarda mukus, protein ve kan içeriğinin azalması (7, 26, 33).

SBS'nin başlıca dezavantajları şunlardır:

- Pahalı bir yöntem olması
- Ek personele gereksinim oluşturmaları
- Laboratuvarı ilave bir cihazın varlığı nedeniyle yer kaplaması
- İlave zaman gerektirmesi (34).

2.2.5.9.7.1. THİNPREP SIVI BAZLI SİTOLOJİ YÖNTEMİ

TP cihazı, her geçen yıl popülerlik kazanan ince tabaka yayma yapan bir cihazdır. Bu cihaz, alkol bazlı koruyucu sıvıda toplanmış hücrelerden sitoloji preparatı hazırlamak için tasarlanmıştır (7).

TP 2000 cihazı (Resim 5), hücreleri sıvı içinde dağıtmak, toplamak ve lam üzerine aktarmak için mekanik, havalı ve akışkan ilkeleri kullanır (7). Havalı/akışkan sistem, bir mikroişlemci tarafından kontrol edilir (35).

Hücre süspansiyonu ilk önce koruyucu sıvı içinde nazikçe dağıtılır, hücrelerin homojenize olmaları sağlanır. Daha sonra hücreler polikarbonat filtre üzerine otomatik olarak toplanır ve lam üzerindeki 20 mm çapta dairesel alana aktarılır. Bu hazırlanan preparat boyama işlemine başlamadan önce vakit kaybetmeden %95'lik alkol fiksasyonuna alınır (7).

Hücrelerin doğal yapışma kabiliyeti ve TP filtresinin kalitesi gibi elektrokimyasal ilkeler sayesinde, hücreler lam üzerine aktarılır (35).

2.2.5.9.7.2. SUREPATH SIVI BAZLI SİTOLOJİ YÖNTEMİ

SP-SBS yöntemi, santrifüj tekniğine dayalı bir yöntemdir. SP yöntemiyle preparat hazırlama, üç aşamada gerçekleşir. Bu aşamalar şunlardır:

- Dansite gradyanı ve hücre sedimenti elde etme

- Sedimentten yayma hazırlanması
- Hazırlanan sitolojik yayma preparatın boyanması (5).

2.2.6. BENİGN SERÖZ EFÜZYONUN HÜCRESEL ELEMANLARI

Benign SE'nun ana hücresel elemanları, mezotel hücreleri, makrofajlar (histiositler) ve kan elemanlarıdır.

2.2.6.1. MEZOTEL HÜCRELERİ

Mezotel hücreleri, genellikle 15-30 µm çapında, bir nötrofilin yaklaşık 1.5-2 katı büyüklüğündedir. Tek tek hücreler veya küçük gruplar şeklinde bulunabilirler (Resim 7A). Bu grupların oluşturduğu dış kenar, genellikle lobüllü olup (Resim 7B) nadiren düzgün, ortak sınır şeklinde olur (1, 2).

Mezotel hücrelerinin sitoplazması, PAP boyalı preparatlarda, çekirdek çevresindeki intermediyer filamanlar nedeniyle daha yoğun olan, görece daha koyu boyanan, daha geniş endoplazma ve bunu çevreleyen, mikrovilluslar ile ilişkili, açık boyanan, daha dar ektoplazma olmak üzere iki farklı bölümden oluşur (Resim 8B). Romanowsky boyalı preparatlarda ise PAP boyasındakinin tersine endoplazma açık, bunu çevreleyen ektoplazma ise koyu boyanma gösterir. Mezotel hücrelerinin bu iki farklı tonda boyanma özelliği, Romanowsky boyalı preparatlarda daha dikkat çekicidir. Mezotel hücreleri yuvarlak hatlı olup sınırları düzgündür; ancak yüzeylerinde “bleb”ler olduğunda girintili çıkıntılı şekil alırlar (Resim 8A) (2). Sitoplazmaları vakuol içerebilir; vakuoller, genellikle küçük olup hücre zarına yakın yerleşme eğilimindedirler.

Mezotel hücrelerinde çekirdek detayı PAP boyasında daha iyi seçilir; çekirdek, genellikle merkezi veya merkeze yakın yerleşimlidir; ancak nadiren ekzantrik yerleşimli de olabilir. Çoğunlukla tek, bazen çift olabilen çekirdek iri, genellikle hücrenin yarısını kaplayacak büyüklüktedir; sınırları düzenli, kromatini açık, oval ya da yuvarlak şekillidir. Çekirdekçik tek olup genellikle, belli belirsizdir (Resim 8B). Normal mitotik figürler görülebilir (Resim 14A ve B).

Mezotel hücreleri için karakteristik olan ancak özgün olmayan birtakım özel görünümeler mevcuttur. Bu görünümeler, histiositler gibi benign hücrelerde görülebildiği gibi malign hücreler de bu görünümeleri sergileyebilirler. Mezotel hücreleri, SE içinde ikili veya bazen de çoklu gruplar oluşturduklarında yüzeylerindeki mikrovilluslar nedeniyle

sitoplazmaları tam birleşme gösteremez. Bundan dolayı birbirine bitişik duran mezotel hücrelerinin sitoplazmaları arasında berrak bir boşluk varmış gibi bir görünüm ortaya çıkar. Bu görünüme, “mezotelyal pencere” veya “mezotelyal yarık” adı verilir (Resim 7C ve 9). Diğer bir görünüm ise mezotel hücresinin sitoplazmik kolları ile bir diğer mezotel hücresini tamamen sarıp yutmuş gibi bir görüntü verdiği, “kucaklama” veya “hücre içinde hücre” adı verilen durumdur. Bu özel görünüm, belli belirsiz olabileceği gibi yaygın şekilde de görülebirlirler (2).

2.2.6.1.1. REAKTİF/ATİPİK MEZOTEL HÜCRELERİ

Mezotel hücreleri, insan vücudundaki en değişken ve morfolojik çeşitliliği en fazla olan hücrelerdir (2).

Mezotel hücreleri, SE içinde daima reaktif değişiklik gösterir. Reaktif mezotel hücre değişikliği birçok benign veya neoplastik nedenden ötürü meydana gelebilir ve bunlar, yanlışlıkla, malign tümör hücresi olarak yorumlanabilirler. Reaktif mezotel hücresi ile malign tümör hücresi arasındaki ayırıcı tanı, SE sitolojisindeki tanısal zorluğun esasını oluşturur (3).

SE, besin maddeleri ve oksijenden zengin bir ortam sağlar. Bunun yanı sıra vücut sıcaklığı ve pH, onu iyi bir hücre kültür ortamı yapar. Benign veya malign hücreler, SE içinde sadece yaşamayı sürdürmekle kalmaz aynı zamanda bölünüp proliferasyon de olurlar. Bu olgu, benign ve malign hücre ayrımını güçleştiren bir durumdur (3).

Reaktif mezotel hücreleri, normal mezotel hücrelerine göre bir takım morfolojik farklılıklar gösterir. Bunlar daha büyük çekirdekli, çekirdek şekli değişken, sıklıkla çift veya çok çekirdekli olabilen, kromatini daha yoğun, çekirdekçiği, genellikle belirgin ve birden fazla; sitoplazması dar olan ya da taşlı yüzük benzeri vakuol içerebilen (Resim 10); papilla benzeri gruplar oluşturabilen hücrelerdir (Resim 7B).

Bu sitomorfolojik özellikler, bazı SE’larda oldukça belirgin olabilmekte ve malign hücreleri taklit edebilmektedir. Bu hücreler büyük, hiperkromatik çekirdekli, kaba kromatinli, çekirdek/sitoplazma oranı artmış, belirgin büyük çekirdekçikli; sınırları lobüllü geniş gruplar oluşturan; yaygın morfolojik çeşitlilik gösteren hücrelerdir. Bu hücrelere **atipik mezotelyal hücreler** de denilmektedir (Resim 11A, B ve C).

Mezotel hücrelerinin atipik morfolojide görebildiği SE sebepleri arasında karaciğer sirozu, pulmoner enfarktüs, konjestif kalp yetmezliği, kollajen damar hastalıkları, böbrek yetmezliği, pankreatit, kemo/radyoterapi etkisi sayılabilir.

SE’da reaktif mezotel hücreleri, genellikle tek tek veya küçük gruplar şeklinde görülür (3). SE’de reaktif mezotel hücrelerinin geniş gruplar halinde görülmesi, tanı hatasına sebep olan en önemli nedenlerden biridir. Konjestif kalp yetmezliği, iskemik durumlar, travma, büyük retroperitoneal kitle, operasyonu takiben oluşan SE’larda mezotel hücreleri geniş gruplar halinde görülebilirler. Bu geniş gruplar, neoplastik hücre gruplarını taklit edebilir. Mezotel hücreleri arasında karakteristik “pencere” görünümü izlenen mozaik benzeri geniş grup yapıları ve özgün olmasa da, grupların dış sınırlarının lobüllü olması, ayırıcı tanıda benign mezotel hücre grupları lehine bulgular olarak değerlendirilebilir (2). Ayırıcı tanıya yardımcı diğer bir yöntem, preparatta serbest halde tek tek duran, morfolojik ayrıntıları iyi seçilen mezotel hücreleri ile kıyaslamaktır. Sitomorfolojik bulgulara ek olarak, doğru ve yeterli klinik bilgiyle birlikte değerlendirme yapmak, tanı hatalarını azaltmaktadır (4).

2.2.6.2. MAKROFAJLAR (HİSTİOSİTLER)

Makrofajlar, kandan dokuya geçmiş monositlerin transforme olmuş halidir. Belirgin boyut farklılığı gösterebilen bu hücreler, çoğunlukla mezotel hücrelerine yakın büyüklükte dirler (Resim 12C). Genellikle dağınık, tek tek durma eğilimindeki bu hücrelerinin sınırları belirgin olabilir; fakat çoğunlukla belirsizdir. Karakteristik olarak böbrek veya fasulye biçiminde, açık kromatine sahip, çentikli çekirdekleri ve belli belirsiz çekirdekçikleri vardır. Genellikle sitoplazmada vakuol bulunması nedeniyle, çekirdek sitoplazmik zara yakın (ekzantrik) durma eğilimindedir.

Makrofajlar lizozomal ve fagositik aktivite gösteren hücrelerdir. Bu nedenle sitoplazmalarında pigment, organik veya inorganik maddeler, fagosit edilmiş hücreler bulunabilir. Bu özellikleri, mezotel hücrelerinden ayrımlarında yararlı olabilir; ancak bazen mezotel hücrelerinin de fagositik olabildiği bilinmektedir (4).

Makrofajlar tüm efüzyon materyallerinde bulunabilmekle birlikte romatolojik efüzyonlarda, *Legionella micdadei* gibi bakteriyel enfeksiyonlarda, granümatöz inflamasyon ile seyreden durumlarda, radyoterapi sonrası efüzyon örneklemesinde baskın hücre olarak görülebilirler (Resim 12C) (4).

2.2.6.3. KAN ELEMANLARI

SE’da görülebilen diğer bir hücre grubu, hematopoetik hücrelerdir. Periferik kandan kontamine olabilen bu hücreler, esas olarak, etyolojik nedene bağlı olarak SE’da bulunurlar.

2.2.6.3.1. ERİTROSİTLER

Çok az da olsa bir miktar eritrosit, genellikle her SE materyalinde bulunur. Bazen çok bol da olabilirler. SE’da eritrosit bulunması, çoğu zaman materyal alımı sırasında oluşan minör travma sonucunda olduğundan önemsenecek bir bulgu değildir; ancak bazen kanama patolojik nedenden ötürü olmuş olabilir.

Hemorajik SE, benign veya malign olabilir. Eritrofagositoz patolojik bir kanamaya işaret eder ve farklı hastalıklarda (örneğin böbrek dializ hastalarında, Chediak-Higashi sendromunda, hemolitik anemide, malignitelerde) görülebilir.

2.2.6.3.2. NÖTROFİLLER

SE’da bir miktar nötrofil, genellikle bulunur; ancak fazla miktarda olması (pürülan efüzyon) inflamatuvar bir sürece işaret eder (Resim 12A). Pürülan efüzyon nedenleri arasında pankreatit, peptik ülser, bazı enfeksiyon hastalıkları ve kanserler sayılabilir.

Enfeksiyöz olmayan SE’larda, nötrofiller, genellikle iyi korunmuş ve mezotel hücreleri çok sayıda iken enfeksiyöz nedeni SE’larda nötrofiller, genellikle dejenere ve mezotel hücreleri az sayıdadır. Malign SE’larda, ikincil bir enfeksiyon gelişimi yoksa nötrofil miktarı belirgin değildir.

2.2.6.3.3. LENFOSİTLER

Lenfositler, hemen hemen her zaman SE’da mevcuttur ve genellikle özgün olmayan bir bulgudur (Resim 12B). Konjestif kalp yetmezliği, metastatik tümörler gibi uzun süreli SE oluşturan durumlarda bol lenfosit bulunur. Mezotel hücrelerinin çok az ancak lenfositlerin çok sayıda olduğu SE, tipik olarak tüberküloz efüzyonunu akla getirir. Yalnızca bol miktarda lenfosit olması, şilöz efüzyonda ve lösemi/lenfoma yayılımında görülebilir.

SE’daki benign lenfositik reaksiyon, küçük, matür lenfositlerden çekirdekçiği belirgin, açık kromatinli immatür lenfoid hücrelere kadar farklı matürasyonlarda lenfositik hücrelerin görülmesi ile karakterizedir; genellikle T hücreleri hakimdir. B hücre üstünlüğü, lenfoma olma olasılığını akla getirir.

2.2.6.3.4. EOZİNOFİLLER

Eozinofiller, bilobe çekirdekli, belirgin parlak, kırmızı, sitoplazmik granüller içeren hücrelerdir (Resim 12D). Eozinofilik efüzyon, SE'da lökosit oranının yüzde 10 ve daha fazlasının eozinofillerden oluşması ile tanımlanır. Eozinofilik efüzyon daha çok plevral boşlukta görülür; diğer seröz boşluklarda daha nadirdir.

Eozinofilik efüzyon, özgün bir bulgu değildir. Mekanik zarar, hipersensitivite durumu, enfeksiyonlar, özellikle parazitik enfeksiyonlar, başlıca sebepleri arasındadır.

Çoğunlukla benign efüzyon niteliğinde olduğundan seyri de iyidir. Ancak eozinofilik SE'ların %5-10'unda malignite saptanır (3).

2.2.6.3.5. PLAZMA HÜCRELERİ

Plazma hücreleri, lenfositlerden daha büyük, ekzantrik çekirdekli, kaba, kendine has kromatin yapısına sahip hücrelerdir. Bazen sitoplazmalarında Russel cisimciği adı verilen immunoglobulin içeren eozinofilik granüller gözlenebilir (17).

Plazma hücreleri, romatoid hastalıklar, tüberküloz, lenfoma, karsinomlar, multipl myelom gibi kronik inflamasyonun eşlik ettiği benign ve malign hastalıklarla ilişkili SE'larda görülebilir.

2.2.6.3.6. BAZOFİL VE MAST HÜCRELERİ

Bazofil ve mast hücreleri, sitoplazmalarında pembe-kırmızı kaba granüller bulunan, mezotel hücrelerinden küçük, yuvarlak hücrelerdir.

Her iki hücre de kemik iliğinden köken almakta olup mast hücreleri dokuda, bazofiller ise genellikle kanda, inflamasyon durumunda dokuda bulunur. SE'da nadiren bulunurlar. Romanowsky bazlı boyalarda PAP boyasına göre daha rahat seçilirler.

Mast hücreleri bazofillerden bir miktar daha büyük, yuvarlak veya oval çekirdekli hücrelerdir. Bazofiller, mast hücrelerinden farklı olarak bilobe çekirdekli, granülleri mast hücrelerine göre daha büyüktür (1, 3).

2.2.6.4. SERÖZ EFÜZYONDA GÖRÜLEBİLEN HÜCRESEL OLMAYAN ELEMANLAR

2.2.6.4.1. PSAMMOMA CİSİMCİĞİ

Psammoma cisimciği, konsantrik lamellar kalsifiye bir yapıdır. SE’larda nadiren bulunur. PAP boyasında, mavi-yeşil renklerden pembeye kadar değişen tonlarda görülebilir. SE’da görülmesi tanısal değildir (2, 3).

2.2.6.4.2. KOLLAJEN TOPLAR

Kollajen toprak, mezotel hücreleriyle çevrelenmiş küçük yuvarlak hyalin yapılardır (Resim 13). SE’da, adenokarsinom ile birlikteliği sık değildir; ancak kollajen toprakları çevreleyen mezotel hücreleri reaktif değişiklik gösterdiği takdirde adenokarsinom ile karışabilir (2-4).

2.2.6.5. DİĞERLERİ

SE’larda, normal şartlarda görülmesi beklenmeyen, anatomik varyasyona bağlı, patolojik veya rastlantısal durumlar sonucunda birtakım hücre, madde ve pigmentler görebiliriz.

Bu kapsamda görülebilecek hücreler, hepatositler, silyalı bronşial epitel hücreleri, kıkırdak, kas ve fibroadipöz doku fragmanları, deri ekleri, skuamöz epitel hücreleri, bazı mikroorganizmalar, lupus eritematozus (LE) hücreleri, Gaucher benzeri hücreler, Anitschkow hücreleridir.

Karşılaşılan pigmentler ise melanin, hemosiderin, safra pigmentleridir.

Bu hücre ve pigmentlerden başka inorganik veya organik maddelere de rastlanabilir. Bunlardan bazıları Charcot-Leyden, Curschmann, hemoglobin, hematoidin, immünoglobulin, kolesterol ve oksalat kristalleri, ferriginöz cisimcikler ve bitkisel artıklardır.

2.2.7. BENİGN SERÖZ EFÜZYONLAR

Benign efüzyona sebep olan pek çok klinik durum vardır; bunların başlıcaları Tablo 3’de verilmiştir.

Sitomorfolojik bulgular, çoğunlukla nonspesifiktir. Bu bölümde, özelliği olan birkaç hastalık ele alınmıştır.

2.2.7.1.TÜBERKÜLOZ EFÜZYONU

Günlük sitoloji laboratuvar uygulaması, tarihte ilk kez tüberküloz plörezi tanısında kullanılmıştır. Yirminci yüzyılın başlarında, lenfositten zengin plevral efüzyonların tüberküloz için tanısallığı düşünölmüştür. Lenfositten zengin, mezotel hücrelerinden fakir plevral efüzyonların mikobakteryal plörit için son derece özgün olduğu gerçeği, hala doğruluğunu korumaktadır. Fakat tüberküloz tanısı PCR yöntemiyle veya költürde bakterinin üremesi yoluyla mikrobiyolojik olarak doğrulanmalıdır (3).

Mikroskopik olarak hastalığın erken evresinde, SE’da nötrofil üstünlüğü mevcut olup mezotel hücreleri bulunmaktadır. Hastalık tablosu ilerledikçe nötrofiller ve mezotel hücreleri ortamdand çekilir; lenfositler baskın hale gelir. Makrofajlar ise hastalığın her döneminde mevcuttur (1, 3).

Mezotel hücrelerinin çok az, lenfositlerin sayıca çok fazla olması, tüberküloz plevral efüzyonu için oldukça tipik bir bulgudur (3). Tüberküloz plevral efüzyonunda, mezotel hücrelerinin çok az olması veya olmaması, plevral yüzeydeki fibrin birikimi nedeniyle mezotel hücrelerinin burada hapsolması ve/veya zarar görmesine bağlıdır (1). Plevral efüzyondaki mezotel hücre oranının %10’dan fazla olması, tüberküloz plörezi olasılığını dışlar (3).

Tüberküloz efüzyonlarında, bazen, küresel ve papiller gruplar içeren, mezotelyoma ve metastatik karsinomlar açısından tanısallığı zorluğa yol açan mezotel hücre proliferasyonu görölebilmektedir. Yeterli ve doğru klinik bilgi, yanlış değerlendirmeleri engeller (4).

Tüberküloz efüzyonunda, kendi özelliğinden kaynaklı, baskın hücre bileşimi olarak lenfositlerin görölüyor olması, lenfoma kuşkusunu yaratabilir. Ayrımında, lenfositlerin kümeleşme göstermesi, fibrin eksudasyonun varlığı, T hücrelerinin üstünlüğü gibi bulgular, lenfoma tanısından uzaklaştırır. Gerektiğinde akım sitometrisi gibi yardımcı yöntemlere başvurulabilse de doğru ve yeterli klinik bilgi, düğümü çözecek en önemli anahtardır (3).

Ayırıcı tanıda, lenfoma/lösemi yayılımı, sarkoidoz gibi kronik inflamasyon ile giden hastalıklar, lenfatik obstrüksiyon yer alır.

2.2.7.2.ROMATOİD EFÜZYON

Romatoid efüzyon, sıklıkla aktif dönem romatoid artrit ile ilişkilidir; ancak hastalığın ciddiyeti ve süresiyle ilişkili değildir. Efüzyon, hemen her zaman plevrada ve tek taraflıdır (3).

Romatoid efüzyon sitolojisi, romatoid nodül histolojisini yansıtır niteliktedir. Çok çekirdekli dev hücreler, epitelioid histiositler ve nekroz, romatoid efüzyon için patognomonik bulgulardır (1-3).

Romatoid efüzyonda görülen epitelioid histiositler, skuamöz hücreli karsinom hücrelerini taklit edebilen, ince uzun, iğsi hücrelerdir. Genellikle piknotik çekirdekli olup dejenerasyon gösterirler. Sitoplazmaları yoğun olup bazen vakuol içerebilir (1-3, 23).

Romatoid efüzyonda, nötrofiller, lenfositler ve histiositler bulunabilir; ancak mezotel hücreleri ya yoktur ya da çok az bulunur. Benign efüzyonlar içinde romatoid efüzyon, bizar hücrelerin bulunabildiği yegane efüzyon nedenidir (Resim 15A, B ve C). Bizar hücrelerin eşlik ettiği efüzyonlar, genellikle malignite ile ilişkilidir (3).

2.2.7.3.SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZUS EFÜZYONU

Sistemik lupus eritematozus (36), nedeni bilinmeyen, değişken klinik özelliklere sahip bir otoimmün hastalıktır. Çoğunlukla hastalar kadın olup adolesan veya genç erişkin yaşadırlar (3).

SLE’da, plevral ve perikardiyal efüzyon sıkça görülür. Genellikle eksuda vasfındadırlar. Mikroskopik olarak en tipik bulgusu, LE hücreleridir. LE hücreleri, sıklıkla nötrofil, bazen de makrofaj kökenli olup yeşil, mavi veya mor renkli olabilen, homojen, **hematoksilen cisim** içeren hücrelerdir. Hematoksilen cisimlerin, dejenere olmuş çekirdekler olduğu düşünülmektedir (23). SLE efüzyonunda, LE hücre oranı çok değişkenlik gösterir ve laboratuvar işlemi öncesi oda sıcaklığında beklemiş materyallerde daha sık olarak görülür (1, 3). LE hücresi, SLE efüzyonunun tanısal bir bulgusu değildir. Bazı enfeksiyonlar, bazı ilaçlar ve romatoid artrit gibi durumlar, LE hücresi ile ilişkili olabilir (3).

SLE efüzyonunda, sık olmasa da malignite ile tanı karışıklığına yol açabilecek, proliferatif atipik mezotel hücreleri görülebileceği bildirilmektedir (1).

Tablo 3. Başlıca Benign Seröz Efüzyon Nedenleri (1-3)

SLE efüzyonu Romatoid efüzyon Tüberküloz efüzyonu Konjestif kalp yetmezliği Enfeksiyöz efüzyonlar (Pneumocystis jiroveci, CMV gibi) Parapnömonik efüzyon	Karaciğer sirozu Akciğer embolisi Pankreatit Nefrotik sendrom Superior vena cava obstrüksiyonu Üremi
---	---

2.2.8. MALİGN SERÖZ EFÜZYONLAR

2.2.8.1. GENEL ÖZELLİKLER

Her türlü malignite, efüzyona sebep olabilir. SE, malign tümörlerin ilk bulgusu olabilir (3, 37).

Malign SE gelişimi, önceden malignitesi bilinen hastalar için kötü prognoza işaret eder. Malign SE gelişiminden sonra ortalama yaşam süresi birkaç ayla sınırlıdır (38).

Malign SE tanısında sitolojik inceleme, genellikle doku biyopsisine göre daha üstündür (39). SE'nun ilk örneklemeinden yapılan sitolojik değerlendirmede, metastatik karsinom tanısı koymadaki duyarlılık, %60 civarındadır. Üç veya daha fazla yapılacak ardıl örnekleme, duyarlılığı %70-80'lere çıkarmaktadır (3, 40, 41).

SE'da malignite tanısı bazen kolay olmakla birlikte, tanı koymanın çok zor olabildiği olgular da vardır. SE'da malignite tanısına ulaşmanın en iyi yolu, önce benign bir mezotel hücresi tespit edip daha sonra morfolojik olarak farklı/yabancı olan hücre veya hücre grubu ile kıyaslamaktır (3, 8). Genellikle, malign hücreler görece büyük, çekirdek/sitoplazma oranı artmış, çekirdek zar düzensizliği gösteren, anormal kromatin yapısına sahip, belirgin çekirdekçikli ve atipik mitotik figüre sahip hücrelerdir (Resim 20A ve B) (1-4). Bu sayılan özelliklerin hiçbirisi malignite tanısı için patognomonik değildir ve bir kısmı malign hücrelerde görülmeyebilir.

Malign SE'larda hücreler, hücre grupları ve zemin özellikleri ile ilişkili sitolojik tanıya yardımcı, tanımlanmış bazı morfolojik kriterler mevcuttur; ancak olguya ait doğru ve yeterli klinik bilgi, en önemli yardımcı faktördür.

2.2.8.2. HÜCRE GRUPLARI

Tümör hücreleri sıklıkla, papiller, küresel veya gland benzeri geniş kümelerden oluşur (Resim 16A ve B). Bu gruplar, mikroskopta küçük büyütmede kolayca fark edilebilirler. İstisnaları olmakla birlikte, benign mezotel hücreleri, genellikle geniş gruplardan oluşmazlar; bundan dolayı SE'da geniş gruplar görmek maligniteyi düşündürür. Diğer yandan, bazı tümörler kendilerine özgü tarzda tek tek hücreler halinde dökülürler (Resim 17A ve B).

Bazen fibrin partikülleri hücrelerin toplanmasına neden olarak grup izlenimi verebilir.

2.2.8.3. GRUP SINIRLARI

Hücre gruplarının sınırları, tanıda yardımcı olabilir. Adenokarsinomda hücre grupları, tipik olarak, düzgün, ortak sınır oluşturur (Resim 18A); mezotelyal hücre grupları ise lobüle sınırlıdır (Resim 7B). Ancak bu, özgün bir bulgu değildir; tam tersi örnekler de görülebilir (Resim 18B).

2.2.8.4. HÜCRE BOYUTU

SE’da ki hücrelerin boyutu, benign bir mezotel hücresinin boyutu ile kıyaslanarak belirlenir. Malignite tanısı için hücrenin büyük olması gerekmez. Tümör hücreleri, küçük, orta, büyük boyutta ve dev hücre şeklinde görülebilirler (Resim 19A, B ve C).

Hücre boyutunun tanıda işe yarayabileceği esas nokta, genel hücre boyutundan farklı boyuttaki hücre grubunu ayırmada yararlı olmasıdır. Ancak bazı tümör hücreleri, mezotel hücresine eş, orta boyutta olabilmektedir; bu da tanıyı çok güçleştirir. Küçük boyuttaki tümör hücrelerinin, özellikle sayıları az olduğunda, zeminde yer alan inflamatuvar hücrelerle ayrımı çok zor olabilmektedir.

Küçük boyutta hücreler ile karakterize tümörlere örnek olarak küçük hücreli karsinom, bazı meme karsinomları, bir kısım lenfomalar, küçük mavi yuvarlak hücreli tümörler sayılabilir. Büyük boyutta olanlara ise akciğer ve pankreas karsinomları, mezotelyoma ve malign melanom örnek verilebilir.

2.2.8.5. HÜCRE ŞEKLİ

Malign hücreler monomorfik görünümünden pleomorfik görünüme kadar değişen şekillerde görülebilirler. Ancak unutulmamalıdır ki, yüzey gerilimi etkisi nedeniyle SE’daki tüm hücreler, yuvarlaklaşma eğilimindedir; bu nedenle hücreler, belli bir tekdüzeliğe sahip olabilir.

SE’da, anormal ve garip şekilli hücreler bulunması, kuvvetli şekilde maligniteyi akla getiren bir bulgudur; fakat romatoid efüzyonda olduğu gibi istisnalar vardır (Resim 15A, B ve C).

SE, doku kültürü ortamı sağladığından hücreler, gelişimini ve diferansiasyonunu sürdürür; bu nedenle tümör hücreleri kaynaklandığı doku veya organa benzemeyebilirler.

2.2.8.6. HÜCRE SINIRLARI

Malign hücreler genellikle keskin sınırlıdır. Buna karşın mezotel hücrelerinin ve makrofajların sınırları belirsizdir.

Çoğu malign hücre, benign mezotel hücresi gibi (Resim 8A) yüzeylerinde mikrovilluslara sahiptir. Bazen bu mikrovilluslar, ışık mikroskobu altında, özellikle Romanowsky boyalı preparatlarda görülebilir.

2.2.8.7. ÇEKİRDEK

Malign çekirdek özellikleri, malignite tanısının olmazsa olmazıdır. Klasik malign çekirdek özellikleri arasında irilik, pleomorfizm, düzensiz sınır, anormal kromatin yapısı, büyük, anormal, çok sayıda çekirdekçik, sık ve/veya atipik mitoz ve hiperkromazi sayılabilir. Bu sayılan çekirdek özelliklerinden hiçbirisi, kendi başına malignite için tanısal değildir; reaktif benign mezotel hücrelerinde de görülebilir.

2.2.8.8. SİTOPLAZMA

Tümör hücresinin sitoplazması, genellikle vakuollüdür; fakat SE'daki hücrelerde sitoplazmik vakuol çok sık olarak görüldüğünden özgünlüğü yoktur. Diğer yandan, müsin içeren vakuol adenokarsinom için tanısalıdır. Müsin, müsin karmin boyasıyla pembe-kırmızı renkte boyanır (Resim 22A, C ve D).

Taşlı yüzük hücreleri, sıklıkla mide karsinomuyla ilişkilidir (Resim 21). Çarpıcı sitoplazmik vakuolizasyon, overyan ve pankreatik karsinomlarda görülebilir.

2.2.8.9. ZEMİN ÖZELLİĞİ

SE'da zemin özelliği, genellikle tanıya yardımcı değildir. Kanlı zemin, malign SE'larda sıktır; fakat özgün bir bulgu değildir. Travma olmaksızın bol kan içeren SE, çoğunlukla maligndir. Nötrofilden zengin zemin, enfeksiyon olmaksızın, malign SE'larda alışılmış bir bulgu değildir; istisnası, keratinize skuamöz hücreli karsinomdur.

Müsinöz zemin, müsin sekrete eden tümörlerden kaynaklanır. Bu tümör hücreleri, genellikle reaktif mezotel hücresinden ayrılamayacak kadar silik bir atipi gösterirler (Resim 22B). Mezotelyomalar da aşırı hyaluronik asit salgılayarak benzer bir zemin özelliği yaratabilirler.

Metastatik over karsinomlarında psammoma cisimcikleri görülebilir (Resim 23A, B, C ve D); fakat spesifik değildir. Diğer bazı malignitelerde ve benign durumlarda da bulunabilmektedir.

Malign efüzyonların en sık sebebi, karsinom metastazlarıdır ve bunların arasında ilk sırayı adenokarsinomlar alır. SE sitolojisinde yaşanan ayırıcı tanı zorluklarının başında, mezotelyoma ile adenokarsinom ayrımı gelir. Bu özellikleri nedeniyle, burada çok kısaca bu konulara değinilmiştir.

2.2.8.10. ADENOKARSİNOM

Adenokarsinom, malign efüzyonların bariz şekilde en sık nedenidir (3, 8). Adenokarsinom hücreleri genel malign hücre özelliklerini taşıyabilirler. Ayrıca gerçek asiner veya papiller yapı, kolumnar hücre yapısı, müsinöz vakuol içeren hücrelerden oluşan ve ortak sınır oluşturan üç boyutlu hücre kümeleri adenokarsinom tanısı için daha özgün bulgulardır.

2.2.8.11. MEZOTELYOMA

Mezotelyoma, serozal yüzdeki mezotelyal örtünün transformasyonundan gelişen oldukça malign bir tümördür (2). Mezotelyomaların %90'ı plevra kaynaklıdır ve %80'i erkeklerde görülür. Mezotelyoma etyolojisinde asbestin önemli bir rolü vardır.

SE'da mezotelyoma tanısı, mezotel hücre morfolojisine benzeyen ve genel hücre paternine aykırı durmayan, çok sayıda ve geniş gruplar oluşturan, çok sayıda ve büyük hücrelerin görülmesi ile konulabilir; ancak bazen atipik mezotel hücreleri ve bazı adenokarsinomlar ile ayrımı güç olabilir (Resim 24A, B ve C) (3).

Reaktif mezotel hiperplazisinde, mezotelyomadaki kadar hücresellik genellikle beklenmez. Mezotelyomada üç boyutlu, kompleks, geniş ve çok sayıda hücre grupları görülürken, reaktif mezotel hiperplazisinde iki boyutlu, küçük, daha düzenli hücre grupları görülür. Çekirdekçiğin çok sayıda ve büyük olması mezotelyomayı düşündüren bir bulgudur.

2.2.8.12. MEZOTELYOMA VE ADENOKARSİNOM AYIRICI TANISI

SE değerlendirmesinde, en sık yaşanan ayırıcı tanı zorluklarının başında, mezotelyoma ile adenokarsinom ayrımı gelir. Bu ayrımında, malign hücre veya hücre gruplarının mezotelyal kökenine işaret eden özelliklerin başlıcaları şunlardır: Yuvarlak çekirdek, belirgin çekirdekçik, açık renk haleyle çevrili koyu sitoplazma, periferik "bleb"ler, hücre grup sınırlarının lobüle oluşu ve pencere fenomeni varlığı (3, 23, 42). Adenokarsinom tanısına

yaklaştıracak bulgular ise, genel hücre paternine aykırı, farklı hücre veya hücre topluluğu, ortak sınır oluşturan hücre grupları, gerçek asiner yapılar, garip, atipik hücreler ve müsin içeren vakuolzasyondur.

Mezotelyoma ve adenokarsinom ayırıcı tanısı, sitomorfolojik incelemenin yanı sıra, doğru ve yeterli klinik bilginin, radyolojik bulguların, gereğinde doku biyopsisinin ve immnosito/histokimya gibi yardımcı ek çalışmaların tümünün bir arada değerlendirilmesini gerektirir (43).

2.2.8.13. YARDIMCI EK YÖNTEMLER

Tümör hücrelerinin oluşturduğu özgün paternler, kaynaklandığı organ veya sistemler açısından fikir verebilir. Belli başlı paternler ve bunların sık görüldüğü tümörlerin kaynaklandığı organlar Tablo 4’te özetlenmiştir (2).

Tablo 4. Başlıca zgn Patern Tipleri ve Sık Görüldükleri Tümörler

PATERN TİPİ	TÜMÖRÜN KAYNAKLANDIğI ORGAN
Küresel Top Yapıları (Cannonballs)	Meme, Over, Akciğer
Papiller Yapılar	Akciğer, Meme, Over, Gastrointestinal sistem
Taşlı Yztk Hücreleri	Mide, Meme
Asiner Yapılar	Over, Uterus, Gastrointestinal sistem

Sitomorfolojiye ek olarak, günlük pratikte en sık kullanılan yardımcı yöntemler, sitokimya ve immunositokimyadır. Sınırlılıklarını bilerek kullanılmaları durumunda ayırıcı tanıya çok katkı sağlamaktadırlar.

Mezotelyal köken ile adenokarsinomu ayırmada en kullanışlı boyalardan biri, bir sitokimyasal boya olan müsikarmin boyasıdır. İntراسیتoplazmik “hedef tahtası” veya “kz gözü” olarak nitelenen boyanma şekli, kuvvetle adenokarsinomu düşündürür (Resim 22C).

Mezotelyomalarda sık olmasa da, yüksek miktarda hyaluronik asit yapımından dolayı müsikarmin boyası ile periferel boyanma olabilir.

İmmunositokimyasal belirteçleri, SE'nun bulunduğu anatomik boşluğa, tümörün sitomorfolojik özelliklerine, hastanın klinik bilgisine (bilinen bir malignite öyküsü gibi) dayanılarak oluşturulan ayırıcı tanı listesinin gerektirdiği şekilde kullanmak gerekir. İmmunositokimyasal belirteçler, kendi başlarına kesin tanı koydurmazlar; düşünülen ayırıcı tanıları arasında ayırım yapmaya yardımcı olurlar. Hiçbir immünositokimyasal belirteç, sitomorfolojik değerlendirmenin yerini alamaz.

Belli başlı tümörlerde, tanıyı destekleme amaçlı, özgünlüğü yüksek, en sık kullanılan immunositokimyasal belirteçler, Tablo 5'te özetlenmiştir (2-4).

Tablo 5. Belli Başlı Tümör Tiplerine Özgü En Sık Kullanılan İmmunositokimyasal Belirteçler

TÜMÖR TİPİ	İMMUNOSİTOKİMYASAL BELİRTEÇLER
Akciğer Adenokarsinomu	TTF-1, Napsin-A
Meme Karsinomları	GCDFP-15, Mammaglobin, ER, PR, c erb-B2
Seröz Karsinom	BerEp-4, CA125, PAX8, WT-1
Mezotelyoma	Calretinin, HMBE-1, D2-40
Mide Adenokarsinomu	CK7, CK20
Kolonik Adenokarsinom	CK7, CK20, CDX2
Skvamöz Hücreli Karsinom	p40, p63, CK5/6
Küçük Hücreli Karsinom	Kromogranin, Sinaptofizin, CD56
Lenfoma/Lösemi	LCA, CD3, CD20, CD30
Prostatik Adenokarsinom	PSA, PSAP

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. OLGU SEÇİMİ,

MATERYALLERİN HAZIRLANMASI VE ANALİZİ

3.1.1. OLGU SEÇİMİ

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na Eylül 2014-Mayıs 2015 tarihleri arasında gönderilen 250 adet SE materyali çalışmaya alındı.

Her bir SE materyali için, genellikle materyal kaydı sırasında, hastanın kendisi veya hasta yakını ile görüşülerek çalışmamızın amaç ve kapsamı, onam formumuz (Ek-1) da okutularak detaylıca anlatıldı. Hasta veya hasta yakınının çalışmamızın amaç ve kapsamını anladığından emin olunduktan sonra çalışmamıza katılmak için gönüllü olduğuna dair onam formu imzalatılarak kayıt altına alındı. Çalışma için gönüllü olmak istemeyen olgular, çalışmaya dahil edilmedi.

3.1.2. MATERYALLERİN HAZIRLANMASI

Her olgunun yaş, cinsiyet, efüzyon sıvısının hangi seröz boşluktan elde edildiği, klinik hikayesi ve ön tanısı/tanıları, olguya ait klinik istem formundan elde edildi. Klinik istem formunda olmayan veya eksik olan bilgiler, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi bilgisayar ağındaki hasta bilgi sisteminden, birebir sorumlu klinik hekimi ile görüşülerek ve/veya hasta veya hasta yakınlarından alınan bilgiler doğrultusunda tamamlandı; az sayıda olgudan tam bir klinik bilgi elde edilemedi.

SE materyallerinin tümünden hem KS, hem de TP-SBS preparatları hazırlandı. Ayrıca mümkün olan her materyalden plazma-trombin yöntemi ve konvansiyonel hücre bloğu hazırlama yöntemi kullanılarak ayrı ayrı hücre blokları oluşturuldu.

SE'nin miktarı, makroskopik özellikleri, KS preparatlarının hemoliz solüsyonu ile muamele edilip edilmediği, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi ve sonrası dipte kalan pellet miktarı ve pellet üstünde bırakılan süpernatant miktarı, oluşturulan hücre bloğu sayısı ve PreservCyt® çalışma solüsyonuna aktarılan materyal miktarı bilgileri, materyal hazırlanma aşamasında, önceden hazırlamış olduğumuz matbu forma kaydedildi (Ek-2).

Gönderilen SE materyali 100 cc'den fazla ise hücre konsantrasyonunu artırmak için yaklaşık 30-60 dakika oda ısısında bekletildi ve böylece serbest partiküllerin dibe çökmesi sağlandı. Dipte, bu spontan çökeltiyi de içeren, en az 50 cc. bırakılarak materyalin fazlası atıldı ve preparatlar bu bırakılan materyalden hazırlandı.

Miktarı 15 cc'den fazla olduğunda sıvı, her iki yöntemi ayrı ayrı fakat eş zamanlı çalışmak üzere, 2 ayrı tüpte işleme alındı ve süreçlerin sonunda hem konvansiyonel, hem de plazma-trombin yöntemleri ile oluşturulmuş 2 adet hücre bloğu elde edildi. 15 cc. veya daha az miktardaki sıvılar, yoğunlaştırılacak hücre miktarının olumsuz etkilenmemesi için tek tüpte işleme alındı ve KS preparatlar hazırlandıktan sonra SBS çalışması sürdürüldü. Bu sürecin sonunda sadece plazma-trombin yöntemiyle hazırlanan 1 adet hücre bloğu oluşturulabildi.

Hücre bloğu oluşturma aşamasında gerekli plazma, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kan Merkezi'ndeki son kullanma tarihleri geçmiş plazmalardan karşılandı. Bölümümüzde plazmalar, -18 °C'de, derin dondurucuda saklandı. İhtiyacımız doğrultusunda donmuş plazma çözülerek günlük kullanım için buzdolabında 0 °C ila +4 °C'de saklandı. Böylece çeşitli türde mikroorganizma kolonizasyonunun önüne geçilmiş oldu.

Hücre bloğu oluşturma aşamasında gerekli diğer bir malzeme olan trombin, liyofilize edilmiş halde hazır olarak bulunan formuna 10 ml. distile su katılarak kullanıma hazır hale getirildi. Hazırlanan trombin, buzdolabında 0 °C ila +4 °C sıcaklıkta, en fazla 1 hafta kullanılmak üzere muhafaza edildi.

3.1.2.1. KONVANSİYONEL SİTOLOJİ YÖNTEMİ İLE PREPARAT HAZIRLAMA BASAMAKLARI

SE materyalinden KS yöntemi ile preparat hazırlamak için, sırasıyla, aşağıdaki basamaklar izlendi:

- Materyalden 15 ml'lik santrifüj tüpüne örnek alındı. Santrifüj cihazının teknik özelliklerine göre ayarlanmış, 1600 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası tüpün üst kısmındaki süpernatantın tamamı yavaşça döküldü; tüpün dibinde sadece pellet kısmının kalması sağlandı.
- Tüpte kalan pellet kısmı, yaklaşık 30 saniye vorteks ile karıştırıldı.
- Karışımın en dip kısmından Pasteur pipeti yardımıyla, tercihen pipete kendiliğinden örnek dolması sağlanarak, karışımın yoğunluğuna göre 1-2 damla örnek alınıp 2 adet KS preparat hazırlandı.

- Bu preparatlar yayma sonrası hızlıca, havada kurumasına olanak vermeden, %95'lik etil alkol içeren şaleye aktarıldı.
- Yayma preparatlar %95'lik etil alkol içeren şalede fiksasyon için 10 dakika bekletildi. Fikse edilen bu 2 KS preparatı, daha sonra PAP yöntemi ile boyandı.

3.1.2.2. KONVANSİYONEL HÜCRE BLOĞU OLUŞTURMA YÖNTEMİ İLE HÜCRE BLOĞU HAZIRLAMA

Konvansiyonel hücre bloğu oluşturma yöntemi ile hücre bloğu oluşturmak için, sırasıyla, aşağıdaki basamaklar izlendi:

- KS preparatlar hazırlandıktan sonra tüpün dibinde kalan pellet üzerine pellet miktarı kadar %10'luk formol-alkol karışımı eklendi. %10'luk formol-alkol karışımı, kullanımdan hemen önce, 9 birim %96'lık etil alkol ile 1 birim %40'lık formaldehit karıştırılarak hazırlandı
- Tüpteki karışım yaklaşık 30 saniye vorteks ile karıştırıldı; fiksasyon için yaklaşık 1 saat bekletildi.
- Daha sonra tekrar 1600 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi.
- Dipteki çökelti kasetlenerek doku takibine verildi.

3.1.2.3. THINPREP® SIVI BAZLI SİTOLOJİ YÖNTEMİ İLE PREPARAT HAZIRLAMA

SE materyalinde TP-SBS yöntemi ile preparat hazırlamak için, sırasıyla, aşağıdaki basamaklar izlendi:

- Materyalden 15 ml'lik santrifüj tüpüne örnek alındı; 1600 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası, çoğu materyalde, dipte kalan pelletin üzerinde pellet miktarı kadar süpernatant bırakılarak geri kalan yavaşça döküldü.
- Yoğun kıvamlı, bol hücre içeren materyallerde, pellet miktarından daha fazla süpernatant bırakılması tercih edildi; böylelikle dilüsyon arttırılarak gereğinden fazla hücrenin yaratacağı olumsuzluklar engellenmeye çalışıldı.
- Pellet-süpernatant karışımı yaklaşık 30 saniye vorteks ile karıştırıldı.
- Karışımın üzerine 15 ml'yi tamamlayacak şekilde CytoLyt® çözeltisi eklendi.
- Manuel olarak ara ara çalkalanarak yaklaşık 10 dakika beklemeye bırakıldı.
- Daha sonra 2000 rpm devirde 5 dakika santrifüj edildi.

- Santrifüj sonrası dipte kalan pellet üzerinde pellet miktarı kadar süpernatant bırakılacak şekilde süpernatantın fazlası döküldü.
- Tüpteki materyal çıplak gözle değerlendirildi.
- Eğer materyal kandan arınmış ve proteinöz materyal içeriği azaltılmış ise düşük devirde vorteks ile 30 saniye karıştırıldı.
- Bu özellikler sağlanamamışsa üzerine tekrar CytoLyt® çözeltisi ekleyip bir önceki adımdaki işlemler tekrarlandı.
- CytoLyt® çözeltisi ile yıkama işlemi en fazla dört kez tekrar edildi.
- CytoLyt® çözeltisi ile yıkama işlemi bittikten sonra materyal yoğunluğu hesaba katılarak, ayarlanabilir mikropipet yardımıyla lam üzerine örnek alındı ve toluidin mavisi wet film preparatı hazırlandı.
- Hazırlanan wet film preparatı, hücre miktarını değerlendirmek amacıyla ışık mikroskopu altında incelendi.
- Mikroskop altında inceleme işlemi, wet film preparatının kısa sürede kuruma artefaktı göstermesi nedeniyle olabildiğince hızlı şekilde yapıldı.
- Wet film preparatındaki hücre yoğunluğuna göre PreservCyt® solüsyonuna aktarılacak materyal miktarı belirlendi; bu miktar 0.5-90 mikrolitre arasında değişmekteydi. Bu şekilde TP-SBS preparatının kalitesi artırılmaya çalışıldı.
- Örneğin eklendiği PreservCyt® solüsyonu, en az 10-15 dakika beklemeye bırakıldı.
- Daha sonra TP T2000 cihazı yardımıyla otomatik olarak preparat hazırlandı.
- Oluşturulan bir adet TP-SBS preparatı, PAP yöntemi ile boyandı.

3.1.2.4. PLAZMA-TROMBİN YÖNTEMİ İLE HÜCRE BLOĞU OLUŞTURMA

Plazma-trombin yöntemi ile hücre bloğu oluşturmak için, sırasıyla, aşağıdaki basamaklar izlendi:

- Ayarlanabilir mikropipet yardımıyla uygun miktarda materyal PreservCyt® solüsyonuna aktarıldıktan sonra santrifüj tüpünde kalan materyale Pasteur pipeti yardımıyla 3-4 damla plazma eklendi ve 1-2 dakika düşük devirde vorteks ile nazikçe karıştırıldı.
- 2-3 dakika beklendikten sonra üzerine Pasteur pipeti yardımıyla 3-4 damla trombin eklendi.
- Tekrar 1-2 dakika düşük devirde vorteks ile nazikçe karıştırıldı ve 2-3 dakika beklendi.

- Çıplak gözle yoğunlaşma olup olmadığı gözlemlendi.
- Eğer yoğunlaşma oluşmadı ise işlem, bir kez daha tekrar edildi.
- Daha sonra 2000 rpm devirde 5 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında üzerine yaklaşık 5-6 ml. %50'lik formol-alkol karışımı eklendi. %50'lik formol-alkol karışımı, kullanım öncesi, 1 birim %4'lük formaldehit ile 1 birim saf ya da %99'luk etil alkol karıştırılarak hazırlandı.
- En az 10 dakika bekletildikten sonra kasetlenerek doku takibine alındı.

3.1.2.5. YARDIMCI EK ÇALIŞMALARIN UYGULANMASI

Malign veya malignite şüphesi olan olgularda ışık mikroskopu incelemesi sonucunda, varsa olgunun klinik öyküsü de göz önüne alınarak belirlenen immünositokimya ve sitokimya çalışmaları uygulandı. Plazma-trombin yöntemiyle hazırlanan hücre bloğunun sonuçlarını kıyaslayabilmek için bu çalışmalar, elde edilmişse, her iki hücre bloğuna bir arada çalışıldı.

İmmünositokimyasal analiz için o olguya ait parafine gömülü hücre bloğundan/bloklarından 4 mikronluk kesitler pozitif şarjlı lam üzerine alındı. İmmünositokimyasal analiz için otomatik preparat boyama cihazı (BenchMark XT IHC/ISH Boyama Modülü, Ventana Medical Systems Inc., Medical Systems, Tucson, AZ, ABD) ve indirekt avidin biotin peroksidaz ile tespit yöntemi kullanıldı. Pozitif şarjlı lam üzerine alınmış 4 mikronluk kesitler gece boyunca 40 derecede ayarlı etüvde bekletildi. Boyama sistemi ile uyumlu solüsyonlardan geçirilerek deparafinizasyon, sonrasında da azalan derişimde alkol solüsyonlarından ve distile sudan geçirilerek yeniden hidrasyon sağlandı. Antijeniteyi geri getirme amaçlı 10 mmol/L'lik tamponlu sitrat çözeltisinde 30 dakika boyunca 36°C'de bekletildi. Sonrasında kesitler ticari olarak bulunabilen antikor veya antikorlar ile 1 saat boyunca inkübe edildi. Yıkama sonrası zayıf (%0.1) hematoksilin ile karşıt boyama yapıldı.

İleriye dönük bir çalışma olarak planlandığı için çalışma kapsamındaki materyallerin büyük çoğunluğunun preparat hazırlama aşaması, araştırmacının kontrolü altında sürdürüldü. Rutin sitopatolojik değerlendirme ve rapor düzenleme süreci, olguların tümünde, tez yöneticisi tarafından yönetildi ve tamamlandı. Çalışma kapsamındaki olgulara, rutin işleyiş dışında maddi yük getirecek ya da raporlama sürecini uzatacak herhangi bir ek işlem uygulanmadı.

3.1.3. MATERYALLERİN ANALİZİ

Çalışma kapsamındaki SE'lara ait sitoloji preparatları ve hücre bloğu kesitleri, günlük rutin işleyiş içinde, çalışmamızdan tamamen bağımsız olarak raporlandı.

Raporlama sonrası her iki yönetime ait sitoloji preparatları ve hücre bloğu kesitleri, ışık mikroskobu altında, sitomorfolojik ayrıntılar ve teknik özellikler açısından belirlenen parametreler çerçevesinde kıyaslamalı olarak tekrar değerlendirildi.

Olgular, rapor sonuçları esas alınarak benign ve malign efüzyonlar olarak 2 ana kategoriye ayrıldı.

Benign SE'larda sitomorfolojik ayrıntıları değerlendirmek için belirlenen parametreler:

➤ Mezotel hücreleri

- Miktarı: Materyaldeki mezotel hücre yoğunluğuna göre, 4 kategoride değerlendirildi.
- Dağılım paterni: Mezotel hücreleri grup oluşturmaksızın tek tek dağılmışsa **tek tek** diye; bunlara eşlik eden grup yapıları olduğunda, özgün bir paterne sahip olmayan, birkaç mezotel hücrelerinin oluşturduğu küçük gruplar, **olağan grup** olarak; özgün bir paterne sahip olanlar, grubun şekline göre (**küresel grup, papilla benzeri grup, tek sıralı dizi** gibi) kategorize edildi.
- Hücre boyutu: Ortalama 15-30 µm boyut olağan kabul edilerek hakim hücre popülasyonuna göre belirlendi.
- Multinükleer dev hücre: Varsa çok çekirdekli mezotel hücreleri kaydedildi.
- Çekirdek özellikleri:
 - Çekirdek/sitoplazma oranı: Çekirdeği hücrenin yaklaşık yarısını kaplayan bir mezotel hücresinin çekirdek/sitoplazma oranı, **beklenen** kategorisinde değerlendirildi; bu oran rehber alınarak, hakim mezotel hücre popülasyonunun sitoplazmaları daha geniş ise **sitoplazma lehine**; sitoplazmaları daha dar ise **çekirdek lehine** diye kategorize edildi.
 - Çekirdek morfolojisi: Çekirdek özellikleri, ortalama bir mezotel hücresi çekirdeğinde beklenen özelliklerde ise (9-14 µm, merkezi veya merkeze yakın yerleşimli, sınırları düzenli, kromatini açık, oval ya da yuvarlak şekilli)

olağan; farklılık varsa özelliğine göre, **ekzantrik** ve **histiositoid** kategorisinde değerlendirildi.

- Mitoz: Preparatlarda mitoz görülüp görülmediği kaydedildi.
- Sitoplazmik Özellikler: Mezotel hücrelerinin sitoplazmaları, ortalama bir mezotel hücresinin sitoplazması ile aynı görünümde (PAP yöntemiyle periferinde açık, merkezde koyu boyanma) ise **tipik**; vakuol içeriyorsa **vakuollü** olarak değerlendirildi.
- Belirgin hücresel atipi: Çekirdek/sitoplazma oranında artış, çekirdek zarında düzensizlik, anormal kromatin artışı, çekirdekçik belirginliği gibi özelliklere sahip hücreler, **atipik mezotel hücresi** olarak değerlendirildi.

➤ İnflamatuvar hücre kompozisyonu ve oranı

Mezotel hücrelerine ek olarak sıvıda bulunan inflamatuvar hücre çeşitleri kendi aralarında oranlanarak kaydedildi.

➤ Diğer özellikler

Kollajen top, psammoma cisimciği, vb. varsa kaydedildi.

Malign SE’larda sitomorfolojik ayrıntıları değerlendirmek için belirlenen parametreler:

- Tümöral hücre miktarı: Malign epitelyal hücre miktarı, eşlik eden proliferatif mezotel hücre miktarı ile oranlanarak, **1/4, 2/4, 3/4 ve 4/4** şeklinde derecelendirildi. Lenfoid malignitelerde bu oranlama, reaktif lenfoid hücre miktarı ile yapıldı ve aynı şekilde derecelendirildi.
- Tümör hücrelerinin dağılım paterni: Tümör hücreleri grup oluşturmaksızın tek tek dağılmışsa **tek tek** diye; bu hücrelere eşlik eden grup yapıları olduğunda, gruplar belirli bir paterne sahip olmayan hücre yığınları şeklindeyse **düzensiz, kalabalık küme** olarak; özgün bir paterne sahip olanlar grubun şekline göre (**küresel, papilla benzeri, tek sıralı dizi**) kategorize edildi.
- Tümöral hücre gruplarının kenar özellikleri: Tümör hücre gruplarının kenarları, düzgün/ortak sınır sergiliyorsa **ortak sınır**; lobüle yapıda ise **girintili çıkıntılı**; belirli bir özellik sergilemiyorsa **düzensiz** olarak değerlendirildi.

- Tümör hücrelerinin boyutu: Tümöral hücrelerinin boyutu, reaktif bir mezotel hücre boyutundan daha küçük ise **küçük**, daha büyük ise **büyük**, eş veya benzer boyutta ise **orta** olarak değerlendirildi.
- Tümör hücrelerinin şekli: Yuvarlak olmayan hücrelerin sahip olduğu şekil tanımlandı.
- Tümör hücrelerinin sınırları: Tümör hücrelerinin sitoplazmik sınırları belirgin ise **net**; sitoplazmik sınırları net seçilemiyorsa **belirsiz** olarak değerlendirildi.
- Tümör hücrelerinin çekirdek özellikleri: Çekirdek/sitoplazma oranında artış, çekirdek zarı düzensizliği, anormal kromatin paterni, hiperkromazi, büyük/anormal çekirdekçik ve pleomorfizmden oluşan 6 adet anaplazi kriterinden 4 veya fazlasını içeren tümör hücreleri, **anaplazisi belirgin**; 3 ve daha azını içerenler, **anaplazisi belirgin olmayan** şeklinde kategorize edildi.
- Tümör hücrelerinin sitoplazmik özellikleri: Tümöral hücrelerin sitoplazmasında vakuolüzasyon görüldüğünde müskarmin boyasıyla pozitif boyananlar, **müsin**; boyanmayanlar, **non-spesifik** olarak değerlendirildi.
- Mitoz varlığı: Preparatlarda görülme sıklığına göre, **seyrek** ya da **sık** olarak değerlendirildi; varsa atipik mitozlar kaydedildi.
- Zemin özellikleri: Saptanan özellikler, **müsinöz materyal**, **hyalen globül**, **psammoma cisimciği**, **nekroz**, **apoptoz** şeklinde kaydedildi.
- Ek yardımcı çalışmalar: Tanıya yardımcı olarak yapılmış
 - Sitokimyasal çalışmalar
 - İmmunositokimyasal çalışmalar kaydedildi.
- Eşlik eden diğer hücreler: Malign hücrelere eşlik eden
 - Mezotel hücreleri
 - İnflamatuvar hücreler benign efüzyonlarda yapıldığı gibi değerlendirildi.

Bu parametreler, her olgu için tek tek değerlendirilip önceden hazırlanan matbu forma kaydedildi.

Teknik özellikleri değerlendirmek ve kıyaslamak için belirlenen parametreler:

- KS preparatın zemin özellikleri: Zemindeki ekstrasellüler materyal ve eritrositler, yoğunluklarına göre, 3 kategoride değerlendirildi.

- KS preparatın kalitesi: Sitomorfolojik özelliklerin değerlendirilmesine sağladığı olanaklara göre preparatın teknik kalitesi, kötüden iyiye doğru (1: en kötü; 4: en iyi şeklinde) 4'lü sistem oluşturularak derecelendirildi.
- TP-SBS preparatında izlenen olumsuzluklar:
 - Piknoz: Benign efüzyonlarda mezotel hücrelerinde; malign efüzyonlarda ise tümör hücrelerindeki piknotik değişiklikler değerlendirildi (Resim 25A ve B). Piknoz görülmedi ise **yok**; az miktarda ve sitolojik değerlendirmeyi olumsuz etkilemiyorsa **var, ama değerlendirmeyi etkilemiyor**; yaygın ve sitolojik değerlendirmeyi olumsuz etkiliyorsa **var, değerlendirmeyi etkiliyor** kategorisinde değerlendirildi.
 - Periferik rim artefaktı: TP preparatının hazırlanma aşamasında, lam üzerine hücrelerin aktarılmasını sağlayan silindirik şekilli filtrenin fiziksel baskısı sonucu, hücrelerde oluşan bir artefaktır (Resim 26). TP lamı üzerinde, hücrelerin yayıldığı dairenin dış kısmındaki bu artefakta maruz kalan hücreler, daha büyük, ezilmiş, sitomorfolojileri bozulmuş halde görülürler. TP preparatının mikroskopik incelemesinde, en belirgin olduğu kısımda semikantitatif olarak artefaktın genişliği değerlendirildi; x400 büyütme alanında kapladığı kısma göre, **1/3 veya daha az; 1/3-2/3 arası; 2/3'ten fazla**; artefakt izlenmemişse **yok** şeklinde 4 kategoride derecelendirildi.
 - Artifişyel açıklıklar: TP preparatında, normal şartlarda, hücrelerin yayıldığı daire içinde homojen bir dağılım beklenir; ancak bazı preparatlarda, bu alanda hücre içermeyen açıklıklar oluşur (Resim 27A ve B). Mikroskopta incelenerek, daire içinde kapladığı orana göre bu açıklıklar, **yok, 1/3'ten az, 1/3, 1/3-2/3 arası, 2/3'ten fazla** şeklinde 5 kategoride değerlendirildi.
 - Eritrosit debris: TP preparatında zeminde kalan eritrosit debris (Resim 28) miktarı, **yok, +, ++, +++** şeklinde 4 kategoride derecelendirildi.
 - Ekstrasellüler kalıntı: TP preparatında zeminde kalan ekstrasellüler materyal (Resim 29B) miktarı, **yok, +, ++, +++** şeklinde 4 kategoride derecelendirildi.
- TP-SBS preparatı ile KS preparatın kıyaslanması: Bu kıyaslama aşağıdaki parametreler açısından yapıldı:
 - Hücresellik: KS preparatına kıyasla TP preparatındaki hücre yoğunluğu, **aynı – iyi – kötü** olarak değerlendirildi.

- Hücrelerin korunması: KS preparatına kıyasla TP preparatındaki hücre morfolojisi, **aynı – iyi – kötü** olarak değerlendirildi.
 - Hücre dağılımı: TP preparatında hücrelerin dağılımı, KS preparatına kıyasla aynı plandaysa **uniform**; farklı planlarda ise **değişken**; benzer ise **aynı** kategorisinde değerlendirildi.
 - Hücre boyutu: KS preparatına kıyasla TP preparatındaki hücre boyutları, **aynı** ya da **küçülmüş** şeklinde değerlendirildi.
 - Yapısal özellikler: KS preparatına kıyasla TP preparatında, hücre gruplarının boyutları küçülmüş, hücrelerin kohezyon gücü azalıp tek tek duran hücre sayısı artmış ve üst üste binen hücre miktarı azalmış ise yapısal özellikler **bozulmuş**; bu özelliklerde bir değişim olmadıysa yapısal özellikler **korunmuş** olarak değerlendirildi.
 - Hücre şekli: KS preparatında, özellikle malign efüzyonlarda, yuvarlak şeklin dışında başka şekle sahip hücreler, TP preparatında bu özelliklerini kaybedip yuvarlak şekil almışsa **yuvarlaklaşmış**; hücre şekli korunmuşsa **aynı** kategorisinde değerlendirildi.
 - Sitomorfoloji: TP preparatındaki çekirdek ve sitoplazma özellikleri, KS preparatında görülenlerle kıyaslanarak **iyi – aynı – kötü** şeklinde değerlendirildi.
 - Mitoz: KS preparatına kıyasla TP preparatında mitotik figürlerin seçilebilme durumuna göre, **aynı – iyi – kötü** olarak değerlendirildi.
 - Preparasyon kalitesi: KS preparatına kıyasla TP preparatının teknik kalitesi, **aynı – iyi – kötü** olarak değerlendirildi (Resim 29A ve B).
- Hücre bloklarının kıyaslaması: Konvansiyonel ve plazma-trombin yöntemleri kullanılarak hazırlanan hücre blokları, hücre yoğunluklarına ve teknik kalitelerine göre kıyaslandı.
- TP preparatının sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı: KS preparatına kıyasla TP preparatının tanıya sağladığı katkı, **yok – biraz var – iyi – çok iyi** şeklinde değerlendirildi.

3.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS 21.0 istatistik paket programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Frekans, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) yanı sıra normal dağılımın incelenmesi için Kolmogorov - Smirnov dağılım testi kullanıldı.

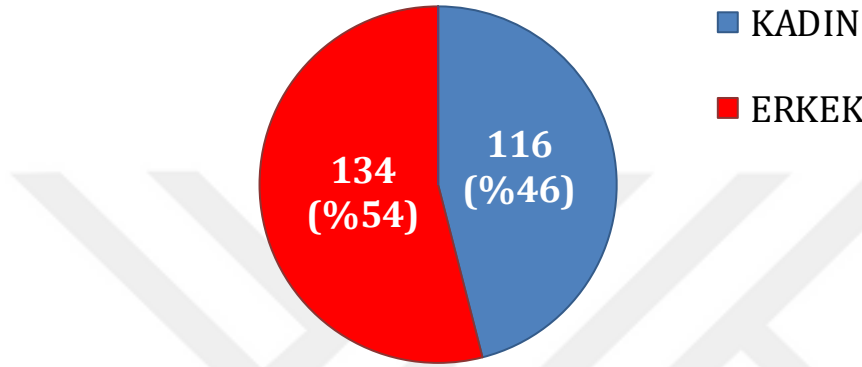
Ölçekler arası ilişkileri saptamak için Pearson Korelasyon analizi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi, Fisher Exact test kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında iki grup durumunda, parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında ikiden fazla grup durumunda, parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında, $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirildi.



4. BULGULAR

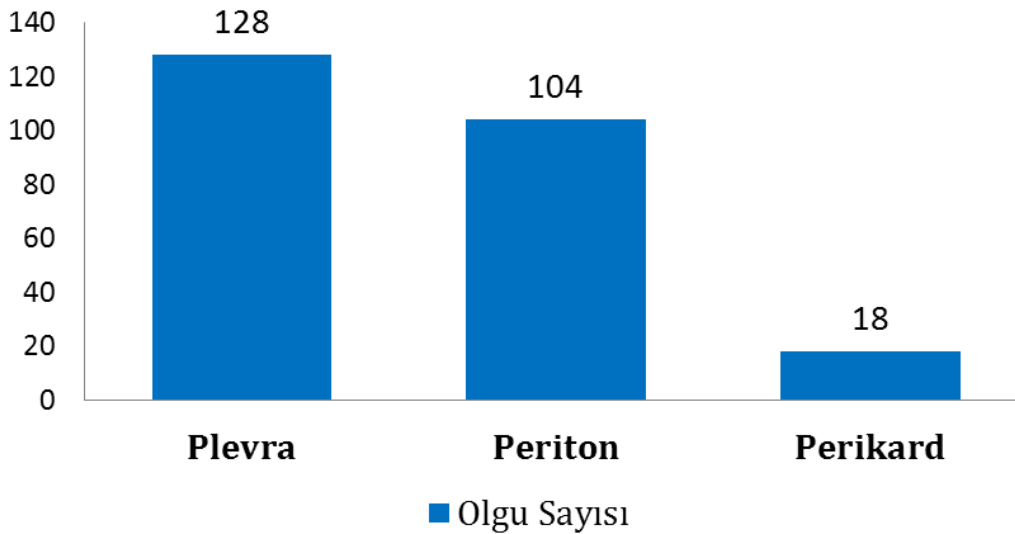
4.1. KLİNİK BULGULAR

Olguların yaşları, 1 ilâ 89 arasında olup ortalama değer 55.5; ortanca değer 60; standart sapma 19.1 idi. Olguların 116'sı (%46.4) kadın, 134'ü (%53.6) erkekti (Grafik 1). Yaş ortalaması kadınlarda 53.6, erkeklerde 57.1 idi.



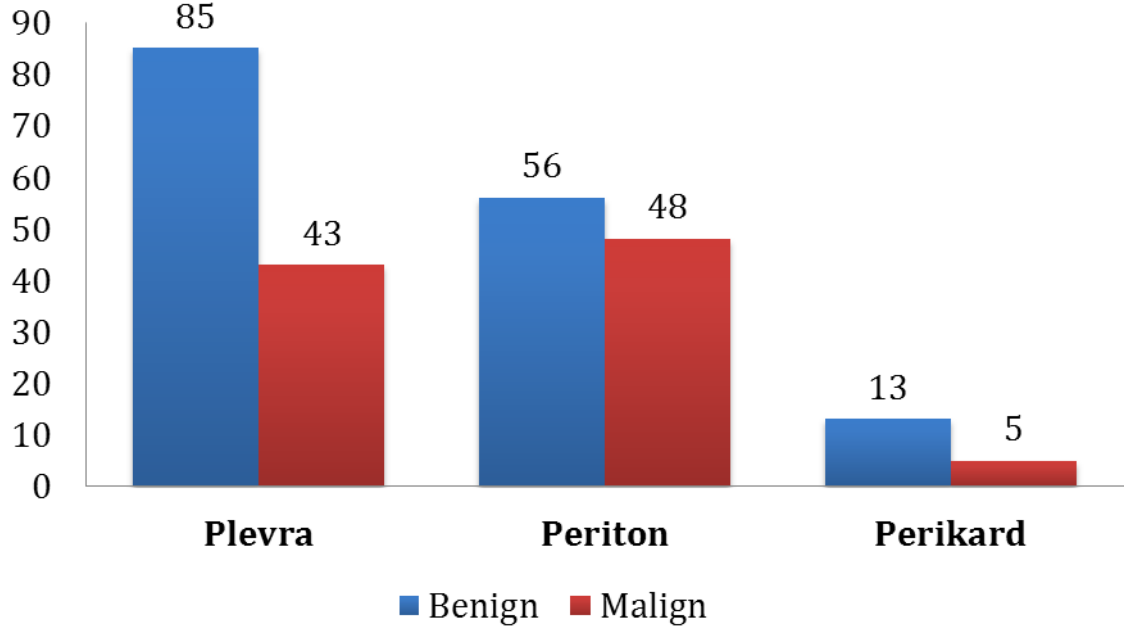
Grafik 1. Olguların Cinsiyete Göre Dağılımı

SE'ların anatomik boşluklara göre dağılımı, 128'i (%51.2) plevral, 104'ü (%41.6) peritoneal, 18'i (%7.2) perikardiyal efüzyon şeklindeydi (Grafik 2).



Grafik 2. Olguların Anatomik Boşluklara Göre Dağılımı

Olguların 154'ü (%61.6) benign, 96'sı (%38.4) malign efüzyonu. Benign olanların 85'i (%55.2) plevral, 56'sı (%36.4) peritoneal, 13'ü (%8.4) perikardiyal efüzyon; malign olanların ise 43'ü (%44.8) plevral, 48'i (%50) peritoneal, 5'i (%5.2) perikardiyal efüzyonu (Grafik 3).

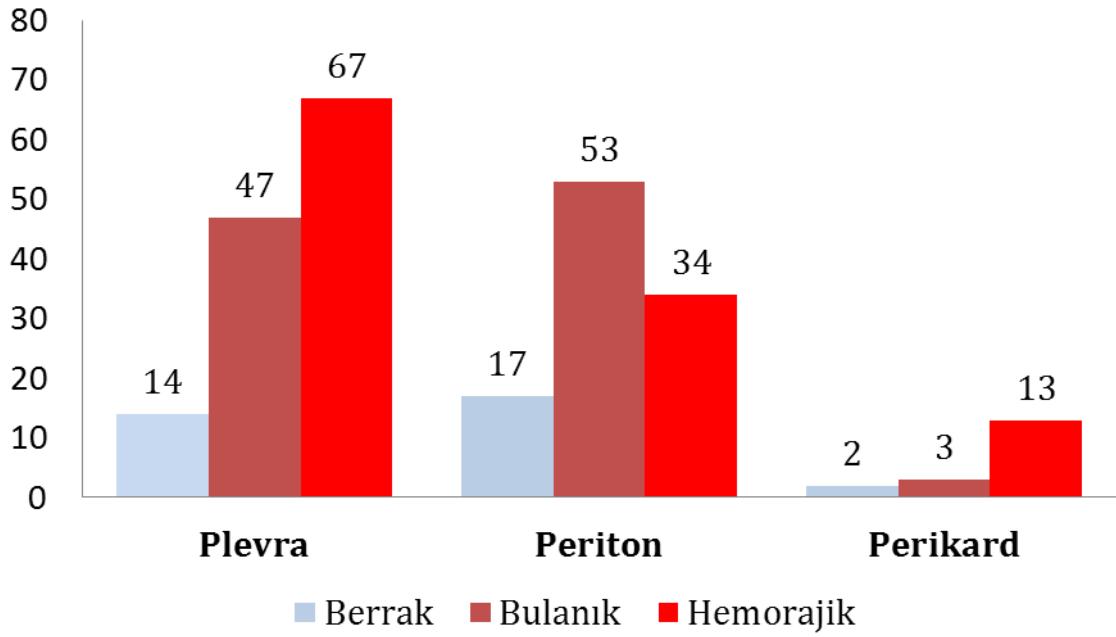


Grafik 3. Benign ve Malign Olguların Anatomik Boşluklara Göre Dağılımı

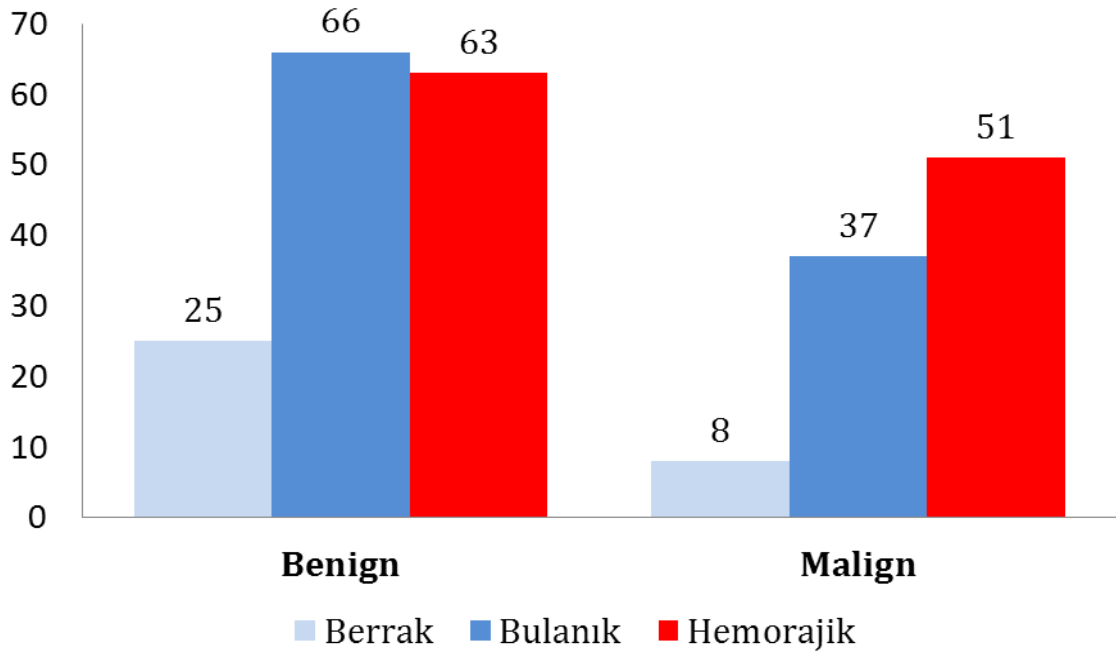
4.2. MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME

SE'ların hacimleri, 1 ilâ 5000 cc arasında değişkenlik göstermekte olup ortalama değer 298.5; ortanca değer 30; standart sapma 777.5'tu.

SE'ların makroskopik görünümleri incelendiğinde, 33'ü (%13.2) berrak; 103'ü (%41.2) bulanık; 114'ü (%45.6) hemorajikti. Bu örneklerin topografik dağılımına baktığımızda, berrak efüzyonların 14'ü (%42.4) plevral, 17'si (%51.5) peritoneal, 2'si (%6.1) perikardiyal boşluk; bulanık efüzyonların 47'si (%45.6) plevral, 53'ü (%51.5) peritoneal, 3'ü (%2.9) perikardiyal boşluk; hemorajik efüzyonların 67'si (%58.8) plevral, 34'ü (%29.8) peritoneal, 13'ü (%11.4) perikardiyal boşluk lokalizasyonluydu. Perikardial efüzyonların çoğunluğu (%72.2), plevral efüzyonların yarısı (%52.3) hemorajik nitelikteydi (Grafik 4). Benign efüzyonların 25'i (%16.2) berrak; 66'sı (%42.9) bulanık ve 63'ü (%40.9) hemorajikti. Malign efüzyonların 8'i (%8.3) berrak; 37'si (%38.6) bulanık ve 51'i (%53.1) hemorajikti (Grafik 5).



Grafik 4. Efüzyonun Makroskopik Görünümüne Göre Olguların Anatomik Boşluklarda Dağılımı



Grafik 5. Benign ve Malign Olguların Efüzyonun Makroskopik Görünümüne Göre Dağılımı

KS işlemi sırasında, benign efüzyonların 46'sı (%29.9); malign efüzyonların ise 42'si (%43.8) hemoliz solüsyonu ile muamele edilmişti.

2 materyal dışarda bırakılacak olursa, santrifüj sonrası elde edilen SE çökeltileri, CytoLyt® çözeltisi ile en az 1, en çok 4 kez yıkanmıştı. Benign SE çökeltilerinin 1'i (%0.6) yıkanmamış; 38'i (%24.7) 1 kez, 39'u (%25.3) 2 kez, 72'si (%46.8) 3 kez, 4'ü (%2.6) 4 kez; malign SE çökeltilerinin 1'i yıkanmamış; 30'u (%31.3) 1 kez, 19'u (%19.8) 2 kez, 46'sı (%47.9) 3 kez CytoLyt® çözeltisi ile yıkanmıştı.

SE materyallerinden, konvansiyonel ve plazma-trombin yöntemleri kullanılarak hücre blokları oluşturuldu. Hacmi yeterli olmayan sıvılardan, sadece, plazma-trombin yöntemi ile tek hücre bloğu oluşturulabildi. Ayrıca efüzyonlarda bol koagule materyal izlendiğinde, santrifüj öncesi bu materyal sıvıdan ayrılarak, konvansiyonel yöntemle, fazladan hücre bloğu/blokları oluşturuldu. Böylece, hem yayma kalitesinin bozulması önlendi; hem de bu materyalin içine hapsediği hücre veya hücre gruplarının incelenebilmesi sağlandı. Benign SE'ların 69'undan (%44.8) 1 adet, 74'ünden (%48.1) 2 adet, 11'inden (%7.1) 3 ya da daha fazla sayıda; malign SE'ların ise 22'sinden (%22.9) 1 adet, 64'ünden (%66.7) 2 adet, 10'undan (%10.4) 3 ya da daha fazla sayıda hücre bloğu oluşturuldu.

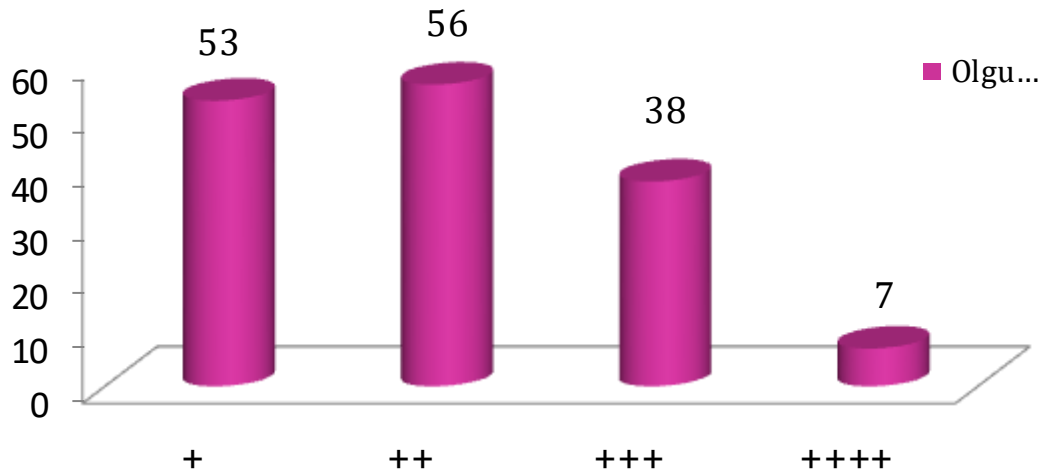
Benign SE'larda, PreservCyt® çalışma solüsyonuna aktarılan materyal miktarı, kayıt altına alınmış 123 olguda, 1 ilâ 90 mikrolitre arasında değişkenlik göstermekte olup ortalama değer 10.1; ortanca değer 5; standart sapma 13.5'ti. Malign SE'larda, PreservCyt® çalışma solüsyonuna aktarılan materyal miktarı, kayıt altına alınmış 69 olguda, 1 ilâ 60 mikrolitre arasında değişkenlik göstermekte olup ortalama değer 8.85; ortanca değer 5; standart sapma 13.31'di.

4.3. BENİGN SERÖZ EFÜZYONLARA AİT DEĞERLENDİRMELER

4.3.1. BENİGN SERÖZ EFÜZYONLARDA SİTOMORFOLOJİK AYRINTILARIN ANALİZİ

Benign SE'larda mezotel hücre miktarı, yoğunluğuna göre 4 kategoride değerlendirildi. Mezotel hücreleri çok seyrek ise +; preparatın hemen tüm yüzeyini kaplayacak kadar prolifer

ise ++++; ara değerlerde ise ++ ya da +++ olarak derecelendirildi. Buna göre, olguların 53'ünde (%34.4) +; 56'sında (%36.4) ++; 38'inde (%24.7) +++; 7'sinde (%4.5) ++++ yoğunlukta bulundu (Grafik 6).



Grafik 6. Benign Efüzyonlarda Mezotel Hücre Miktarının Dağılımı

Benign efüzyonlardaki mezotel hücrelerinin dağılım paternine bakıldığında, 73 (%47.4) olguda mezotel hücreleri tek tek dağılmıştı; 81 (%52.6) olguda ise tek tek duran hücrelere ek olarak gruplaşma göstermekteydi; bu grupların 76'sı (%93.8) olağan, 4' (%4.9) küresel, 1'i (%1.3) tek sıralı dizi şeklinde idi.

20 (%13) olguda mezotel hücreleri, monoton görünümdeydi; 134 (%87) olguda hücre boyutları değişkenlik göstermekteydi. 121 (%78.6) olguda, mezotelyal multinükleer dev hücreler izlendi.

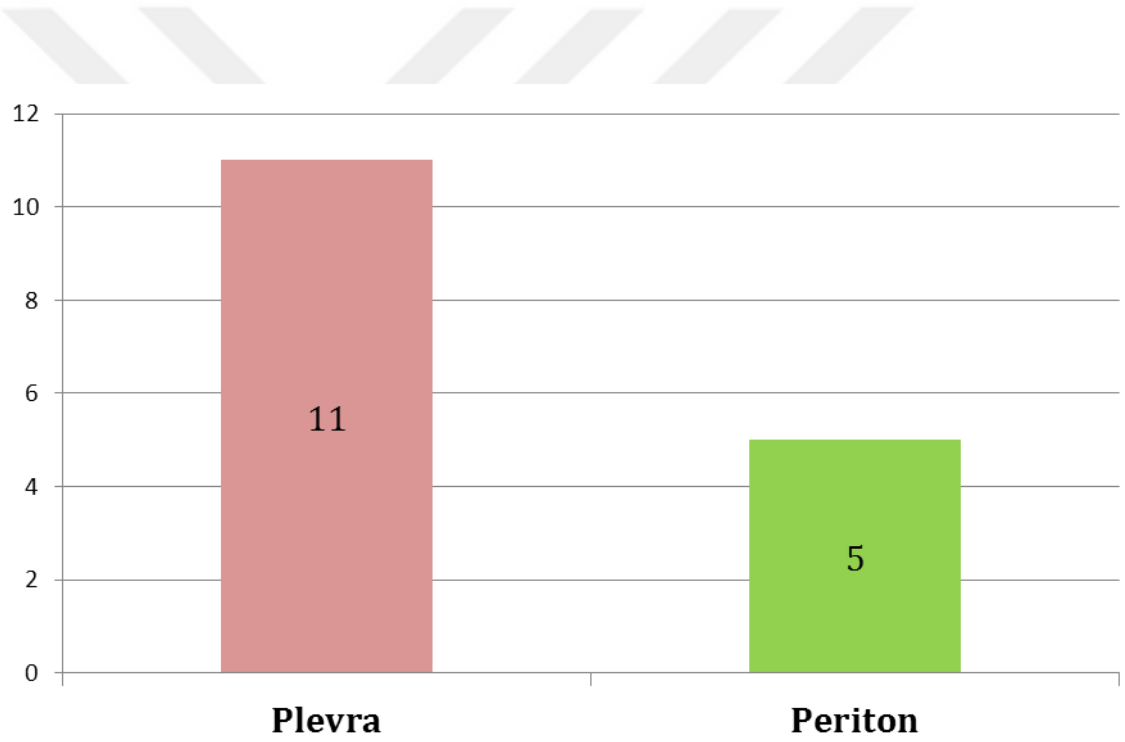
Mezotel hücreleri, çekirdek/sitoplazma oranı açısından incelendiğinde bu oran, 75 (%48.7) olguda beklenen sınırlarda; 26 olguda (%16.9) sitoplazma lehine; 53 olguda (%34.4) ise çekirdek lehine bulundu.

Mezotel hücrelerinin çekirdek özellikleri değerlendirildiğinde bu özellikler, 139 (%90.3) olguda olağan bulundu; 14 (%9.1) olguda ekzantrik yerleşim, 1 (%0.6) olguda histiositoid görünüm saptandı.

Olguların 14'ünde (%9.1) mitotik figürler izlendi; ancak hiçbirisi atipik mitoz özelliğinde değildi.

Mezotel hücrelerinin sitoplazmik özelliklerine bakıldığında 132 (%85.7) olguda tipik özellikler görüldü; 22 (%14.3) olguda sitoplazmik vakuolüstasyon izlendi.

Olguların 16'sında (%10.4) mezotel hücreleri, atipik sitomorfolojik özellikler göstermekteydi. Bu olguların 5'i (%31.2) peritoneal, 11'i (%68.8) ise plevral efüzyonu (Grafik 7).



Grafik 7. Mezotelyal Atipi Gösteren Olguların Anatomik Boşluklara Göre Dağılımı

Baskın olan inflamatuvar hücre tipi/tipleri esas alınarak ve aynı olguda birden fazla inflamatuvar hücre tipinin bulunabildiğini göz önünde bulundurarak olgular, inflamatuvar hücre komponenti ve oranları açısından incelendi. 109 (%70.8) olguda histiositler mevcuttu; yoğunlukları, 86'sında (%78.9) +, 21'inde (%19.3) ++, 2'sinde (%1.8) +++ olarak belirlenmişti. Lenfositler 117 (%76) olguda görüldü; yoğunlukları, 76'sında (%65) +, 39'unda (%33.3) ++, 2'sinde (%1.7) +++ değerlendirilmişti. 28 (%18.2) olguda izlenen

nötrofillerin yoğunluğu, 11'inde (%39.3) +, 14'ünde (%50) ++, 3'ünde (%10.7) +++ şeklindeydi. 9 olguda (%5.8) eozinofiller mevcuttu; 5'inde (%55.6) +, 2'sinde (%22.2) ++, 2'sinde (%22.2) +++ yoğunlukta izlendiler. Baskın hücre komponenti olarak hiçbir olguda, plazma hücresi, mast hücresi ve bazofil izlenmedi.

Ek özellik olarak, olguların 3'ünde (%2) kollajen top ve 1'inde (%0.6) eritrosit fagositozu gösteren histiositik hücreler gözlendi.

4.3.2. BENİGN SERÖZ EFÜZYONLARDA THINPREP® SIVI BAZLI SİTOLOJİ PREPARATI İLE KONVANSİYONEL SİTOLOJİ PREPARATINI KIYASLAMA ANALİZİ

Hücresellik açısından yapılan kıyaslamada, 36 olgu (%23.4) benzer özellikteydi; 114 (%74) olguda TP preparatı daha iyi, 4 (%2.6) olguda TP preparatı daha kötü bulundu.

Hücrelerin korunması açısından bakıldığında 40 (%26) olguda hücre morfolojisi, her iki preparatta hemen hemen aynıydı; 111 (%72.1) olguda TP preparatında daha iyi; 3 (%1.9) olguda TP preparatında daha kötü idi.

Hücre dağılımı açısından hiçbir olguda, preparatlar arasında farklılık gözlenmedi.

37 (%24) olguda mezotel hücre boyutu, her iki preparatta denk bulundu; 117 (%76) olguda TP preparatında hücre boyutunun küçüldüğü görüldü.

KS preparatta saptanan yapısal özellikler, olguların 150'sinde (%97.4) TP preparatında da korunmuştu; 4 (%2.6) olguda, grup boyutunda küçülme ve hücre kohezyonunda azalma şeklinde bozulma görüldü.

Mezotel hücrelerinin şekli açısından hiçbir olguda, preparatlar arasında farklılık gözlenmedi.

30 (%19.5) olguda mezotel hücrelerinin çekirdek özellikleri, her iki preparatta aynı bulundu; 120 (%77.9) olguda TP preparatında daha iyi; 4 (%2.6) olguda TP preparatında daha kötü idi.

Mezotel hücrelerinin sitoplazmik özellikleri karşılaştırıldığında, 58 (%37.7) olguda her iki preparatta da denk bulundu; 91 (%59.1) olguda sitoplazmik özellikler, TP preparatında daha iyi; 5 (%3.2) olguda daha kötü idi.

Mezotel hücrelerinde mitotik aktiviteyi değerlendirirken 140 (%90.9) olguda preparatlar arasında fark saptanmadı; 11 (%7.1) olguda TP preparatında, 3 (%1.9) olguda KS preparatta mitotik figürler daha kolay seçilebildi.

Sıvıdaki ekstrasellüler materyal içeriği esas alınarak KS preparatla kıyaslandığında TP preparatının preparasyon kalitesi, olguların 28'inde (%18.2) aynı, 121'inde (%78.6) daha iyi, 5'inde (%3.2) daha kötü bulundu.

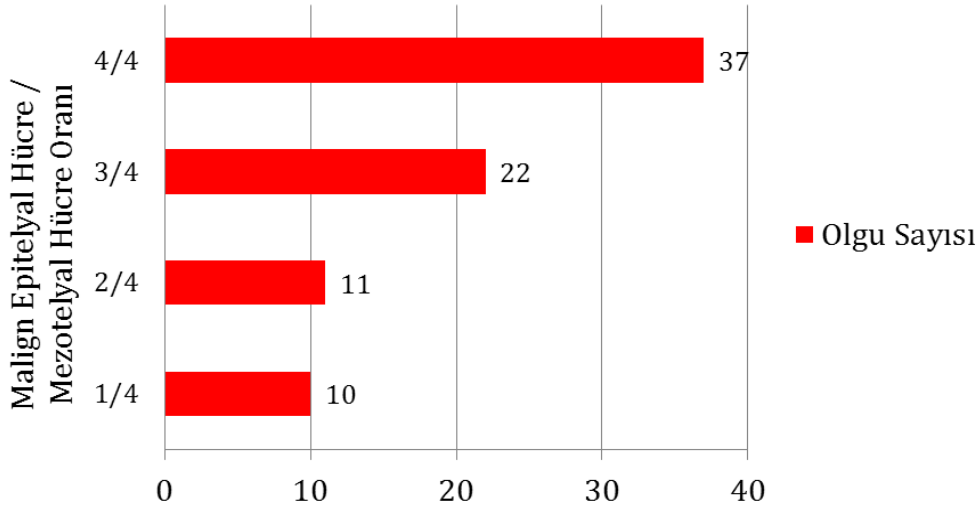
Sıvının eritrosit içeriği esas alınarak yapılan aynı kıyaslamada eritrositlerin eşlik ettiği 110 olgunun 19'unda (%17.3) TP preparatının preparasyon kalitesi aynı, 88'inde (%80) daha iyi, 3'ünde (%2.7) daha kötü bulundu.

4.4. MALİGN SERÖZ EFÜZYONLARA AİT DEĞERLENDİRMELER

4.4.1. MALİGN SERÖZ EFÜZYONLARDA SİTOMORFOLOJİK AYRINTILARIN ANALİZİ

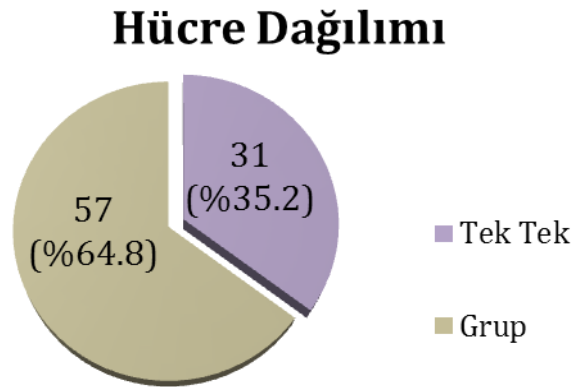
Malign efüzyon grubunda yer alan 96 olgu, tümör tipine göre sınıflandığında, 80 olgunun malign epitelyal tümör metastazı, 7 olgunun lenfoma yayılımı, 1 olgunun sarkom metastazı olduğu saptandı; çok az tümör hücresi içeren ve bu nedenle daha ileri değerlendirmesi yapılamayan 8 olgu, sitomorfolojik açıdan ayrıntılı analize alınamadı.

Malign SE'lardaki malign epitelyal hücre yoğunluğu, eşlik eden proliferatif mezotelyal hücre miktarına oranlanarak 1/4, 2/4, 3/4 ve 4/4 şeklinde belirlenen 4 kategoride incelendi. Malign epitelyal tümör metastazı tanısını alan 80 olgunun tümöral hücre yoğunluklarının dağılımı şöyleydi: 10 (%12.5) olguda 1/4; 11 (%13.8) olguda 2/4; 22 (%27.5) olguda 3/4; 37 (%46.3) olguda 4/4 (Grafik 8). Lenfoma yayılımı tanısı alan 7 olgunun tümöral hücre yoğunlukları, eşlik eden benign lenfoid hücre miktarıyla oranlanarak, benzer şekilde değerlendirildi: 3 (%42.9) olguda 2/4; 1 olguda (%14.3) 3/4; 3 (%42.9) olguda 4/4 olarak bulundu.



Grafik 8. Malign Epitelyal Tümör Metastazı Olgularının Tümöral Hücre Yoğunluğuna Göre Dağılımı.

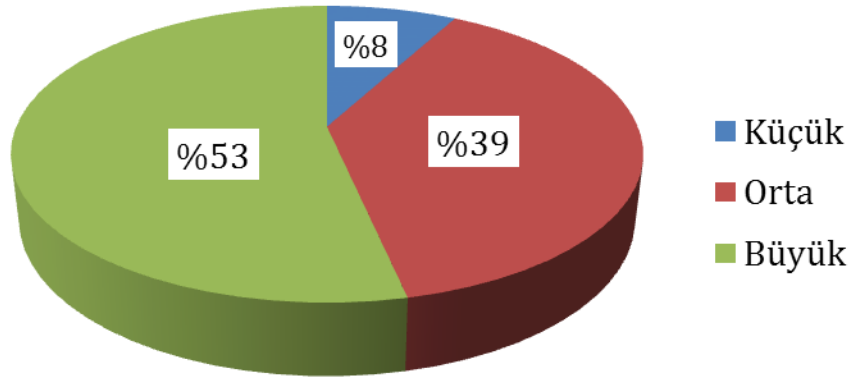
Tümöral hücrelerin patern özellikleri değerlendirilebilen 88 malign efüzyon olgusunun 31’inde (%35.2) tümör hücreleri tek tek durmaktaydı; 57 (%64.8) olguda ise tek tek hücrelere ek olarak grup yapıları görüldü (Grafik 9). Grup yapıları, 22 (%25) olguda özgün olmayan, küçük, kalabalık küme; 23 (%26.2) olguda küresel grup; 11 olguda (%12.5) küresel ve papiller grup; 1 olguda (%1.1) tek sıralı dizi şeklindeydi. Bu gruplar, olguların 35’inde (%61.4) düzgün, ortak; 5’inde (%8.8) girintili çıkıntılı; 17’sinde (%29.8) düzensiz sınıra sahipti.



Grafik 9. Olguların Hücre Dağılım Paternine Göre Dağılımı.

Mezotel hücresine kıyasla derecelendirilen tümöral hücre boyutları, 7 (%8) olguda küçük; 34 (%38.6) olguda orta; 47 (%53.4) olguda büyük olarak değerlendirildi (Grafik10).

Hücre Boyutu



Grafik 10. Tümöral Hücre Boyutuna Göre Olguların Dağılımı

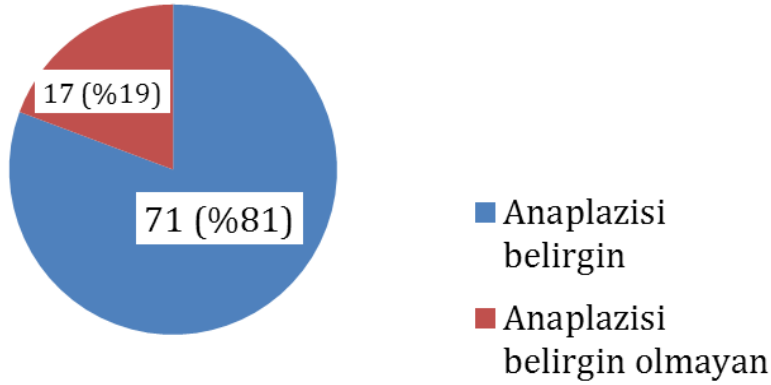
Tümöral hücrelerin şekilleri, 66 (%75) olguda yuvarlak; 21 (%23.9) olguda poligonal; 1 (%1.1) olguda ovoid görünümdeydi.

Tümöral hücrelerin sitoplazmik sınırları, olguların hemen tamamında belirgindi; yalnızca 2 (%2.3) olguda sınırlar net seçilemedi.

Sahip oldukları çekirdek özelliklerine göre, anaplazi açısından iki grupta değerlendirilen olguların 71'inde (%80.7) anaplazi oldukça belirgindi; 17 (%19.3) olguda ise anaplaziyi belirleyen birkaç özellik seçilebiliyordu (Grafik11).

Yayma preparatlarda mitotik figürlere rastlama sıklığına göre olgular 2 grupta değerlendirildi: 72 (%81.8) olguda seyrek olarak mitoz görüldü; 16 (%18.2) olguda mitotik aktivite belirgindi ve bunların 10'unda atipik mitotik figürler de mevcuttu.

Tümör hücrelerinin sitoplazmik özellikleri değerlendirilirken 45 (%51.2) olguda sitoplazmik vakuolüstasyon saptandı. Uygulanan müsikarmin boyasıyla bunların 24'ünde (%53.3) intrasitoplazmik müsün varlığı belirlendi.



Grafik 11. Anaplazi Derecesine Göre Olguların Dağılımı

Taniya yardımcı olabilecek zemin özellikleri araştırıldığında, 70 (%79.5) olguda herhangi bir özellik saptanmadı. 6 (%6.8) olguda müsinöz materyal; 1 (%1.1) olguda hyalen globül; 3 (%3.4) olguda psammoma cisimciği; 7 (%8) olguda apoptotik cisimcikler ve 1 (%1.1) olguda psammoma cisimciği ve apoptotik cisimcikler birlikte görüldü. Psammoma cisimcikleri seröz karsinom metastazı olgularında; apoptotik cisimcikler daha çok lenfoma yayılımı olgularında izlendi.

96 malign SE olgusunun 66'sında (%68.8) sitopatolojik değerlendirmeye immunositokimyasal çalışmalar eklendi. Olgu başına, 1 ilâ 9 arasında değişen sayılarda, ortalama 3 adet belirteç için immunreaktivite araştırıldı.

Kullanılan iki yöntemle de hazırlanmış hücre blokları olan olgularda immun boyalar, her iki hücre bloğu kesitlerine eş zamanlı olarak çalışıldı ve boyanma kaliteleri kıyaslandı. Bu şekilde yapılmış 93 adet immun boyanın 56'sında (%60.2) her iki hücre blok kesitinde eş kalitede boyanma görüldü; 32 (%34.4) tanesinde plazma-trombin yöntemiyle oluşturulan hücre bloğunun kesitindeki boyanma kalitesi; 5 (%5.4) tanesinde ise kovansiyonel yöntemle oluşturulan hücre bloğunun kesitindeki boyanma kalitesi daha üstün bulundu.

Malign efüzyon preparatlarında, tümör hücrelerinden başka dikkat çeken diğer bulgular da kaydedildi. 49 (%55.7) olguda reaktif mezotel hiperplazisi saptandı ve mezotelyal hücre miktarına göre derecelendirildi: Bunların 17'sinde (%19.3) +; 16'sında (%18.2) ++; 11'inde (%12.5) +++; 5'inde (%5.7) ++++ yoğunlukta bulundu. Dikkat çeken inflamatuvar hücre

komponentleri de benzer şekilde değerlendirildi. Lenfositik yanıtın belirgin olduğu 23 (%26.1) olgunun 18'inde (%78.3) +; 4'ünde (%17.4) ++; 1'inde (%4.3) +++ yoğunlukta lenfoid hücre mevcuttu. 4 (%4.5) olguda histiositik yanıt belirgin olup 3'ünde (%75) +; 1'inde (%25) +++ şeklinde derecelendirildi. 6 (%6.8) olguda nötrofilik yanıt izlendi; 5'inde (%83.3) +; 1'inde (%16.7) ++ yoğunlukta idi. 1 (%1.1) olguda, ++ yoğunlukta eozinofil yanıt görüldü.

4.4.2. MALİGN SERÖZ EFÜZYONLARDA THINPREP® SIVI BAZLI SİTOLOJİ PREPARATI İLE KONVANSİYONEL SİTOLOJİ PREPARATI KIYASLAMA ANALİZİ

Hücresellik açısından yapılan kıyaslamada, 37 olguda (%38.5) hücre yoğunluğu, hemen hemen denkti; 57 (%59.4) olguda TP preparatında daha iyi; 2 (%2.1) olguda TP preparatında daha kötü bulundu.

Hücrelerin korunması açısından bakıldığında 19 (%19.8) olguda hücre morfolojisi, her iki preparatta hemen hemen aynıydı; 77 (%80.2) olguda TP preparatında daha iyi bulundu. Hiçbir malign efüzyonda TP preparatındaki hücre kalitesi, KS preparatındakinden daha kötü değildi.

Hücre dağılımı açısından hiçbir olguda, preparatlar arasında farklılık gözlenmedi.

Tümöral hücre boyutu açısından kıyaslandığında 8 (%8.3) olguda tümöral hücre boyutu, her iki preparatta denk bulundu; 88 (%91.7) olguda, TP preparatında hücre boyutunun küçüldüğü görüldü.

KS preparatta saptanan yapısal özellikler, olguların 85'inde (%88.5) TP preparatında da korunmuştu; 11 (%11.5) olguda, grup boyutunda küçülme ve hücre kohezyonunda azalma şeklinde bozulma görüldü.

Tümöral hücrelerin şekli açısından kıyaslandığında 82 (%85.4) olguda, preparatlar arasında farklılık gözlenmedi; hücreleri poligonal ya da ovoid şekilde olan 22 olgunun 14'ünde (%63.6), TP preparatında hücrelerin yuvarlaklaştığı görüldü.

17 (%17.7) olguda tümör hücrelerinin çekirdek özellikleri, her iki preparatta aynı bulundu; 78 (%81.3) olguda TP preparatında daha iyi; 1 (%1) olguda TP preparatında daha kötü idi.

Tümör hücrelerinin sitoplazma özellikleri açısından 20 (%20.8) olguda her iki preparat denkti; 76 (%79.2) olguda sitoplazmik özellikler, TP preparatında daha iyi bulundu; hiçbir olguda TP preparatındaki sitoplazmik özellikler daha kötü değildi.

Tümör hücrelerinde mitotik aktiviteyi değerlendirirken 91 (%94.8) olguda preparatlar arasında fark saptanmadı; 5 (%5.2) olguda TP preparatında mitotik figürler daha kolay seçilebildi.

Sıvıdaki ekstrasellüler materyal içeriği esas alınarak KS preparatla kıyaslandığında TP preparatının preparasyon kalitesi, olguların 17'sinde (%17.7) aynı, 78'inde (%81.3) daha iyi, 1'inde (%1) daha kötü bulundu.

Sıvının eritrosit içeriği esas alınarak yapılan aynı kıyaslamada eritrositlerin eşlik ettiği 84 olgunun 13'ünde (%15.5) TP preparatının preparasyon kalitesi aynı; 71'inde (%84.5) daha iyiydi; hiçbir olguda TP preparatının preparasyon kalitesi daha kötü değildi.

4.5 PREPARASYON YÖNTEMLERİNİN TEKNİK ÖZELLİKLERİNİN KİYASLANMASI

4.5.1 KONVANSİYONEL SİTOLOJİ PREPARATLARININ KALİTESİ

KS preparatlarının kalitesi, sitomorfolojik özelliklerin değerlendirilmesine sağladığı olanaklara göre, 4'lü sistem oluşturularak derecelendirildi. KS preparatının kalitesini en fazla etkileyen faktörlerin materyalin ekstrasellüler madde ve eritrosit içerikleri olabileceği düşünülerek bu parametler, kıyaslamalı değerlendirildi. Sonuçlar, Tablo 6 ve Tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 6. Materyalin Ekstrasellüler Madde İçeriği ile KS Preparat Kalitesinin Karşılaştırılması

	KS Preparatının Kalitesi				
Ekstrasellüler Madde İçeriği	1/4	2/4	3/4	4/4	Toplam
+	9 (%3.6)	20 (%8)	26 (%10.4)	21 (%8.4)	76 (%30.4)
++	17 (%6.8)	30 (%12)	49 (%19.6)	45 (%18)	141 (%56.4)
+++	2 (%0.8)	8 (%3.2)	19 (%7.6)	4 (%1.6)	33 (%13.2)
Toplam	28 (%11.2)	58 (%23.2)	94 (%37.6)	70 (%28)	250 (%100)

Tablo 7. Materyalin Eritrosit İçeriği ile KS Preparat Kalitesinin Karşılaştırılması

	KS Preparatının Kalitesi				
Eritrosit İçeriği	1/4	2/4	3/4	4/4	Toplam
Yok	8 (%3.2)	23 (%9.2)	30 (%12)	17 (%6.8)	78 (%31.2)
+	2 (%0.8)	12 (%4.8)	13 (%5.2)	15 (%6)	42 (%16.8)
++	7 (%2.8)	2 (%0.8)	20 (%8)	15 (%6)	44 (%17.6)
+++	11 (%4.4)	21 (%8.4)	31 (%12.4)	23 (%9.2)	86 (%34.4)
Toplam	28 (%11.2)	58 (%23.2)	94 (%37.6)	70 (%28)	250(%100)

Bu sonuçlara göre, SE materyalinin ekstrasellüler madde ve eritrosit içeriğindeki değişim, KS preparatının kalitesini oransal olarak etkilememektedir.

4.5.2. PİKNOZ

TP preparatlarında saptanan piknotik değişiklikler, 3 kategoride değerlendirildi ve şu sonuçlar elde edildi: Olguların 108'inde (%43.2) piknoz yok; 108'inde (%43.2) var, ama değerlendirmeyi etkilemiyor; 34'ünde (%13.6) var, değerlendirmeyi etkiliyor.

Benign ve malign efüzyonlarda, piknozun ilişkili olabileceği düşünülen, çoğu teknik, bir takım parametrelerle istatistiksel anlamlılığı araştırıldı. Bu parametreler ve istatistiksel sonuçlar, Tablo 8, 9, 10 ve 11’de görülmektedir.

Benign efüzyonlarda, Tablo 8’de görülen parametrelerin miktar ortalamalarının, piknoz değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, grup ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8. Benign Efüzyonlarda Piknozun Teknik Bazı Parametreler ile İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Yok	58	2,362	0,892	3,216	0,200
	Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor	69	2,275	0,873		
	Var, Değerlendirmeyi Etkiliyor	27	2,000	0,877		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	48	3,823	4,514	2,839	0,242
	Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor	60	3,458	5,072		
	Var, Değerlendirmeyi Etkiliyor	19	2,526	3,422		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	47	4,638	3,981	1,044	0,593
	Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor	56	4,571	4,767		
	Var, Değerlendirmeyi Etkiliyor	17	3,647	2,422		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	43	2,663	2,456	3,558	0,169
	Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor	52	2,365	2,049		
	Var, Değerlendirmeyi Etkiliyor	16	2,062	3,109		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	43	3,630	1,928	0,357	0,836
	Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor	52	3,420	1,473		
	Var, Değerlendirmeyi Etkiliyor	16	3,500	2,582		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	48	9,906	15,627	5,757	0,056
	Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor	56	7,232	13,818		
	Var, Değerlendirmeyi Etkiliyor	19	9,684	11,504		

Tablo 9’da görülen parametrelerden, KS preparatın kalitesi ve hücre çekirdek/sitoplazma oranı ile piknoz arasında ise anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 9). KS preparat kalitesi, ortalamanın altında olan benign efüzyonların TP preparatlarında,

değerlendirmeyi olumsuz etkileyen piknoz saptanmıştır. Sitoplazması daha geniş mezotel hücreleri, daha fazla piknotik değişikliğe uğramaktadır.

Tablo 9. Benign Efüzyonlarda Piknozun Bazı Sitolojik Parametreler ile İlişkisi

		Yok		Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor		Var, Değerlendirmeyi Etkiliyor		p
		n	%	N	%	n	%	
KS Ekstrasellüler Materyal Miktarı	Yok	1	%1,7	0	%0	0	%0	$X^2=8,552$ $p=0,200$
	+	21	%36,2	26	%37,7	5	%18,5	
	++	32	%55,2	37	%53,6	16	%59,3	
	+++	4	%6,9	6	%8,7	6	%22,2	
KS Eritrosit Miktarı	Yok	15	%25,9	21	%30,4	15	%55,6	$X^2=10,452$ $p=0,107$
	+	8	%13,8	12	%17,4	4	%14,8	
	++	14	%24,1	12	%17,4	5	%18,5	
	+++	21	%36,2	24	%34,8	3	%11,1	
KS Preparatının Kalitesi	1	9	%15,5	6	%8,7	3	%11,1	$X^2=17,742$ $p=0,007$
	2	17	%29,3	14	%20,3	16	%59,3	
	3	23	%39,7	33	%47,8	7	%25,9	
	4	9	%15,5	16	%23,2	1	%3,7	
Mezotel Hücresi Çekirdek/ Sitoplazma Oranı	Beklenen	29	%50,0	32	%46,4	14	%51,9	$X^2=20,089$ $p=0,000$
	Sitoplazma Lehine	2	%3,4	14	%20,3	10	%37,0	
	Çekirdek Lehine	27	%46,6	23	%33,3	3	%11,1	

Malign efüzyonlarda, Tablo 10’da görülen parametrelerin miktar ortalamalarının, piknoz değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, grup ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10. Malign Efüzyonlarda Piknozun Teknik Bazı Parametreler ile İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Yok	50	2,200	0,857	1,720	0,423
	Var, değerlendirmeyi etkilemiyor	39	2,154	0,961		
	Var, değerlendirmeyi etkiliyor	7	1,714	0,951		
CytoLyt® Çözeltisi ile Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	42	6,190	5,937	0,946	0,623
	Var, değerlendirmeyi etkilemiyor	24	4,583	4,713		
	Var, değerlendirmeyi etkiliyor	2	7,000	7,071		
CytoLyt® Çözeltisi ile Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	41	6,829	4,858	2,666	0,264
	Var, değerlendirmeyi etkilemiyor	24	4,917	3,120		
	Var, değerlendirmeyi etkiliyor	2	7,500	6,364		
CytoLyt® Çözeltisi ile Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	34	4,926	4,790	0,824	0,662
	Var, değerlendirmeyi etkilemiyor	25	4,260	3,480		
	Var, değerlendirmeyi etkiliyor	3	6,333	4,509		
CytoLyt® Çözeltisi ile Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	34	5,590	4,279	0,781	0,677
	Var, değerlendirmeyi etkilemiyor	25	4,920	2,985		
	Var, değerlendirmeyi etkiliyor	3	6,670	4,041		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	41	9,098	17,883	3,014	0,222
	Var, değerlendirmeyi etkilemiyor	25	1,568	2,153		
	Var, değerlendirmeyi etkiliyor	3	2,667	3,753		

Tablo 11’de görülen parametreler ile piknoz arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 11).

Tablo 11. Malign Efüzyonlarda Piknozun Bazı Sitolojik Parametreler ile İlişkisi

		Yok		Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor		Var, Değerlendirmeyi Etkiliyor		p
		n	%	n	%	n	%	
KS Ekstrasellüler Materyal Miktarı	+	7	%14,0	15	%38,5	1	%14,3	$X^2=8,149$ $p=0,086$
	++	34	%68,0	18	%46,2	4	%57,1	
	+++	9	%18,0	6	%15,4	2	%28,6	
KS Eritrosit Miktarı	Yok	15	%30,0	10	%25,6	2	%28,6	$X^2=7,159$ $p=0,306$
	+	5	%10,0	10	%25,6	3	%42,9	
	++	7	%14,0	5	%12,8	1	%14,3	
	+++	23	%46,0	14	%35,9	1	%14,3	
KS Preparatının Kalitesi	1	7	%14,0	1	%2,6	2	%28,6	$X^2=11,636$ $p=0,071$
	2	9	%18,0	2	%5,1	0	%0	
	3	14	%28,0	14	%35,9	3	%42,9	
	4	20	%40,0	22	%56,4	2	%28,6	

4.5.3. PERİFERAL RİM ARTEFAKTI

Periferal rim artefaktı, 242 olguda değerlendirilebildi ve şu sonuçlara ulaşıldı: Olguların 3'ünde (%1.2) artefakt yok; 40'ında (%16.5) 1/3 ve az; 102'sinde (%42.1) 1/3-2/3 arası; 97'sinde (%40.1) 2/3'ten fazla.

Benign ve malign efüzyonlarda, periferal rim artefaktının ilişkili olabileceği düşünülen bir takım parametreler ile istatistiksel anlamlılığı araştırıldı. Bu parametreler ve istatistiksel sonuçlar, Tablo 12, 13, 14 ve 15'de görülmektedir.

Benign efüzyonlarda, Tablo 12'de görülen parametrelerin miktar ortalamalarının periferal rim artefaktı değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, grup ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Benign Efüzyonlarda Periferal Rim Artefaktının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltilisi İle Yıkama Sayısı	Var; 1/3 Ve Az	15	2,133	0,916	0,617	0,735
	1/3 - 2/3	56	2,321	0,855		
	2/3den Fazla	73	2,233	0,921		
CytoLyt® Çözeltilisi İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	10	4,050	4,827	0,472	0,790
	1/3 - 2/3	46	3,337	3,923		
	2/3den Fazla	63	3,516	5,288		
CytoLyt® Çözeltilisi İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	10	5,300	3,946	2,574	0,276
	1/3 - 2/3	42	4,333	3,593		
	2/3den Fazla	61	4,475	4,767		
CytoLyt® Çözeltilisi İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	10	2,350	2,249	0,185	0,912
	1/3 - 2/3	38	2,289	2,055		
	2/3den Fazla	56	2,527	2,670		
CytoLyt® Çözeltilisi İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	10	3,500	1,269	1,200	0,549
	1/3 - 2/3	38	3,320	1,613		
	2/3den Fazla	56	3,660	2,109		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	10	6,200	8,046	2,968	0,227
	1/3 - 2/3	43	7,558	12,199		
	2/3den Fazla	62	10,355	16,769		

Tablo 13’de değerlendirilen parametrelerden yalnızca hücresellik ile anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 13). Benign efüzyonlarda TP preparatının hücreliliği arttıkça periferik rim artefaktı genişlemektedir

Tablo 13. Benign Efüzyonlarda Periferal Rim Artefaktının Diğer Bazı Parametreler İle İlişkisi

		Yok		Var; 1/3 Ve Az		1/3 - 2/3		2/3den Fazla		p
		n	%	n	%	n	%	n	%	
TP Preparatında Kalan Ekstrasellüler Kalıntı Materyali	Yok	1	%50,0	2	%13,3	8	%14,3	13	%17,8	$X^2=7,686$ $p=0,566$
	+	0	%0	4	%26,7	20	%35,7	21	%28,8	
	++	0	%0	4	%26,7	20	%35,7	27	%37,0	
	+++	1	%50,0	5	%33,3	8	%14,3	12	%16,4	
Hücresellik	Aynı	1	%50,0	3	%20,0	10	%17,9	16	%21,9	$X^2=21,703$ $p=0,001$
	İyi	0	%0	12	%80,0	46	%82,1	54	%74,0	
	Kötü	1	%50,0	0	%0	0	%0	3	%4,1	
Artifisyonel Açıklıklar	Yok	0	%0	0	%0	1	%1,8	5	%6,8	$X^2=14,257$ $p=0,285$
	<1/3	0	%0	5	%33,3	24	%42,9	19	%26,0	
	1/3	0	%0	3	%20,0	10	%17,9	22	%30,1	
	1/3 - 2/3	2	%100	6	%40,0	21	%37,5	24	%32,9	
	>2/3	0	%0	1	%6,7	0	%0	3	%4,1	

Malign efüzyonlarda, Tablo 14'te görülen parametrelerin miktar ortalamalarının periferal rim artefaktı değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı ve TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktar ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 14).

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı, periferal rim artefaktı 1/3 ve az olanlar ($2,240 \pm 0,926$) ile periferal rim artefaktı 1/3-2/3 arası olanlarda ($2,348 \pm 0,849$), periferal rim artefaktı 2/3'den fazla olanlardan ($1,667 \pm 0,868$) yüksek bulunmuştur. Malign efüzyonlarda yıkama sayısı az ise periferal rim artefaktı geniş olabilmektedir.

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı, periferal rim artefaktı 1/3 ve az olanlarda ($6,706 \pm 4,647$), periferal rim artefaktı 1/3-2/3 arasında olanlardan ($3,958 \pm 3,888$) yüksek bulunmuştur.

Malign efüzyonlarda, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı ile periferel rim artefaktının genişliği arasında zıtlık görülmektedir.

TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı, periferel rim artefaktı 2/3'den fazla olanlarda ($13,050 \pm 18,658$), periferel rim artefaktı 1/3 ve az olanlar ($4,350 \pm 13,496$) ile periferel rim artefaktı 1/3-2/3 arasında olanlardan ($5,071 \pm 13,412$) yüksek bulunmuştur. Malign efüzyonlarda, PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı ile periferel rim artefaktının genişliği arasında paralellik mevcuttur.

Tablo 14. Malign Efüzyonlarda Periferel Rim Artefaktının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Var; 1/3 Ve Az	25	2,240	0,926	9,277	0,010
	1/3 - 2/3	46	2,348	0,849		
	2/3den Fazla	24	1,667	0,868		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	19	6,237	4,480	1,780	0,411
	1/3 - 2/3	38	5,211	5,498		
	2/3den Fazla	10	6,650	7,631		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	18	6,889	4,185	2,053	0,358
	1/3 - 2/3	38	5,684	4,218		
	2/3den Fazla	10	7,000	5,538		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	17	6,706	4,647	6,197	0,045
	1/3 - 2/3	36	3,958	3,888		
	2/3den Fazla	8	4,438	4,238		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	17	6,880	4,512	3,339	0,188
	1/3 - 2/3	36	4,780	3,313		
	2/3den Fazla	8	5,120	3,682		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Var; 1/3 Ve Az	20	4,350	13,496	13,654	0,001
	1/3 - 2/3	38	5,071	13,412		
	2/3den Fazla	10	13,050	18,658		

Tablo 15'te değerlendirilen parametreler arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 15).

Tablo 15. Malign Efüzyonlarda Periferal Rim Artefaktının Diğer Bazı Parametreler İle İlişkisi

		Yok		Var; 1/3 Ve Az		1/3 - 2/3		2/3den Fazla		p
		n	%	n	%	n	%	n	%	
Hücresellik	Aynı	0	%0	14	%56,0	15	%32,6	8	%33,3	$X^2=7,267$ p=0,297
	İyi	1	%100	10	%40,0	31	%67,4	15	%62,5	
	Kötü	0	%0	1	%4,0	0	%0	1	%4,2	
TP Preparatında Kalan Ekstrasellüler Kalıntı Materyali	Yok	0	%0,0	10	%40,0	7	%15,2	4	%16,7	$X^2=10,613$ p=0,303
	+	0	%0,0	7	%28,0	13	%28,3	6	%25,0	
	++	0	%0,0	3	%12,0	9	%19,6	7	%29,2	
	+++	1	%100,0	5	%20,0	17	%37,0	7	%29,2	
TP Preparatında Kalan Eritrosit Debrisi	Yok	1	%100,0	20	%80,0	37	%80,4	15	%62,5	$X^2=6,699$ p=0,668
	+	0	%0,0	3	%12,0	3	%6,5	3	%12,5	
	++	0	%0,0	1	%4,0	3	%6,5	1	%4,2	
	+++	0	%0,0	1	%4,0	3	%6,5	5	%20,8	
Artifisyonel Açıklıklar	Yok	0	%0,0	6	%24,0	3	%6,5	1	%4,2	$X^2=31,187$ p=0,000
	<1/3	0	%0,0	15	%60,0	27	%58,7	9	%37,5	
	1/3	0	%0,0	1	%4,0	15	%32,6	6	%25,0	
	1/3 - 2/3	1	%100,0	3	%12,0	1	%2,2	8	%33,3	

4.5.4. ARTİFİSYEL AÇIKLIKLAR

Artifisyonel açıklıklar, 249 olguda değerlendirilebildi; elde edilen veriler şöyledi: Olguların 17'sinde (%6.8) açıklık yoktu; 103'ünde (%41.4) 1/3'ten az; 58'inde (%23.3) 1/3; 67'sinde (%26.9) 1/3-2/3; 4'ünde (%1.6) 2/3'ten fazla.

Benign ve malign efüzyonlarda, artifisyonel açıklıkların ilişkili olabileceği düşünülen bir takım parametreler ile istatistiksel anlamlılığı araştırıldı. Bu parametreler ve istatistiksel sonuçlar, Tablo 16, 17, 18 ve 19'da görülmektedir.

Benign efüzyonlarda, Tablo 16'da görülen parametrelerin miktar ortalamalarının artifisyonel açıklık değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 16).

CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı parametresi açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarları, artifisyonel açıklıkları olmayanlardan ($2,000 \pm 0,707$), artifisyonel açıklıkları 2/3'ten fazla olanlardan ($0,750 \pm 0,289$) yüksek bulunmuştur. CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarları, artifisyonel açıklıkları 1/3'ten az olanlarda ($3,410 \pm 2,922$), artifisyonel açıklıkları 1/3 olanlardan ($2,261 \pm 2,383$), artifisyonel açıklıkları 1/3 - 2/3 arasında olanlardan ($1,846 \pm 1,607$) ve artifisyonel açıklıkları 2/3'ten fazla olanlardan ($0,750 \pm 0,289$) yüksek bulunmuştur.

Benign efüzyonlarda, CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı azaldıkça artifisyonel açıklıkların ortaya çıkma olasılığı artmaktadır.

CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı parametresi açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt[®] yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarları, artifisyonel açıklıkları 1/3'ten az olanlarda ($4,130 \pm 2,419$), artifisyonel açıklıkları olmayanlardan ($2,400 \pm 0,548$) ve artifisyonel açıklıkları 1/3 - 2/3 arasında olanlardan ($3,050 \pm 1,025$) yüksek bulunmuştur. CytoLyt[®] yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarları, artifisyonel açıklıkları 1/3 olanlarda ($3,650 \pm 1,799$), artifisyonel açıklıkları olmayanlardan ($2,400 \pm 0,548$) yüksek bulunmuştur.

TP PreservCyt[®] solüsyonuna aktarılan materyal miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, TP PreservCyt[®] solüsyonuna aktarılan materyal miktarları, artifisyonel açıklıkları 1/3 olanlarda ($11,404 \pm 14,072$), artifisyonel açıklıkları olmayanlardan ($2,167 \pm 3,843$) ve artifisyonel açıklıkları 1/3'ten az olanlardan ($8,793 \pm 19,211$) yüksek bulunmuştur. TP PreservCyt[®] solüsyonuna aktarılan materyal miktarları, artifisyonel açıklıkları 1/3 - 2/3 arasında olanlarda ($8,088 \pm 7,758$), artifisyonel açıklıkları olmayanlardan ($2,167 \pm 3,843$) yüksek bulunmuştur; artifisyonel açıklıkları 1/3'ten az olanlarda ($8,793 \pm 19,211$), artifisyonel açıklıkları 1/3 - 2/3 arası olanlardan ($8,088 \pm 7,758$) yüksek bulunmuştur.

Benign efüzyonlarda, TP PreservCyt[®] solüsyonuna aktarılabilecek materyalin dilüsyonunu ve miktarını kontrol ederek artifisyonel açıklıklar azaltılabilir.

Tablo 16. Benign Efüzyonlarda Artifişyel Açıklıkların Bazı Teknik Parametreler İle İlişkiş

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltili İle Yıkama Sayısı	Yok	7	2,143	0,690	4,684	0,321
	<1/3	52	2,423	0,893		
	1/3	36	2,139	0,899		
	1/3 - 2/3	54	2,148	0,899		
	>2/3	4	2,750	0,500		
CytoLyt® Çözeltili İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	7	2,500	0,957	8,239	0,083
	<1/3	47	4,457	4,807		
	1/3	28	3,482	6,355		
	1/3 - 2/3	40	2,763	3,367		
	>2/3	4	0,750	0,289		
CytoLyt® Çözeltili İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	6	3,167	0,983	5,837	0,212
	<1/3	43	5,163	4,276		
	1/3	27	4,741	6,042		
	1/3 - 2/3	39	3,949	2,819		
	>2/3	4	2,500	0,577		
CytoLyt® Çözeltili İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	5	2,000	0,707	13,788	0,008
	<1/3	39	3,410	2,922		
	1/3	23	2,261	2,383		
	1/3 - 2/3	39	1,846	1,607		
	>2/3	4	0,750	0,289		
CytoLyt® Çözeltili İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	5	2,400	0,548	11,587	0,021
	<1/3	39	4,130	2,419		
	1/3	23	3,650	1,799		
	1/3 - 2/3	39	3,050	1,025		
	>2/3	4	2,750	0,500		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	6	2,167	3,843	15,342	0,004
	<1/3	46	8,793	19,211		
	1/3	26	11,404	14,072		
	1/3 - 2/3	40	8,088	7,758		
	>2/3	4	4,250	4,031		

Tablo 17’de değeriendirilen parametreler arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p>0.05) (Tablo 17).

Tablo 17. Benign Efüzyonlarda Artifisyonel Açıklıkların Bazı Sitolojik Parametreler İle İlişkisi

		Yok		<1/3		1/3		1/3 - 2/3		>2/3		p
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
TP Preparatında Kalan Ekstrasellüler Kalıntı Materyali	Yok	4	%57,1	10	%19,2	8	%22,2	4	%7,4	0	%0	$X^2=15,893$ $p=0,196$
	+	1	%14,3	13	%25,0	11	%30,6	19	%35,2	2	%50,0	
	++	2	%28,6	19	%36,5	11	%30,6	20	%37,0	2	%50,0	
	+++	0	%0	10	%19,2	6	%16,7	11	%20,4	0	%0	
TP Preparatında Kalan Eritrosit Debrisi	Yok	5	%71,4	43	%82,7	28	%80,0	48	%88,9	4	%100	$X^2=10,476$ $p=0,574$
	+	1	%14,3	5	%9,6	1	%2,9	3	%5,6	0	%0	
	++	0	%0	2	%3,8	1	%2,9	2	%3,7	0	%0	
	+++	1	%14,3	2	%3,8	5	%14,3	1	%1,9	0	%0	
Hücresellik	Aynı	3	%42,9	10	%19,2	4	%11,1	16	%29,6	2	%50,0	$X^2=11,713$ $p=0,164$
	İyi	4	%57,1	42	%80,8	31	%86,1	35	%64,8	2	%50,0	
	Kötü	0	%0	0	%0	1	%2,8	3	%5,6	0	%0	

Malign efüzyonlarda, Tablo 18’de görülen parametrelerin miktar ortalamalarının artifisyonel açıklık değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktar ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Tablo 18).

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı parametresi açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarları, artifisyonel açıklıkları olmayanlarda ($9,286 \pm 6,701$) ve artifisyonel açıklıkları 1/3’ten az olanlarda ($6,237 \pm 5,831$), artifisyonel açıklıkları 1/3 olanlardan ($2,821 \pm 3,074$) yüksek bulunmuştur.

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı parametresi açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarları, artifisyonel açıklıkları olmayanlarda ($8,571 \pm 4,315$), artifisyonel açıklıkları 1/3’ten az olanlardan ($5,056 \pm 4,419$), artifisyonel açıklıkları 1/3 olanlardan ($2,385 \pm 1,917$) ve artifisyonel açıklıkları 1/3 - 2/3 arasında olanlardan ($3,333 \pm 3,830$) yüksek bulunmuştur; artifisyonel

açıklıkları 1/3'ten az olanlarda ($5,056 \pm 4,419$), artifisyonel açıklıkları 1/3 olanlardan ($2,385 \pm 1,917$) yüksek bulunmuştur.

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı parametresi açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarları, artifisyonel açıklıkları olmayanlarda ($8,570 \pm 4,315$), artifisyonel açıklıkları 1/3'ten az olanlardan ($5,610 \pm 3,988$), artifisyonel açıklıkları 1/3 olanlardan ($3,460 \pm 1,050$) ve artifisyonel açıklıkları 1/3 - 2/3 arasında olanlardan ($4,330 \pm 3,266$) yüksek bulunmuştur.

Malign efüzyonlarda, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi ve sonrası dipte kalan pellet miktarları azaldıkça artifisyonel açıklıklar genişlemektedir.

Tablo 18. Malign Efüzyonlarda Artifisyonel Açıklıkların Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Yok	10	2,200	0,919	3,006	0,391
	<1/3	51	2,275	0,896		
	1/3	22	1,955	0,899		
	1/3 - 2/3	13	1,923	0,954		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	7	9,286	6,701	8,637	0,035
	<1/3	40	6,237	5,831		
	1/3	14	2,821	3,074		
	1/3 - 2/3	7	4,286	4,071		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	7	9,286	6,701	6,703	0,082
	<1/3	39	6,487	4,291		
	1/3	14	4,000	2,321		
	1/3 - 2/3	7	5,571	3,824		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	7	8,571	4,315	11,680	0,009
	<1/3	36	5,056	4,419		
	1/3	13	2,385	1,917		
	1/3 - 2/3	6	3,333	3,830		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	7	8,570	4,315	9,802	0,020
	<1/3	36	5,610	3,988		
	1/3	13	3,460	1,050		
	1/3 - 2/3	6	4,330	3,266		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	8	8,750	20,833	6,801	0,079
	<1/3	40	4,312	10,590		
	1/3	14	6,586	15,746		
	1/3 - 2/3	7	12,214	21,467		

Tablo 19’da değeriendirilen parametreler arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 19).

Tablo 19. Malign Olgularda Artifişyel Açıklıkların Bazı Sitolojik Parametreler İle İlişkisi

		Yok		<1/3		1/3		1/3 - 2/3		p
		n	%	n	%	n	%	n	%	
Hücresellik	Aynı	5	%50,0	22	%43,1	6	%27,3	4	%30,8	$X^2=5,173$ $p=0,522$
	İyi	5	%50,0	28	%54,9	16	%72,7	8	%61,5	
	Kötü	0	%0	1	%2,0	0	%0	1	%7,7	
TP Preparatında Kalan Ekstrasellüler Kalıntı Materyali	Yok	4	%40,0	11	%21,6	4	%18,2	2	%15,4	$X^2=6,885$ $p=0,649$
	+	0	%0,0	16	%31,4	7	%31,8	3	%23,1	
	++	2	%20,0	8	%15,7	5	%22,7	4	%30,8	
	+++	4	%40,0	16	%31,4	6	%27,3	4	%30,8	
TP Preparatında Kalan Eritrosit Debrisi	Yok	5	%50,0	37	%72,5	21	%95,5	10	%76,9	$X^2=10,909$ $p=0,282$
	+	2	%20,0	6	%11,8	1	%4,5	0	%0,0	
	++	1	%10,0	3	%5,9	0	%0,0	1	%7,7	
	+++	2	%20,0	5	%9,8	0	%0,0	2	%15,4	

4.5.5. THINPREP® PREPARATINDA KALAN ERİTROSİT DEBRİSİ

TP preparatında zeminde kalan eritrosit debrisı, yoğunluğuna göre derecelendirildi ve şu sonuçlar alındı: Olguların 203’ünde (%81.2) debri yoktu; 19’unda (%7.6) +, 10’unda (%4) ++, 18’inde (%7.2) +++ yoğunlukta idi.

Benign ve malign efüzyonlarda TP preparatında kalan eritrosit debrisinin ilişkili olabileceği düşünölen bir takım parametreler ile istatistiksel anlamlılığı araştırıldı. Bu parametreler ve istatistiksel sonuçlar, Tablo 20 ve 21’de görölmektedir.

Benign efüzyonlarda, Tablo 20’de gösterilen parametrelerin miktar ortalamalarının TP preparatında kalan eritrosit debrisı değışkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı ve CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 20).

CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarları, TP preparatında kalan eritrosit debris +++ olanlarda ($11,857 \pm 11,725$), TP preparatında eritrosit debris kalmayanlardan ($2,885 \pm 3,343$) yüksek bulunmuştur.

CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarları, TP preparatında kalan eritrosit debris +++ olanlarda ($6,500 \pm 3,000$), TP preparatında eritrosit debris kalmayanlardan ($2,313 \pm 2,289$) ve TP preparatında kalan eritrosit debris + olanlardan ($1,917 \pm 1,201$) yüksek bulunmuştur.

CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarları, TP preparatında kalan eritrosit debris +++ olanlarda ($6,750 \pm 2,754$), TP preparatında eritrosit debris kalmayanlardan ($3,430 \pm 1,739$), TP preparatında kalan eritrosit debris + olanlardan ($3,000 \pm 0,632$) ve TP preparatında kalan eritrosit debris ++ olanlardan ($2,500 \pm 0,707$) yüksek bulunmuştur.

Tablo 20. Benign Efüzyonlarda ThinPrep® Preparatında Kalan Eritrosit Debrisinin Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Yok	129	2,248	0,875	0,533	0,911
	+	10	2,400	0,843		
	++	5	2,200	0,837		
	+++	9	2,444	1,130		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	109	2,885	3,343	9,430	0,024
	+	7	4,500	4,752		
	++	4	2,500	0,577		
	+++	7	11,857	11,725		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	103	3,951	2,673	5,988	0,112
	+	7	5,143	4,413		
	++	4	3,000	0,000		
	+++	6	13,500	11,929		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	99	2,313	2,289	8,252	0,041
	+	6	1,917	1,201		
	++	2	2,000	0,000		
	+++	4	6,500	3,000		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	99	3,430	1,739	11,435	0,010
	+	6	3,000	0,632		
	++	2	2,500	0,707		
	+++	4	6,750	2,754		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	108	7,991	13,394	1,802	0,615
	+	6	8,083	6,931		
	++	4	28,125	31,306		
	+++	5	8,100	12,512		

Malign efüzyonlarda, Tablo 21’de görülen parametrelerin ortalamalarının TP preparatında kalan eritrosit debrisini açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 21).

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarları, TP preparatında kalan eritrosit debrisini +++ olanlarda ($17,500 \pm 7,141$), TP preparatında eritrosit debrisini

kalmayanlardan ($4,620 \pm 4,094$), TP preparatında kalan eritrosit debris + olanlardan ($5,583 \pm 7,749$) ve TP preparatında kalan eritrosit debris ++ olanlardan ($7,750 \pm 4,856$) yüksek bulunmuştur.

CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama öncesi pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt[®] çözeltisi ile yıkama öncesi pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarları, TP preparatında kalan eritrosit debris +++ olanlarda ($14,000 \pm 3,742$), TP preparatında eritrosit debris kalmayanlardan ($5,352 \pm 3,416$) yüksek bulunmuştur.

TP PreservCyt[®] solüsyonuna aktarılan materyal miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, TP PreservCyt[®] solüsyonuna aktarılan materyal miktarları, TP preparatında kalan eritrosit debris + olanlarda ($24,333 \pm 28,188$), TP preparatında eritrosit debris kalmayanlardan ($3,522 \pm 9,113$) yüksek bulunmuştur; TP preparatında kalan eritrosit debris +++ olanlarda ($18,750 \pm 27,645$), TP preparatında eritrosit debris kalmayanlardan ($3,522 \pm 9,113$) ve TP preparatında kalan eritrosit debris ++ olanlardan ($1,375 \pm 1,750$) yüksek bulunmuştur.

Tablo 21. Malign Efüzyonlarda ThinPrep® Preparatında Kalan Eritrosit Debrisinin Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Yok	73	2,219	0,901	4,299	0,231
	+	9	1,667	0,866		
	++	5	2,400	0,894		
	+++	9	1,889	0,928		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	54	4,620	4,094	10,214	0,017
	+	6	5,583	7,749		
	++	4	7,750	4,856		
	+++	4	17,500	7,141		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	54	5,352	3,416	11,079	0,011
	+	5	7,400	7,701		
	++	4	7,750	4,856		
	+++	4	14,000	3,742		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	52	4,269	3,938	4,862	0,182
	+	3	6,333	6,658		
	++	4	6,000	6,218		
	+++	3	9,333	3,055		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	52	5,000	3,413	4,797	0,187
	+	3	6,330	6,658		
	++	4	6,500	5,745		
	+++	3	9,330	3,055		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	55	3,522	9,113	11,645	0,009
	+	6	24,333	28,188		
	++	4	1,375	1,750		
	+++	4	18,750	27,645		

Her iki grupta elde edilen istatistik verileri, teknik uygulama süreci ile bir arada değerlendirildiğinde TP preparatı hazırlama sürecindeki hemoliz ile, efüzyondaki eritrositlerin büyük oranda yok edilebildiği; ancak eritrosit yoğunluğu fazla olan efüzyonlarda TP preparatının teknik kalitesini olumsuz etkileyen artıkların kaldığı saptandı.

4.5.6. THINPREP® PREPARATINDAKİ EKSTRASELLÜLER MATERYAL KALINTISI

TP preparatındaki ekstrasellüler materyal kalıntısı, yoğunluğuna göre 4 kategoride değerlendirildi: Olguların 47'sinde (%18.8) kalıntı yoktu; 73'ünde (%29.2) +, 73'ünde (%29.2) ++, 57'sinde (%22.8) +++ yoğunlukta kalıntı bulundu.

Benign ve malign efüzyonlarda, TP preparatındaki ekstrasellüler materyal kalıntısının ilişkili olabileceği düşünülen bir takım parametreler ile istatistiksel anlamlılığı araştırıldı. Bu parametreler ve istatistiksel sonuçlar, Tablo 22 ve 23'te görülmektedir.

Benign efüzyonlarda, Tablo 22'de görülen parametrelerin miktar ortalamalarının TP preparatındaki ekstrasellüler materyal kalıntısı değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 22).

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayıları, TP preparatında ekstrasellüler materyal kalıntısı olmayanlarda ($2,385 \pm 0,852$), ekstrasellüler materyal kalıntısı + olanlarda ($2,277 \pm 0,852$) ve ekstrasellüler materyal kalıntısı ++ olanlarda ($2,426 \pm 0,860$), TP preparatındaki ekstrasellüler materyal kalıntısı +++ olanlardan ($1,778 \pm 0,892$) yüksek bulunmuştur.

Tablo 22. Benign Efüzyonlarda ThinPrep® Preparatındaki Ekstrasellüler Materyal Kalıntısının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Yok	26	2,385	0,852	9,968	0,019
	+	47	2,277	0,852		
	++	54	2,426	0,860		
	+++	27	1,778	0,892		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	24	3,146	2,819	2,608	0,456
	+	42	2,881	3,997		
	++	46	3,978	5,899		
	+++	15	3,967	4,414		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	24	3,958	2,368	0,065	0,996
	+	39	4,231	3,535		
	++	43	4,977	5,527		
	+++	14	4,429	3,715		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	22	2,409	2,119	5,457	0,141
	+	37	1,973	2,208		
	++	39	2,769	2,328		
	+++	13	2,808	3,257		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	22	3,360	1,787	0,938	0,816
	+	37	3,380	1,587		
	++	39	3,670	1,707		
	+++	13	3,690	2,840		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	23	5,717	12,576	4,026	0,259
	+	39	9,218	10,532		
	++	46	9,935	18,094		
	+++	15	7,767	11,480		

Malign efüzyonlarda, Tablo 23’de görülen parametrelerin miktar ortalamalarının TP preparatındaki ekstrasellüler materyal kalıntısı değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 23).

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarları, TP preparatında ekstrasellüler materyal kalıntısı olmayanlarda ($8,714 \pm 3,539$), ekstrasellüler materyal kalıntısı + olanlardan ($5,238 \pm 4,679$), ekstrasellüler materyal kalıntısı ++ olanlardan ($5,200 \pm 2,884$) ve ekstrasellüler materyal kalıntısı +++ olanlardan ($6,059 \pm 5,166$) yüksek bulunmuştur.

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarları, TP preparatında ekstrasellüler materyal kalıntısı olmayanlarda ($8,464 \pm 4,379$), ekstrasellüler materyal kalıntısı + olanlardan ($3,806 \pm 4,363$), ekstrasellüler materyal kalıntısı ++ olanlardan ($3,286 \pm 2,751$) ve ekstrasellüler materyal kalıntısı +++ olanlardan ($3,750 \pm 3,430$) yüksek bulunmuştur.

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarları, TP preparatında ekstrasellüler materyal kalıntısı olmayanlarda ($8,640 \pm 4,069$), ekstrasellüler materyal kalıntısı + olanlardan ($4,670 \pm 3,926$), ekstrasellüler materyal kalıntısı ++ olanlardan ($4,070 \pm 2,165$) ve ekstrasellüler materyal kalıntısı +++ olanların ($4,440 \pm 2,920$) yüksek bulunmuştur.

Tablo 23. Malign Efüzyonlarda ThinPrep® Preparatındaki Ekstrasellüler Materyal Kalıntısının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Yok	21	2,095	0,831	3,444	0,328
	+	26	2,346	0,846		
	++	19	2,263	0,991		
	+++	30	1,933	0,944		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	15	8,467	5,498	7,433	0,059
	+	21	4,548	6,199		
	++	15	4,367	3,259		
	+++	17	5,647	5,806		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	14	8,714	3,539	9,998	0,019
	+	21	5,238	4,679		
	++	15	5,200	2,884		
	+++	17	6,059	5,166		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	14	8,464	4,379	13,064	0,005
	+	18	3,806	4,363		
	++	14	3,286	2,751		
	+++	16	3,750	3,430		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	14	8,640	4,069	14,982	0,002
	+	18	4,670	3,926		
	++	14	4,070	2,165		
	+++	16	4,440	2,920		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	16	2,500	4,219	3,780	0,286
	+	21	8,286	18,408		
	++	15	6,567	15,244		
	+++	17	6,335	14,230		

İstatistiksel veriler, TP preparasyonu sırasında yıkama aşamasının ve aşamadaki basamakları geçerken çalışılan materyalin miktar kontrolünün önemini yansıtmaktadır.

4.5.7. THINPREP® YÖNTEMİNİN SİTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMeye EKSTRA KATKISI

Her iki yöntemle hazırlanmış preparatların kıyaslanma aşamasının sonunda, TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısının olup olmadığı irdelendi. 49 (%19.6) olguda katkısının olmadığı düşünüldü; 137 (%54.8) olguda biraz katkı sunduğu; diğer olguların 50'sinde (%20) katkısının iyi, 14'ünde (%5.6) çok iyi olduğu kararına varıldı.

Benign ve malign efüzyonlarda, TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye sunacağı ekstra katkı ile ilişkili olabileceği düşünülen bir takım parametreler ile istatistiksel anlamlılığı araştırıldı. Bu parametreler ve istatistiksel sonuçlar, Tablo 24, 25, 26 ve 27’de görülmektedir.

Benign efüzyonlarda, Tablo 24’de görülen parametrelerin miktar ortalamalarının TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 24).

TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarları, TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı iyi olanlarda ($17,333 \pm 23,285$), TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı biraz var olanlardan ($5,581 \pm 8,091$) yüksek bulunmuştur.

Tablo 24. Benign Efüzyonlarda ThinPrep® Yönteminin Sitopatolojik Değerlendirmeye Ekstra Katkısının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Yok	29	1,897	0,900	5,757	0,056
	Biraz Var	86	2,337	0,876		
	İyi	35	2,371	0,843		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	17	2,441	3,561	2,680	0,262
	Biraz Var	75	3,787	5,013		
	İyi	32	3,359	4,444		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	16	3,625	2,553	5,493	0,064
	Biraz Var	71	4,817	4,652		
	İyi	31	4,194	3,859		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	16	2,281	3,225	2,284	0,319
	Biraz Var	70	2,621	2,343		
	İyi	24	2,062	1,796		
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	16	3,560	2,707	3,294	0,193
	Biraz Var	70	3,640	1,778		
	İyi	24	3,120	1,227		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	17	5,912	5,406	8,985	0,011
	Biraz Var	74	5,581	8,091		
	İyi	30	17,333	23,285		

Tablo 25’de değerlendirilen parametreler arasında KS eritrosit miktarı, KS preparatının kalitesi, hücresellik, çekirdek özellikleri, sitoplazma özellikleri, ekstrasellüler materyalin eşlik ettiği olgularda preparasyon kalitesi, eritrositlerin eşlik ettiği olgularda preparasyon kalitesi, piknoz, artifisyel açıklıklar arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 25).

Tablo 25. Benign Efüzyonlarda ThinPrep® Yönteminin Sitopatolojik Değerlendirmeye Ekstra Katkısının Bazı Sitolojik Parametreler İle İlişkisi

		Yok		Biraz Var		İyi		p
		n	%	n	%	n	%	
KS Ekstrasellüler Materyal Miktarı	Yok	0	%0,0	0	%0,0	1	%2,9	$X^2=5,59$ $p=0,47$
	+	7	%24,1	30	%34,9	11	%31,4	
	++	18	%62,1	46	%53,5	21	%60,0	
	+++	4	%13,8	10	%11,6	2	%5,7	
KS Eritrosit Miktarı	Yok	14	%48,3	28	%32,6	9	%25,7	$X^2=14,68$ $p=0,02$
	+	3	%10,3	16	%18,6	4	%11,4	
	++	10	%34,5	14	%16,3	7	%20,0	
	+++	2	%6,9	28	%32,6	15	%42,9	
KS Preparatının Kalitesi	1	1	%3,4	4	%4,7	11	%31,4	$X^2=33,00$ $p=0,00$
	2	10	%34,5	22	%25,6	13	%37,1	
	3	16	%55,2	37	%43,0	10	%28,6	
	4	2	%6,9	23	%26,7	1	%2,9	
Hücresellik	Aynı	17	%58,6	19	%22,1	0	%0,0	$X^2=51,62$ $p=0,00$
	İyi	8	%27,6	67	%77,9	35	%100,0	
	Kötü	4	%13,8	0	%0,0	0	%0,0	
Çekirdek Özellikleri	Aynı	22	%75,9	7	%8,1	1	%2,9	$X^2=94,08$ $p=0,00$
	İyi	3	%10,3	79	%91,9	34	%97,1	
	Kötü	4	%13,8	0	%0,0	0	%0,0	
Sitoplazma Özellikleri	Aynı	23	%79,3	34	%39,5	1	%2,9	$X^2=69,09$ $p=0,00$
	İyi	1	%3,4	52	%60,5	34	%97,1	
	Kötü	5	%17,2	0	%0,0	0	%0,0	
Ekstrasellüler Materyalin Eşlik Ettiği Olgularda Preparasyon Kalitesi	Aynı	22	%91,7	6	%7,0	0	%0,0	$X^2=97,41$ $p=0,00$
	İyi	2	%8,3	80	%93,0	35	%100,0	
Eritrositlerin Eşlik Ettiği Olgularda Preparasyon Kalitesi	Aynı	13	%92,9	6	%9,5	0	%0,0	$X^2=60,74$ $p=0,00$
	İyi	1	%7,1	57	%90,5	26	%100,0	
Piknoz	Yok	8	%27,6	35	%40,7	14	%40,0	$X^2=9,74$ $p=0,05$
	Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor	10	%34,5	40	%46,5	16	%45,7	
	Var,	11	%37,9	11	%12,8	5	%14,3	

	Değerlendirmeyi Etkiliyor							
Periferal Rim Artefaktı	Var; 1/3 Ve Az	4	%16,7	10	%12,2	1	%2,9	$X^2=7,87$ $p=0,10$
	1/3 - 2/3	4	%16,7	34	%41,5	15	%44,1	
	2/3den Fazla	16	%66,7	38	%46,3	18	%52,9	
Artifisyonel Açıklıklar	Yok	0	%0,0	5	%5,8	2	%5,7	$X^2=19,56$ $p=0,01$
	<1/3	3	%10,7	34	%39,5	14	%40,0	
	1/3	7	%25,0	19	%22,1	8	%22,9	
	1/3 - 2/3	15	%53,6	28	%32,6	10	%28,6	
	>2/3	3	%10,7	0	%0,0	1	%2,9	
TP Preparatında Kalan Eritrosit Debrisi	Yok	26	%89,7	73	%85,9	27	%77,1	$X^2=6,66$ $p=0,35$
	+	2	%6,9	5	%5,9	3	%8,6	
	++	1	%3,4	1	%1,2	3	%8,6	
	+++	0	%0,0	6	%7,1	2	%5,7	
TP Preparatında Kalan Ekstrasellüler Materyal Kalıntısı	Yok	3	%10,3	19	%22,1	3	%8,6	$X^2=11,87$ $p=0,07$
	+	7	%24,1	27	%31,4	12	%34,3	
	++	9	%31,0	31	%36,0	12	%34,3	
	+++	10	%34,5	9	%10,5	8	%22,9	

Malign efüzyonlarda, Tablo 26’de görülen parametrelerin miktar ortalamalarının TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı değişkeni açısından anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan Kruskal Wallis H-Testi sonuçlarına göre, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 26).

TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı ortalamaları açısından, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek üzere Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Buna göre, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarları, TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı çok iyi olanlarda ($19,333 \pm 23,227$), TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı olmayanlardan ($1,000 \pm 1,155$), TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı biraz var olanlardan ($3,878 \pm 10,980$) ve TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı iyi olanlardan ($7,131 \pm 16,197$) yüksek bulunmuştur.

Benign ve malign efüzyonlarda, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarları, kontrollü olarak, yüksek tutulabildiğinde sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı olan kaliteli preparatlar elde edilmektedir.

Tablo 26. Malign Efüzyonlarda ThinPrep® Yönteminin Sitopatolojik Değerlendirmeye Ekstra Katkısının Bazı Teknik Parametreler İle İlişkisi

		N	Ort	Ss	KW	p
CytoLyt® Çözeltisi İle Yıkama Sayısı	Yok	20	1,950	0,999	3,921	0,270
	Biraz Var	51	2,118	0,909		
	İyi	15	2,533	0,834		
	Çok İyi	10	2,100	0,738		
CytoLyt® Çözeltisi ile Yıkama Öncesi Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	10	7,150	4,643	5,931	0,115
	Biraz Var	36	5,750	5,227		
	İyi	13	3,577	4,645		
	Çok İyi	9	6,556	8,320		
CytoLyt® Çözeltisi ile Yıkama Öncesi Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	10	7,500	4,170	4,770	0,189
	Biraz Var	35	6,200	4,310		
	İyi	13	4,538	3,503		
	Çok İyi	9	6,889	5,862		
CytoLyt® Çözeltisi ile Yıkama Sonrası Dipte Kalan Pellet Miktarı	Yok	10	6,800	5,959	6,120	0,106
	Biraz Var	33	4,985	3,874		
	İyi	12	2,708	2,369		
	Çok İyi	7	4,000	4,891		
CytoLyt® Çözeltisi ile Yıkama Sonrası Pellet Üzerinde Bırakılan Süpernatant Miktarı	Yok	10	7,300	5,478	3,181	0,365
	Biraz Var	33	5,390	3,544		
	İyi	12	3,750	1,603		
	Çok İyi	7	5,290	3,946		
TP PreservCyt® Solüsyonuna Aktarılan Materyal Miktarı	Yok	10	1,000	1,155	22,074	0,000
	Biraz Var	37	3,878	10,980		
	İyi	13	7,131	16,197		
	Çok İyi	9	19,333	23,227		

Tablo 27’de görülen parametrelerden KS preparatının kalitesi, hücresellik, çekirdek özellikleri, sitoplazma özellikleri, ekstrasellüler materyalin eşlik ettiği olgularda preparasyon kalitesi, eritrositlerin eşlik ettiği olgularda preparasyon kalitesi, piknoz, periferik rim artefaktı, TP preparatında kalan eritrosit debris parametreleri arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 27).

Tablo 27. Malign Efüzyonlarda ThinPrep® Yönteminin Sitopatolojik Değerlendirmeye Ekstra Katkısının Bazı Sitolojik Parametreler İle İlişkisi

		Yok		Biraz Var		İyi		Çok İyi		p
		n	%	n	%	n	%	n	%	
KS Ekstrasellüler Materyal Miktarı	+	7	%35,0	12	%23,5	2	%13,3	2	%20,0	$X^2=3,811$ $p=0,702$
	++	9	%45,0	32	%62,7	9	%60,0	6	%60,0	
	+++	4	%20,0	7	%13,7	4	%26,7	2	%20,0	
KS Eritrosit Miktarı	Yok	7	%35,0	12	%23,5	5	%33,3	3	%30,0	$X^2=6,386$ $p=0,701$
	+	3	%15,0	13	%25,5	2	%13,3	0	%0,0	
	++	3	%15,0	6	%11,8	3	%20,0	1	%10,0	
	+++	7	%35,0	20	%39,2	5	%33,3	6	%60,0	
KS Preparatının Kalitesi	1	2	%10,0	2	%3,9	0	%0,0	6	%60,0	$X^2=49,165$ $p=0,000$
	2	2	%10,0	3	%5,9	4	%26,7	2	%20,0	
	3	9	%45,0	12	%23,5	8	%53,3	2	%20,0	
	4	7	%35,0	34	%66,7	3	%20,0	0	%0,0	
Hücresellik	Aynı	12	%60,0	25	%49,0	0	%0,0	0	%0,0	$X^2=31,538$ $p=0,000$
	İyi	6	%30,0	26	%51,0	15	%100,0	10	%100,0	
	Kötü	2	%10,0	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0	
Çekirdek Özellikleri	Aynı	13	%65,0	4	%7,8	0	%0,0	0	%0,0	$X^2=44,583$ $p=0,000$
	İyi	6	%30,0	47	%92,2	15	%100,0	10	%100,0	
	Kötü	1	%5,0	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0	
Sitoplazma Özellikleri	Aynı	15	%75,0	4	%7,8	0	%0,0	1	%10,0	$X^2=45,456$ $p=0,000$
	İyi	5	%25,0	47	%92,2	15	%100,0	9	%90,0	
Ekstrasellüler Materyalin Eşlik Ettiği Olgularda Preparasyon Kalitesi	Aynı	12	%63,2	5	%9,8	0	%0,0	0	%0,0	$X^2=34,215$ $p=0,000$
	İyi	7	%36,8	46	%90,2	15	%100,0	10	%100,0	
Eritrositlerin Eşlik Ettiği Olgularda Preparasyon Kalitesi	Aynı	9	%60,0	4	%8,7	0	%0,0	0	%0,0	$X^2=28,560$ $p=0,000$
	İyi	6	%40,0	42	%91,3	13	%100,0	10	%100,0	
Piknoz	Yok	7	%35,0	26	%51,0	8	%53,3	9	%90,0	$X^2=17,812$ $p=0,007$
	Var, Değerlendirmeyi Etkilemiyor	8	%40,0	23	%45,1	7	%46,7	1	%10,0	
	Var, Değerlendirmeyi Etkiliyor	5	%25,0	2	%3,9	0	%0,0	0	%0,0	
Periferal Rim Artefaktı	Var; 1/3 Ve Az	5	%25,0	17	%33,3	2	%13,3	1	%11,1	$X^2=17,587$ $p=0,007$
	1/3 - 2/3	7	%35,0	23	%45,1	13	%86,7	3	%33,3	
	2/3den Fazla	8	%40,0	11	%21,6	0	%0,0	5	%55,6	

Artifisyonel Açıklıklar	Yok	1	%5,0	8	%15,7	0	%0,0	1	%10,0	$X^2=14,174$ $p=0,116$
	<1/3	8	%40,0	28	%54,9	9	%60,0	6	%60,0	
	1/3	5	%25,0	10	%19,6	6	%40,0	1	%10,0	
	1/3 - 2/3	6	%30,0	5	%9,8	0	%0,0	2	%20,0	
TP Preparatında Kalan Eritrosit Debrisi	Yok	12	%60,0	43	%84,3	13	%86,7	5	%50,0	$X^2=21,674$ $p=0,010$
	+	3	%15,0	2	%3,9	1	%6,7	3	%30,0	
	++	4	%20,0	1	%2,0	0	%0,0	0	%0,0	
	+++	1	%5,0	5	%9,8	1	%6,7	2	%20,0	
TP Preparatında Kalan Ekstrasellüler Materyal Kalıntısı	Yok	4	%20,0	15	%29,4	1	%6,7	1	%10,0	$X^2=6,262$ $p=0,713$
	+	5	%25,0	12	%23,5	6	%40,0	3	%30,0	
	++	5	%25,0	10	%19,6	2	%13,3	2	%20,0	
	+++	6	%30,0	14	%27,5	6	%40,0	4	%40,0	

İstatistiksel değerlendirmeler sonucunda,

- bol kanlı efüzyonlarda, kaliteli KS preparat elde edilemediği durumlarda;
- hücre yoğunluğu iyi ayarlanmış, hücrelerin çekirdek ve sitoplazma özelliklerinin iyi görüldüğü, piknotik değişikliklerin yok ya da az olduğu TP preparatları oluşturulduğunda;
- efüzyon sıvısının eritrosit ve ekstrasellüler materyal içeriği ile başa çıkılarak kaliteli TP preparatı hazırlandığında

hem benign, hem de malign efüzyonlarda, TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye belirgin olarak ekstra katkı sunduğu saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Benign ya da malign pek çok farklı nedene bağlı olarak SE ortaya çıkmaktadır (3, 4). SE sitolojisinde esas amaç, eğer varsa, sıvıda malign hücre içeriğini tespit etmektir (4).

SE, malign tümörlerin ilk bulgusu olabilmektedir (3, 37). SE’da malign tümör yayılımı, kötü prognoz göstergesi olup tedavi protokolünün değişmesine neden olmaktadır (1). Bu nedenlerden dolayı, SE materyalinden tanısal preparatlar hazırlamak çok büyük önem taşımaktadır; bu süreçte mümkün olduğunca az hücre kaybı olmalı ve hücrelerin sitomorfolojik özellikleri olabildiğince korunmalıdır (4).

KS yöntemleri, sitoloji uygulamasında, yüzyılı aşkın süredir kullanılmaktadır (3, 5). Ancak sahip oldukları birtakım olumsuzluklar nedeniyle tanısal doğruluk oranları düşük kalabilmektedir. (44). Bu nedenle, KS yöntemlerine alternatif olarak, yeni nesil teknoloji olan SBS yöntemleri, sitolojide yaygın olarak kullanıma girmiştir (34). İlk başlarda jinekolojik sitoloji materyallerinde kullanıma giren SBS yöntemleri, son on yıl içinde, jinekoloji dışı sitoloji materyallerinde de kullanılmaya başlanmış ve kullanımları giderek yaygınlaşmıştır (19).

SBS yöntemlerinden, FDA onaylı iki yöntemden biri olan ThinPrep® (CytycCorp, Marlborough, MA) SBS yöntemi, sıvı içinde homojenize olmuş hücreleri, filtrenin üzerine ince bir tabaka halinde toplayıp lama aktarma prensibine; diğer yöntem olan SurePath® (TriPath Imaging Inc., Burlington, NC) SBS yöntemi ise santrifüj ile dansite gradyanı ve hücre sedimenti oluşturup bu sedimenti yayma prensibine dayanmaktadır (6).

Çalışmamızda, bölümümüze yeni kurulan ve SE materyallerinden preparat hazırlamada kullanılmaya başlanan TP-SBS yöntemi, belirlenen sitomorfolojik ve teknik özellikler bakımından KS yöntemiyle karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma sonucunda, TP-SBS yönteminin olumlu katkı sunduğu, daha geri planda kaldığı ya da herhangi bir ek katkı sunmadığı alanlar belirlenerek SBS yönteminin rutin kullanımında karşılaşılabilecek sitomorfolojik ve teknik olumsuzlukların önlenbilmesinin yolları araştırıldı.

TP-SBS preparatı ile KS preparatının kıyaslamasında, hem benign, hem de malign efüzyonlarda, TP-SBS preparatlarında teknik kalite belirgin düzeyde (%78-84) yüksek bulundu. Bu preparatlarda hücre yoğunluğu çoğunlukla iyiydi; genel hücre morfolojisini ve sitomorfolojik ayrıntıları yansıtmaya açısından da oldukça üstündüler. Hücre boyutları, çoğunlukla (%76-92) daha küçük görüldü. Yuvarlak olmayan hücre şekillerinin önemli

oranda (%63.6) yuvarlaklaştığı saptandı. Bu bulgular, literatürde tanımlanan TP yönteminin KS yöntemine göre avantajları ve dezavantajları ile uyum göstermekteydi (1, 6, 7).

TP-SBS preparatındaki hücre dağılım paternleri, KS preparatta görülenlerden farklı değildi; yapısal özelliklerde de anlamlı bir değişiklik görülmedi. Bu bulgular, literatürde tanımlanan SBS yönteminin özellikleri ile bağdaşmamaktadır. Literatürde, SBS yönteminin, grupların kohezyonunu azaltıp hücreleri daha tek tek durmaya eğilimli hale getirdiği ve böylece hücresel özelliklerinin daha iyi seçilebilir olmasına olanak verdiği belirtilmektedir (6, 45).

TP-SBS preparatında saptanan piknoz, periferik rim artefaktı, artifisyonel açıklıklar, TP preparatında kalan eritrosit debris ve TP preparatında ekstrasellüler materyal kalıntısı gibi olumsuz teknik özelliklerin, birtakım diğer teknik ve bazı sitolojik parametreler ile aralarındaki ilişki istatistiksel olarak araştırıldı.

Benign efüzyonlarda, piknoz değişkeni açısından değerlendirilen parametrelerden KS preparatın kalitesi ve hücre çekirdek/sitoplazma oranı ile piknoz arasında anlamlı ilişki bulundu (Tablo 9).

Çalışma sürecinde edindiğimiz izlenim, sitoplazması geniş olan benign hücrelerin daha çok piknoza uğradığı yönünde idi. İstatistiksel veriler, çekirdek/sitoplazma oranı, çekirdek lehine olan mezotel hücre grubunda diğer gruptakilere oranla, anlamlı düzeyde, daha az piknozun görüldüğünü yansıtmaktadır; bu sonuç, izlenimimizi doğrular nitelikteydi.

Malign olgularda, piknoz değişkeni açısından değerlendirilen hiçbir parametre ile anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 10 ve 11).

Literatürde, piknozun TP-SBS yönteminde görülebileceğine dair çalışmalar mevcuttur (6, 19, 46); ancak hiçbirisi, hücrelerin çekirdek/sitoplazma oranı ile ilişkisine değinmemiştir.

Literatürde, birçok çalışmada, metanol bazlı fiksatiflerin, etanol bazlı fiksatiflere göre daha fazla piknoza yol açtığı belirtilmektedir (6, 45-48). TP-SBS’de kullanılan CytoLyt® çözeltisi, metanol bazlı bir karışım olduğundan TP preparatlarında piknotik değişikliklerin görülmesinin bir nedeni de bu olabilir.

Benign efüzyonlarda, KS preparat kalitesi düştükçe TP preparatında piknoz görülme sıklığının arttığı saptandı. Bu sonuca dayanarak, SE’ların sitoloji laboratuvarına iletilmesi aşamasında sıvının olumsuz şartlara maruz kalması sonucu oluşacak hücre degenerasyonlarının, bu bulguların ortaya çıkışını kolaylaştırdığı düşünülebilir. Ayrıca malign

efüzyonlarda, KS preparat kalitesi ile piknoz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaması, geniş sitoplazmalı mezotel hücrelerinin piknotik değişikliğe daha meyilli, dayanıklılıklarının görece daha az olduğunun göstergesi olabilir.

Benign efüzyonlarda, periferik rim artefaktı değişkeni açısından değerlendirilen parametrelerden yalnızca hücresellik ile anlamlı ilişki bulundu (Tablo 13).

Malign efüzyonlarda, periferik rim artefaktı değişkeni açısından CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı ve TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktar ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulundu (Tablo 14).

Choi ve arkadaşları, TP preparatında hücrelerin yayıldığı dairenin çevresindeki hücre yoğunluğu arttıkça, bu artefaktın görülme olasılığının arttığını belirtmişlerdir (49). Ayrıca bu artefaktın gözlemlendiği alanlardaki hücrelerin, bu alanın dışındaki hücre boyutlarına kıyasla daha büyük, kromatinlerinin daha yoğun ve kaba görüldüğünü ve malign hücrelerle karışabileceği belirtilmiştir (35, 49).

Çalışmamızda, benign efüzyonlarda hücresellik arttıkça periferik rim artefaktının genişlediği saptanmıştır. Malign efüzyonlarda, hücresellik dolaylı olarak etkileyebileceği için PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı arttıkça periferik rim artefaktının genişliğinin artması, kısmen hücresellikle ilişkilendirilebilir.

Malign efüzyonlarda CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı azaldıkça periferik rim artefaktının genişliğinin artması, başka verilerle desteklenmediği için açıklanamadı.

Malign efüzyonlarda, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı ile periferik rim artefaktının genişliği arasında zıt ilişki saptandı; fakat pratik uygulama açısından anlamlı bulunmadı. Çünkü çalışmamızda, TP preparatı hazırlarken PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarına göre belirlenmedi; bu miktar, toluidin mavisiyle boyanan wet film preparatının mikroskopik incelemesi ile belirlendi.

Literatürde, TP PreservCyt® solüsyonuna örnek eklemeyen önce materyalden toluidin mavisi boyalı wet film yöntemiyle preparat hazırlayıp, materyalin hücresellik hakkında fikir sahibi olunması ve buna göre uygun miktarda örneğin TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılması tavsiye edilmektedir (27).

Literatürde belirtildiği gibi, periferel rim artefaktının gözlemlendiği alanlarda belirgin morfolojik değişiklikler saptandı ve bu alanda gözlenen bazı değişikliklerin, deneyim eksikliği sonucu, tanı yanlışlıklarına yol açabileceği düşünüldü.

Benign efüzyonlarda, artifisyonel açıklık artefaktı değişkeni açısından CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı ve TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (Tablo 16).

Malign efüzyonlarda, artifisyonel açıklık artefaktı değişkeni açısından CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulundu (Tablo 18).

Bu verilerin analizinde, benign ve malign efüzyonlarda, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı azaldıkça artifisyonel açıklıkların ortaya çıkma olasılığının arttığı sonucuna varıldı. Fakat yukarıda açıklandığı gibi, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarının, pratik uygulamamızda, TP preparatının kalitesi üzerinde etkili olmayacağı düşünüldü.

Her iki gruba ait diğer verilerin analizleri, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılabilecek materyalin dilüsyonunu ve miktarını kontrol ederek artifisyonel açıklıkların azaltılabileceğine işaret etmektedir.

Song ve arkadaşları, TP preparatlarında, hücrelerin yayıldığı dairesel alanda, %50 olguda az veya çok hücre kaybı alanlarının olduğunu belirtmektedirler (50). Hücre kaybının bariz olduğu, Song ve arkadaşlarının “halo” adını verdiği daha geniş boşlukların, teknik bir arıza eşlik etmiyorsa, materyalin yoğunluğundan kaynaklandığını; çözüm için, örneklenen materyali daha dilüe hale getirip çalışmayı tekrarlamamanın faydalı olacağını göstermişlerdir.

Çalışma süresince, hücre yoğunluğu ayarlanamamış olanlara ek olarak ekstrasellüler materyal içeriği tam elemine edilememiş olgularda da, TP preparatında hücrelerin bulunduğu dairesel alanda geniş artifisyonel açıklıkların oluştuğu gözlemlendi. Fakat TP preparatındaki ekstrasellüler materyal kalıntı miktarı ile artifisyonel açıklıkların genişlikleri arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı. Bu gözlem, seröz efüzyonunun ekstrasellüler komponentinin bileşimi, TP preparasyonu üzerinde etkili olabilir mi diye düşündürdü.

Benign efüzyonlarda, TP preparatında kalan eritrosit debrisı değişkeni açısından CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama

sonrası dipte kalan pellet miktarı ve CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (Tablo 17).

Malign efüzyonlarda, TP preparatında kalan eritrosit debrisı değişkeni açısından CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (Tablo 21).

Teknik uygulamadaki işlemler göz önünde bulundurularak değerlendirildiğinde her iki grupta elde edilen istatistik sonuçların analizleri, TP preparatı hazırlama sürecindeki hemoliz ile efüzyondaki eritrositlerin büyük oranda ortadan kaldırılabilirdiğini; ancak eritrosit yoğunluğu çok fazla olan efüzyonlarda, TP preparatının teknik kalitesini olumsuz etkileyen artıkların kalabildiğini göstermektedir.

Literatürde, TP-SBS yönteminin başlıca avantajı olarak, sıvıdaki eritrositleri başarıyla ortadan kaldırdığı, böylece hücreleri ön plana çıkarıp sitomorfolojik değerlendirmeyi kolaylaştırdığı vurgulanmaktadır (7, 11, 46, 50, 51).

Benign efüzyonlarda, TP preparatında kalan ekstrasellüler materyal kalıntısı değişkeni açısından CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (Tablo 22).

Malign efüzyonlarda, TP preparatında kalan ekstrasellüler materyal kalıntısı değişkeni açısından CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı, CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı ortalamaları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (Tablo 23).

Bu istatistiksel verilerin analizleri, ekstrasellüler materyali ortadan kaldırabilmek için TP preparasyonu sırasında yıkama aşamasının ve aşamadaki basamakları geçerken çalışılan materyalin miktar kontrolünün önemini yansıtmaktadır.

Bu somut verilere ek olarak pratik uygulamada edinilen deneyimler, materyalin iyi yıkanması için yeterli sayıda işlemin yeterli süre ayrılarak ve titizlikle uygulanması gerektiğini göstermektedir.

Literatürde, TP-SBS yönteminin, ekstrasellüler materyalleri ortamdan olabildiğince uzaklaştırıp preparasyon kalitesini arttırdığı vurgulanmaktadır (6, 7, 19, 35, 45).

Benign efüzyonlarda, TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı değişkeni ile TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarı, KS preparatının kalitesi, hücresellik, çekirdek özellikleri, sitoplazma özellikleri, ekstrasellüler materyalin eşlik ettiği olgularda preparasyon kalitesi, eritrositlerin eşlik ettiği olgularda preparasyon kalitesi, piknoz, periferik rim artefaktı, TP preparatında kalan ekstrasellüler kalıntı materyali, TP preparatında kalan eritrosit debris parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (Tablo 24 ve 25).

Malign efüzyonlarda, TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı değişkeni ile KS preparatının kalitesi, hücresellik, çekirdek özellikleri, sitoplazma özellikleri, ekstrasellüler materyalin eşlik ettiği olgularda preparasyon kalitesi, eritrositlerin eşlik ettiği olgularda preparasyon kalitesi, piknoz, periferik rim artefaktı, TP preparatında kalan ekstrasellüler kalıntı materyali, TP preparatında kalan eritrosit debris parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (Tablo 26 ve 27).

Benign ve malign efüzyonlardaki istatistiksel verilerin analizine göre, TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarları, kontrollü olarak, yüksek tutulabildiğinde sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı olan kaliteli preparatlar elde edilmektedir.

Ayrıca,

- bol kanlı efüzyonlarda, kaliteli KS preparat elde edilemediği durumlarda;
- hücre yoğunluğu iyi ayarlanmış, hücrelerin çekirdek ve sitoplazma özelliklerinin iyi görüldüğü, piknotik değişikliklerin yok ya da az olduğu TP preparatları oluşturulduğunda;
- efüzyon sıvısının eritrosit ve ekstrasellüler materyal içeriği ile başa çıkılarak kaliteli TP preparatı hazırlandığında

hem benign, hem de malign efüzyonlarda, TP yönteminin sitopatolojik değerlendirmeye belirgin olarak ekstra katkı sunduğu saptanmıştır.

Aynı zamanda, çalışma kapsamındaki SE'lerin bazı klinik özellikleri ve makroskopik görünimleri ile benign ve malign efüzyonlar için ayrı ayrı belirlenmiş parametreler çerçevesinde sitomorfolojik ayrıntıları analiz edildi.

Çalışma kapsamındaki SE'lerin anatomik boşluklara göre dağılımı, %51.2 plevral, %41.6 peritoneal ve %7.2 perikardiyal efüzyon şeklinde idi. Bu bulgular, literatür verileriyle uyumluydu (3).

Çalışılan SE'ların hacimleri, 1 - 5000 ml gibi geniş bir aralıkta dağılım göstermekteydi. Gönderilen sıvının hacmi fazla olsa da, teknik şartlar gereği, preparat hazırlamak için ortalama 30 cc. materyal kullanılabildi. Bol hacimli sıvılarda uygun 30 cc'lik örneği ayırmak için uygulanan spontan çöktürme işlemi için yaklaşık 30-60 dakikalık zamana gereksinim oldu.

Literatürde SE'ların sitopatolojik incelemesi için 30-50 ml örneğin yeterli olduğu belirtilmektedir (21). Bir çalışmada, bu hacimden daha fazla materyalin çalışılmasının günlük uygulama için pratik olmadığı ve daha da önemlisi, tanı özgüllüğünü arttırmadığı gösterilmiştir (22). Bu bilgilere ve gözlememize dayanarak şu söylenebilir: Gereğinden fazla efüzyon sıvısının gönderilmemesi konusunda klinisyenlerin bilgilendirilmesi, bir miktar da olsa, sitoloji laboratuvarının günlük iş yükünün azaltılmasına yardımcı olacaktır.

Bu çalışmadaki SE'ların yarısından fazlasının (154; %61.6) benign nedenli olduğu görüldü. Malign efüzyonların 43'ü (%44.8) plevral, 48'i (%50) peritoneal ve 5'i (%5.2) perikardiyal boşluk lokalizasyonlu idi. Literatürde de, benzer şekilde, malign efüzyonların daha çok plevral ve peritoneal boşluklarda ortaya çıktığı; perikardiyal boşlukta daha nadir görüldüğü bildirilmektedir (47).

Makroskopik görünümüne göre dağılımları incelendiğinde SE'ların, yarıya yakınının (%45.6) hemorajik olduğu görüldü; bunların %55.3'ü benign, %44.7'si malign efüzyondur.

Literatürde, malignite açısından oldukça şüpheli bulunan hemorajik SE'ların ancak %46'sında malignite saptandığı vurgulanmıştır (1, 16).

Benign SE'larda, mezotel hücrelerinin patern ve sitomorfolojik özelliklerinin ayrıntılı analizinde, literatürde tanımlanan klasik bilgi dışında dikkat çeken bir bulgu saptanmadı (4, 6, 7, 19, 23, 32, 43, 46, 48, 51, 52). Grubun kendi dinamiklerini belirleyebilmek için bu özelliklerin birbiriyle ilişkisi değerlendirildi.

Laboratuvarımıza gönderilen sıvı hacminin kabaca efüzyon hacmini de yansıttığı düşünülerek materyalin hacmi ile mezotel hücre miktarı kıyaslandığında pozitif yönlü anlamlı ilişki saptandı ($r: 0.234$). Bunun etyolojik faktörlerle ilişkili olduğu düşünüldü; ancak elde edilebilen klinik bilgiler yeterli olmadığından analiz edilemedi.

Mezotel hücrelerinde, çoğunlukla, degeneratif nitelikte olan sitoplazmik vakuolizasyon görülmektedir (3). Sıvıya dökülen mezotel hücreleri, yaşamlarını sürdürüp çoğalabildikleri için (3, 4) mezotel hücre miktarı ile sitoplazmik vakuolizasyon arasında ilişki olabileceği

düşünüldü ve istatistiksel olarak, korelasyon analizinde anlamlı olarak pozitif yönde ilişki saptandı (r: 0.256).

Benign SE olgularının 16'sında (%10.4) mezotel hücrelerinde reaktif atipi görüldü. Proplazik hücre değişikliği olduğu için bu atipinin mezotel hücre miktarı ile ilişkili olabileceği düşünüldü; istatistiksel olarak, korelasyon analizinde anlamlı olarak pozitif yönde ilişki saptandı (r:0.245).

Mezotel hücre miktarının fazla olduğu benign efüzyonlarda, bazen taşlı yüzük hücresi gibi görünen sitoplazmik vakuolüzasyonun ve mezotelyal atipinin belirgin olduğunu yansıtan bu iki bulgu, bu tür efüzyonlarda yanlış pozitif değerlendirme riski açısından dikkatli olunması gereğine işaret etmektedir.

Atipik mezotel hücrelerinin görülebildiği başlıca klinik durumlar, karaciğer sirozu, pulmoner enfarktüs, konjestif kalp yetmezliği, kollajen damar hastalıkları, böbrek yetmezliği, pankreatit, kemo/radyoterapi etkisi olarak bildirilmektedir (53). Bu çalışmada, mezotelyal atipi gösteren olguların 11'i plevral, 5'i peritoneal efüzyundu. Peritoneal örneklerin 3 tanesi aynı hastaya aitti ve bu hasta, daha sonraki doku biyopsisinde mezotelyoma tanısı almıştı. Diğer olguların elde edilebilen klinik verilerinde, dikkat çeken bir özellik saptanmadı.

Baskın olan inflamatuvar hücre tipi ile klinik özellikler karşılaştırılmaya çalışıldı; ancak olgu sayıları ve klinik bilgiler yeterli olmadığından sonuç alınamadı.

Malign efüzyon grubunun sitomorfolojik incelemesinde, esas olarak, tanıya ulaşmayı sağlayan yapısal ve sitolojik özelliklerin ayrıntılı analizi yapıldı.

Kalabalık kümeler halinde bol anormal hücre görülmesi, büyük boyutta, anormal şekilli hücreler, anaplazinin belirgin olması, bol ve atipik mitozlar, tipik sitoplazmik diferansiasyon özelliği (müsin, keratin gibi) saptanması ve tanıyı destekleyen zemin özelliklerinin (müsinöz zemin, nekroz, apoptoz gibi) görülmesi, malignite tanısını kolaylaştıran faktörlerdir. Ne yazık ki, tüm bu kriterleri bir arada bulunduran olgu sayısı oldukça azdır (3).

Tanıyı kolaylaştıran ve güçleştiren faktörler açısından malign SE grubunun bulguları incelendi. Tanıyı kolaylaştıran faktörlerin grup içindeki dağılımı şöyle bulundu: 63 (%71.6) olguda tümöral hücre miktarı boldu; 57 (%64.8) olguda tümör hücreleri, kendi ortamları içinde dikkat çeken gruplar oluşturmuştu; 47 (%53.4) olguda büyük boyutlu hücreler görüldü; 21 (%23.9) olguda hücre şekilleri anormaldi; 71 (%80.7) olguda anaplazi belirgindi; 16 (%18.2) olguda mitotik aktivite belirgindi; 10 (11.4) olguda atipik mitotik figürler mevcuttu; 6 (%6.8) olguda müsinöz zemin, 8 (%9) olguda apoptotik cisimcikler görüldü.

Tanıyı güçleştiren en önemli faktörler şunlardı: 21 (%23.8) olguda tümöral hücre miktarı azdı; 31 (%35.2) olguda tümör hücreleri tek tek dağılmıştı; 41 (%46.6) olguda tümöral hücre boyutları, mezotel hücrelerinden küçük ya da onlara denk boyutta idi; 17 (%19.3) olguda anaplazi belirgin değildi.

Tümöral hücre oranı az olan olgular, tanıyı kolaylaştıran özellikleri açısından irdelendiğinde %91'inde çekirdek anaplazisinin belirgin olduğu görüldü.

Efüzyon sitolojisinde tanı güçlüğü yaratan durumlardan biri, tümör hücrelerinin mezotel hücrelerine denk (orta) boyutta olmasıdır; çünkü bu durum, tümör hücrelerinin fark edilmesini zorlaştırır (3). Çalışmamızda orta boyutta hücrelerle karakterize 34 olgunun yer aldığı tümör grubu, tanı sürecini etkileyen diğer faktörler açısından irdelendi. Bunların 21'inde (%61.8) tümöral hücre oranı belirgindi; 25'inde (%73.5) tümör hücreleri, fark edilmelerini kolaylaştıran gruplar oluşturmuştu; 25'inde (%73.5) çekirdek anaplazisi belirgindi.

Efüzyon sitolojisinde malignite tanısını etkileyen faktörlerin irdelenmesi sonucunda, bazı özellikler belirgin olmasa da, dikkatli bir inceleme ile tanısal başka özellikleri ortaya çıkartarak doğru tanıya ulaşmanın mümkün olacağı kanısına varıldı.

Tanı güçlüğü yaratan faktörlerin bir arada bulunduğu olgularda yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (41, 54, 55). Sitomorfolojik özelliklerin ayrıntılı analizi ve gereğinde, doğru şekilde planlanmış yardımcı çalışmaların eklenmesi ile doğru klinik bilginin elde edilmesi, tanı yanlışlarının önlenilmesini sağlayan en önemli unsurlardır (37, 44).

Efüzyon sıvısında tek tek dağılım gösteren hücre paternine sahip 31 olgunun 7 tanesi lenfoma yayılımı idi. Bunlar dışarda bırakılarak, bu patern ile tümörlerin histolojik tipleri arasında ilişki olup olmadığı araştırıldı. Geri kalan 24 olgunun 12'si (%50) az diferansiye ya da anaplastik karsinom metastazı (çoğu gastrointestinal sistem kökenli); 7'si (%29.1) adenokarsinom metastazı (çoğu akciğer kökenli); 3'ü (%12.5) memenin duktal karsinom metastazı ve 2'si (%8.3) skuamöz hücreli karsinom metastazı olarak değerlendirilmişti.

Literatürde, bazı tümör metastazlarının özelliği olarak belirtilmekle birlikte efüzyon sıvısında tek tek duran hücre paterni ile karakterize metastazların daha çok tümörün diferansiasyon derecesi ilişkili olduğu bildirilmektedir (3). Grubumuzun sonuçları, bu paternin tümörün diferansiasyonu ile ilişkili olduğunu yansıtır niteliktedir.

Malign epitelyal hücre oranları ile eşlik eden mezotelyal hücre oranları, korelasyon analizi ile kıyaslandığında ters yönde anlamlı ilişki saptandı (r : -0.560). Gözlemlerimizi

destekleyen bu sonuca göre, şu çıkarımda bulunuldu: Bol reaktif mezotel hücresi içeren bir efüzyonun az sayıda tümör hücresi içirme olasılığı açısından çok dikkatli incelenmesi gerekir.

Beklenenin dışında inflamatuvar reaksiyon içeren 2 malign efüzyon mevcuttu. Nötrofillerin baskın olduğu olguda, skuamöz hücreli karsinom metastazı; eozinofillerin baskın olduğu olguda, adenokarsinom metastazı saptanmış olup tümöral hücre oranları düşüktü.

Bu bulguların da işaret ettiği gibi, az oranda da olsa, malign efüzyonlarda nötrofilik ve eozinofilik yanıt belirgin olabilmektedir (4, 56).



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na Eylül 2014 - Mayıs 2015 tarihleri arasında gelen toplam 250 adet SE materyalinden hem TP-SBS, hem de KS yöntemleriyle sitoloji preparatları ile plasma-trombin ve konvansiyonel hücre bloğu oluşturma yöntemleriyle hücre blokları hazırlandı. Olgular, benign ve malign efüzyonlar olmak üzere iki kategoriye ayrıldı. Tüm olgulara ait sitoloji preparatları ve hücre bloğu kesitleri, ışık mikroskobu altında, sitomorfolojik ayrıntılar ve teknik özellikler açısından belirlenen parametreler çerçevesinde kıyaslamalı olarak değerlendirildi.

Anatomik dağılımlarına göre olguların 128'i (%51.2) plevral, 104'ü (%41.6) peritoneal, 18'i (%7.2) perikardiyal efüzyonu.

Sitolojik inceleme için gönderilen materyallerin hacimleri, 1 – 5000 ml gibi geniş bir aralıkta dağılım göstermekteydi.

Makroskopik görünümüne göre seröz efüzyonların 33'ü (%13.2) berrak, 103'ü (%41.2) bulanık, 114'ü (%45.6) hemorajikti; hemorajik efüzyonların 51'i (%44.7) maligndi. Hemorajik efüzyonlardaki malignite oranı, literatür verileriyle aynı yöneydi.

TP-SBS preparatları ile KS preparatları teknik açıdan kıyaslandığında, hem benign, hem de malign efüzyonlarda, kaliteli TP-SBS preparatlarının sitomorfolojik değerlendirme için oldukça iyi olduğu saptandı. Bu sonuç, literatürde bildirilenleri karşılamaktaydı.

TP-SBS yöntemiyle hazırlanan preparatlarda izlenen olumsuzluklar analiz edildi.

Benign SE'larda, malign SE'larda görülmeyen bir durum olarak, sitoplazması geniş hücrelerin görülme sıklığı arttıkça ve KS preparatının kalitesi düştükçe TP preparatında piknoz görülme sıklığının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görüldü. Literatürde, piknozun metanol fiksasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmişti; bu özelliklere değinen bir incelemeye rastlanmadı. Kendi koşullarımız çerçevesinde, SE'ların sitoloji laboratuvarına iletilmesi aşamasında sıvının olumsuz şartlara maruz kalması sonucu oluşacak hücre degenerasyonlarının, bu bulguların ortaya çıkışında etkili olabileceği düşünüldü. Ayrıca malign efüzyonlarda, KS preparat kalitesi ile piknoz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaması, geniş sitoplazmalı mezotel hücrelerinin degenerasyona daha meyilli, dayanıklılıklarının görece daha az olduğunun göstergesi olabilir.

SE'larda hücresellik arttıkça, TP preparatında gözlenen periferik rim artefaktının genişlediği görüldü. Bu bulgu, literatür verileriyle uyumlu idi.

Literatür ile uyumlu olarak, TP yönteminin efüzyondaki eritrositleri büyük oranda ortadan kaldıracabildiği saptandı; ancak, eritrosit yoğunluğu çok fazla olan SE'ların TP preparatlarında kaliyeyi olumsuz etkileyen eritrosit debris kalıntısı görüldü.

TP preparatı hazırlarken yıkama işlemi titizlikle yapılır ve çalışılan materyallerin miktar kontrolleri sağlanabilirse TP preparatında ekstrasellüler materyal kalıntısının azaltıldığı izlendi.

TP PreservCyt® solüsyonuna aktarılan materyal miktarları, kontrollü olarak, yüksek tutulabildiğinde sitopatolojik değerlendirmeye ekstra katkısı olan kaliteli preparatlar elde edilebildiği saptandı.

TP-SBS yönteminin benign ve malign efüzyonların sitopatolojik değerlendirmesine, birçok sitolojik ve teknik parametre ile istatistiksel anlamlı ilişki gösterecek düzeyde, ekstra katkı sağladığı görüldü.

Benign SE'larda, mezotel hücrelerinin patern ve sitomorfolojik özelliklerinin ayrıntılı analizinde, literatürde tanımlanan klasik bilgi dışında dikkat çeken bir bulgu saptanmadı.

Malign efüzyon grubunun sitomorfolojik incelemesinde, esas olarak, tanıya ulaşmayı sağlayan yapısal ve sitolojik özelliklerin ayrıntılı analizi yapıldı.

Malign SE grubunda tanıyı kolaylaştıran faktörlerin grup içindeki dağılımı şöyleydi: 63 (%71.6) olguda tümöral hücre miktarı boldu; 57 (%64.8) olguda tümör hücreleri dikkat çeken boyutta gruplar oluşturmuştu; 47 (%53.4) olguda büyük boyutlu hücreler görüldü; 21 (%23.9) olguda hücre şekilleri anormaldi; 71 (%80.7) olguda anaplazi belirgindi; 16 (%18.2) olguda mitotik aktivite belirgindi; 10 (11.4) olguda atipik mitotik figürler mevcuttu; 6 (%6.8) olguda müsinöz zemin, 8 (%9) olguda apoptotik cisimcikler görüldü.

Tanıyı güçleştiren en önemli faktörler şöyle bulundu: 21 (%23.8) olguda tümöral hücre miktarı azdı; 31 (%35.2) olguda tümör hücreleri tek tek dağılmıştı; 41 (%46.6) olguda tümöral hücre boyutları, mezotel hücrelerinden küçük ya da onlara denk boyutta idi; 17 (%19.3) olguda anaplazi belirgin değildi.

Malign efüzyon grubunda, malign epitelyal hücre oranları ile eşlik eden mezotelyal hücre oranları kıyaslandığında ters yönde anlamlı ilişki saptandı.

Efüzyon sıvılarından oluşturulan hücre blokları kıyaslandığında konvansiyonel yöntemle hazırlananlara göre, plazma-trombin yöntemi ile hazırlanan hücre bloklarının sitomorfolojik detayları daha iyi seçilebilen, daha çok sayıda hücre içerdiği,

immuno/sitokimyasal boyamalarda daha kaliteli boyanma gösterdiği görüldü. Plazma-trombin yönteminin, literatür ile de uyumlu olarak, ucuz ve kolay uygulanabilir, kaliteli hücre blokları elde etmeye olanak sağlayan, rutin sitoloji pratiğinde güvenle kullanılabilen bir hücre bloğu oluşturma yöntemi olduğu çalışmamızda da deneyimlendi.

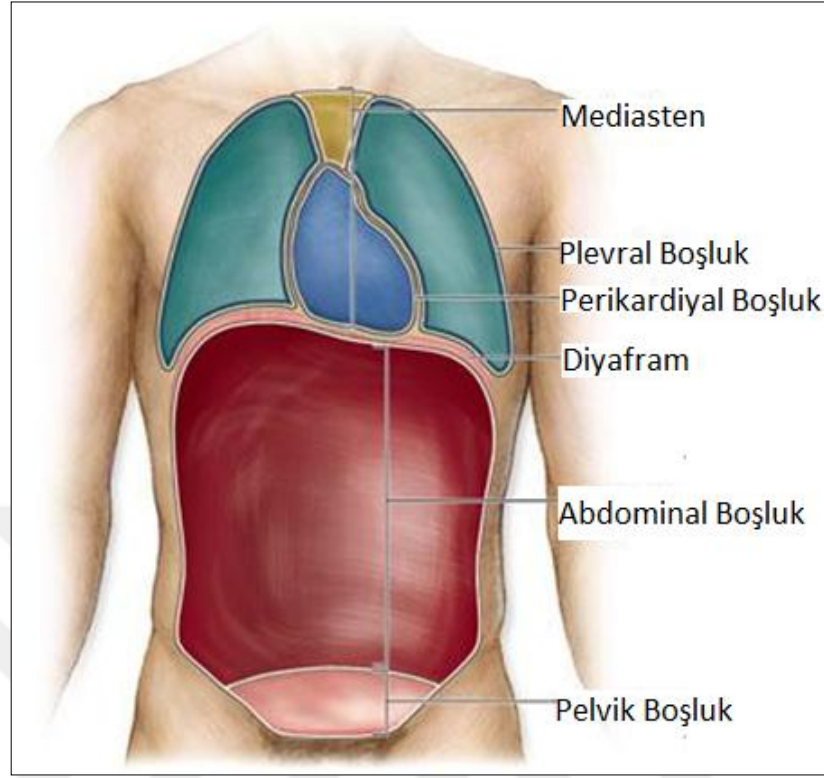
Sonuç olarak, preparasyon sırasında yıkama aşaması uygun şekilde takip edilirse ve çalışılan materyal miktarları kontrol edilerek TP PreservCyt® solüsyonuna olabildiğince fazla materyal aktarılabilirse, KS yöntemine kıyasla TP-SBS yöntemiyle, zeminde eritrosit ve ekstrasellüler materyal kalıntısının çok daha az izlendiği, çekirdek ve sitoplazma detayları daha iyi seçilen, daha çok hücre içeren, daha kaliteli preparatlar elde etmenin mümkün olduğu görüldü. Ayrıca TP-SBS yönteminde, hazırlanan çalışma solüsyonundan tekrar preparat ve/veya hücre bloğu hazırlanabilmesi de, KS yöntemine üstünlük olarak değerlendirildi. Bütün bunlara karşın, pahalı bir yöntem olması, hücrelerde sıkça piknozun oluşması, manipülasyonları fazla olan bir işlem olması dolayısıyla belli bir düzeyde kalitenin korunabilmesi için tecrübeli ek personel gerektirmesi, TP-SBS yönteminin barındırdığı zorluklar ve olumsuzluklar olarak sayılabilir.

Çalışmamızın sonuçları dikkate alındığında başlıca önerilerimiz şunlardır:

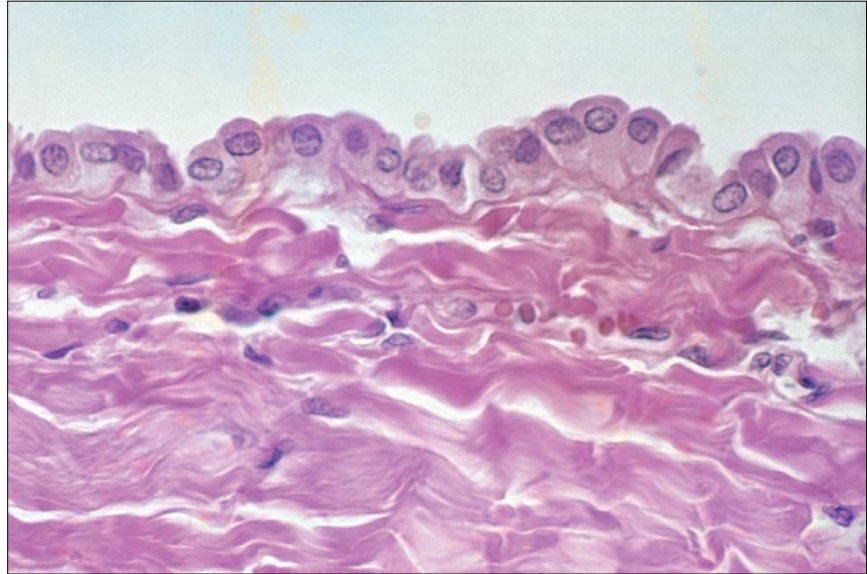
- TP-SBS yönteminde piknozun sıkça ortaya çıktığı bilinmelidir; bunun hücre degenerasyonu ile ilişkili olma olasılığı göz önünde bulundurularak SE materyalleri, olabildiğince hızlı çalışılmalı ya da korumaya alınmalıdır.
- TP preparatlarında, hücrelerin yayıldığı dairesel alanın dış çeperinde, sıklıkla, periferik rim artefaktı görüldüğünden olası tanı yanılgılarına düşmemek için buradaki hücreler, sitomorfolojik değerlendirmeye alınmamalıdır.
- Eşlik eden akut veya kronik iltihabi reaksiyonun belirgin olduğu durumlarda malignite tanısı verirken dikkatli olunmalıdır; fakat bu tür iltihabi reaksiyonların malignitelere de eşlik edebileceği unutulmamalıdır.
- Bol reaktif mezotel hücresi içeren bir efüzyon, az sayıda tümör hücresi içermesi açısından çok dikkatli olarak incelenmelidir.
- Mezotel hücresi boyutuna eş boyutta hücre paterniyle karakterize tümör tiplerinin ön tanı olarak bildirildiği olgular, özellikle, çok dikkatli analiz edilmelidir.
- Yanlış pozitif ve negatif sonuçlardan olabildiğince kaçınabilmek için reaktif mezotel hücrelerinin morfolojik çeşitliliği ve belirgin atipi gösterebileceği iyi bilinmelidir.

- Mümkin olan her SE materyalinden hücre bloğu oluşturulmalıdır.
- SE materyalinden TP preparatı hazırlarken, ekstrasellüler materyal ve eritrosit içeriğini ortamdan olabildiğince uzaklaştırmak için CytoLyt® çözeltisi ile uygun sayıda ve yeterli süre ayrılarak yıkama yapılmalıdır.
- Periferik rim artefaktı, artifisyonel açıklık, eritrosit debris ve ekstrasellüler materyal kalıntısı gibi TP preparatında gözlenebilen olumsuzluklara engel olabilmek için pelletin hücre yoğunluğuna göre, PreservCyt® çalışma solüsyonuna uygun miktarda materyal aktarılmalıdır; pelletin hücreliliğini analiz edebilmek için de, tüm SE materyallerinden toluidin mavisi boyalı wet film preparatı hazırlanmalıdır.
- SE'nun biokimyasal özelliği, makroskopik görünümü, elde edildiği seröz boşluk gibi bilgiler benign/malign efüzyon ayırımına yardımcı olabilse de, potansiyel malign efüzyon gibi kabul edilerek her SE materyali, laboratuvarındaki preparasyonundan rapor edilene kadar her basamakta dikkatlice değerlendirilmelidir.
- Mümkinse, her olgudan doğru ve yeterli klinik bilgi elde edilmelidir.
- Ara olgular ve/veya tanısı özellik arz eden olgular, klinikopatolojik toplantılarda tartışılarak ortak bir görüşe varılmaya çalışılmalı; bu tartışmaların, öncelikle, öğrencilere ve asistanlara olabildiğince öğretici olması hedeflenmelidir.
- Günlük sitoloji rutininin sağlıklı yürüyebilmesi ve özellikle, klinisyenlerin eğitimi için SE materyalinin uygun şekilde elde edilmesini, toplanmasını, sitoloji laboratuvarına gönderilmesini, saklanması ve işlenmesini, kısa ve öz bilgiler vererek anlatan bir form oluşturulmalı; bu basamakların işlerliği sık aralıklarla kontrol edilmelidir.
- Sitoloji laboratuvarı çalışanları, geçici istihdam modeliyle çalıştırılmamalı; sitolojide yapılan işlerin yüksek nitelikli, tecrübe gerektiren işler olduğu bilinmeli; bundan dolayı, sitoloji laboratuvar personelinin sürekliliği sağlanmaya çalışılmalıdır.
- Sitoloji laboratuvarı çalışanlarının “sürekli eğitim”ine önem verilmeli; düzenli geri bildirim mekanizması oluşturup uygulanan tekniğin kalitesinin yüksek tutulması sağlanmalıdır.
- Doğru tanı verebilmenin yolunun, materyalin elde edilmesinden, sitoloji laboratuvarına gönderilmesine; preparat hazırlanmasından, mikroskop altında değerlendirilmesine kadar pek çok basamağın dikkatli ve titiz bir şekilde uygulamasından geçtiği bilinmelidir.

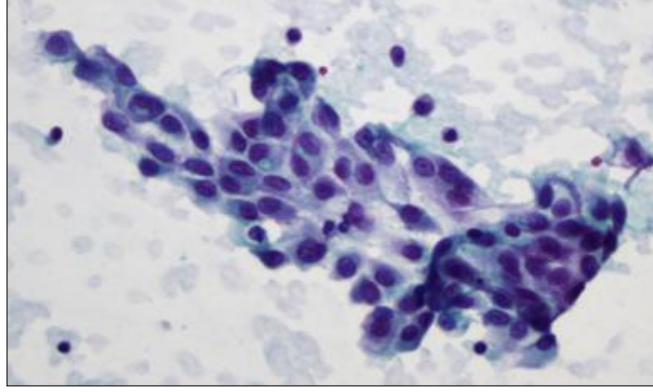
7. RESİMLER



Resim 1. Vücudumuzdaki seröz boşluklar (57).



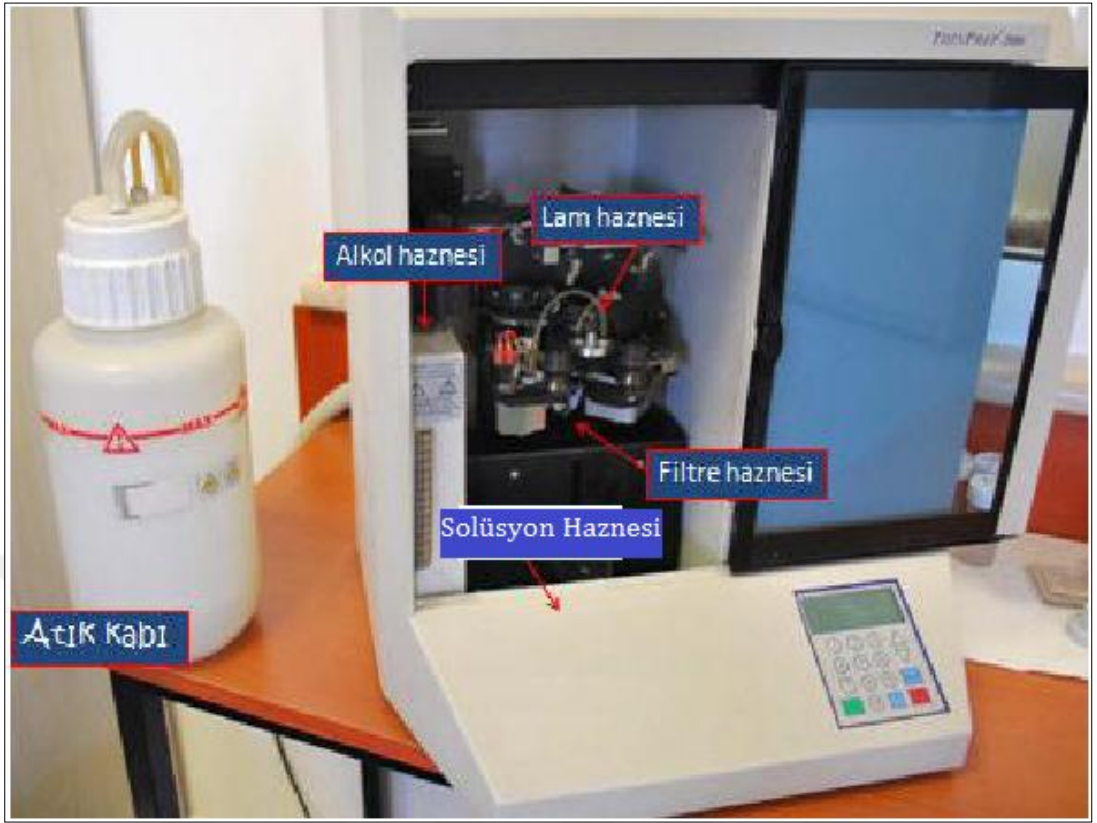
Resim 2. Normal seröz zarın histolojisi. Fibröz doku ile desteklenen tek tabakalı küboidal mezotel hücreleri (1).



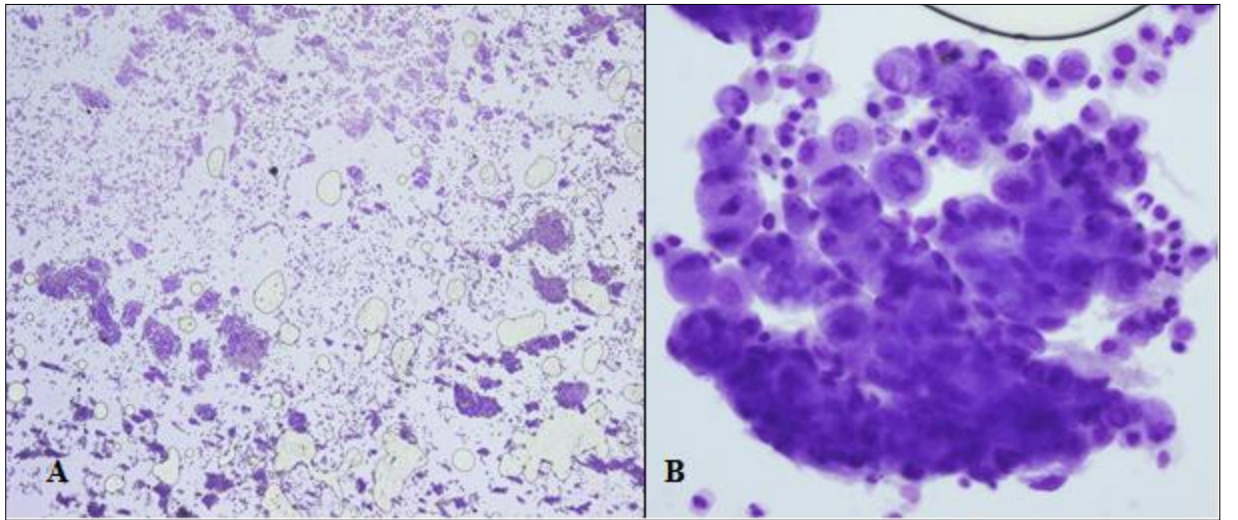
Resim 3. Batın yıkama sıvısında izlenen normal mezotel hücreleri (PAP boyalı KS)



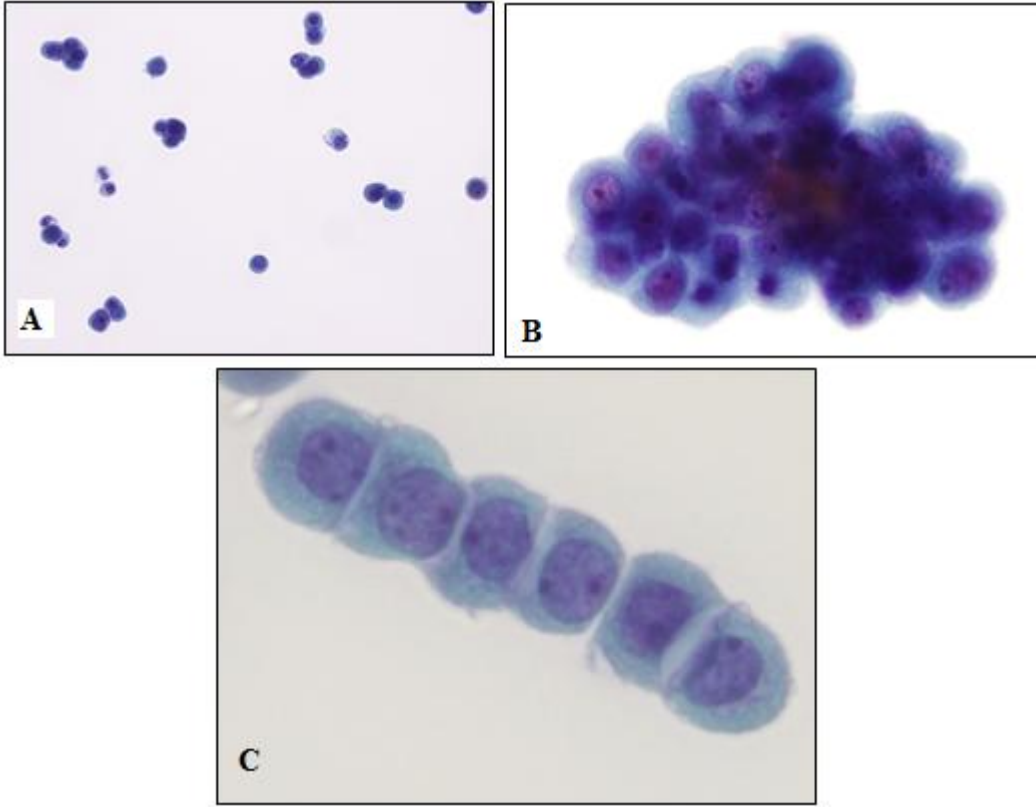
Resim 4. Makroskopik görünümüleriyle renk yelpazesi oluşturmuş seröz efüzyonlar (8).



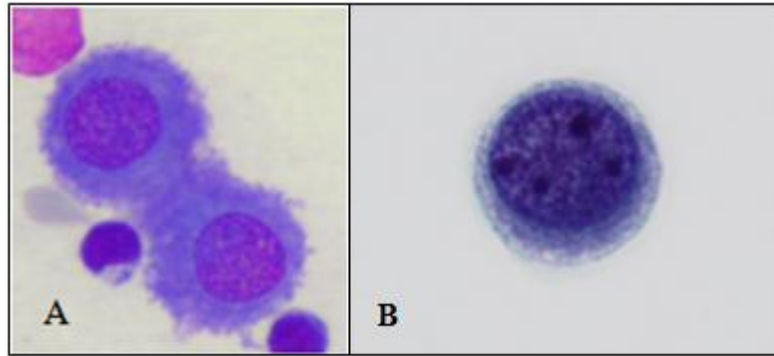
Resim 5. TP 2000 cihazı (26).



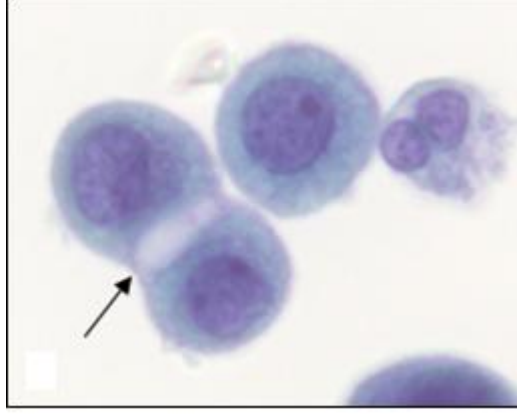
Resim 6 A ve B. Wet film tekniği ile değerlendirilen seröz efüzyon. A: Kalabalık gruplar halinde bol hücre. B: Grubu oluşturan malign epitelyal hücreler (Toluidin mavisi boyalı wet film)



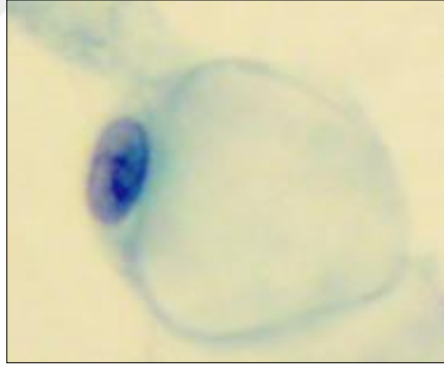
Resim 7 A, B ve C. Mezotel hücrelerinin oluşturduğu grup çeşitleri. A: Tek tek ve küçük kümeler halinde mezotel hücreleri. B: Papilla benzeri grup. C: Tek sıralı dizi halinde mezotel hücreleri ve aralarında mezotelyal yarıklar (A, B ve C: PAP boyalı TP).



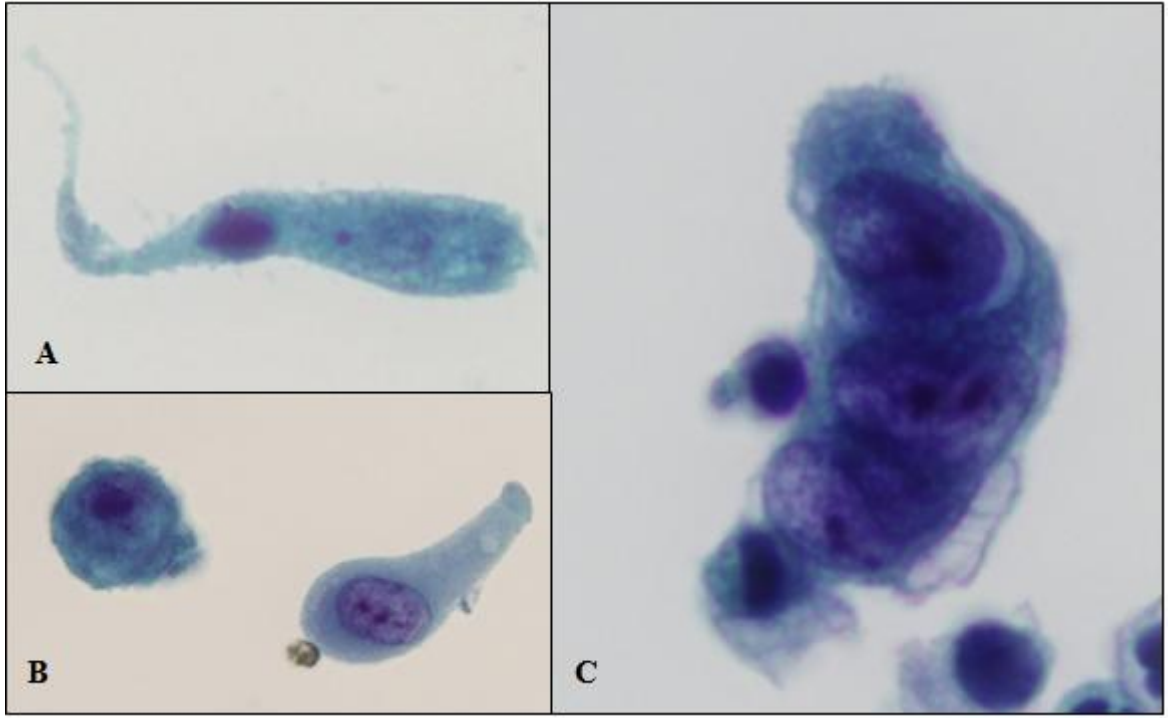
Resim 8A ve B. Benign mezotel hücresi. A: MGG boyası ile sitoplazmada iki farklı tonda boyanma: endoplazma açık, ektoplazma koyu; yüzeyde belirginleşmiş sitoplazmik “bleb”ler. B: PAP boyası ile sitoplazmada iki farklı tonda boyanma: endoplazma koyu, ektoplazma açık; parasantral yerleşimli çekirdek (A: MGG boyalı KS; B: PAP boyalı TP).



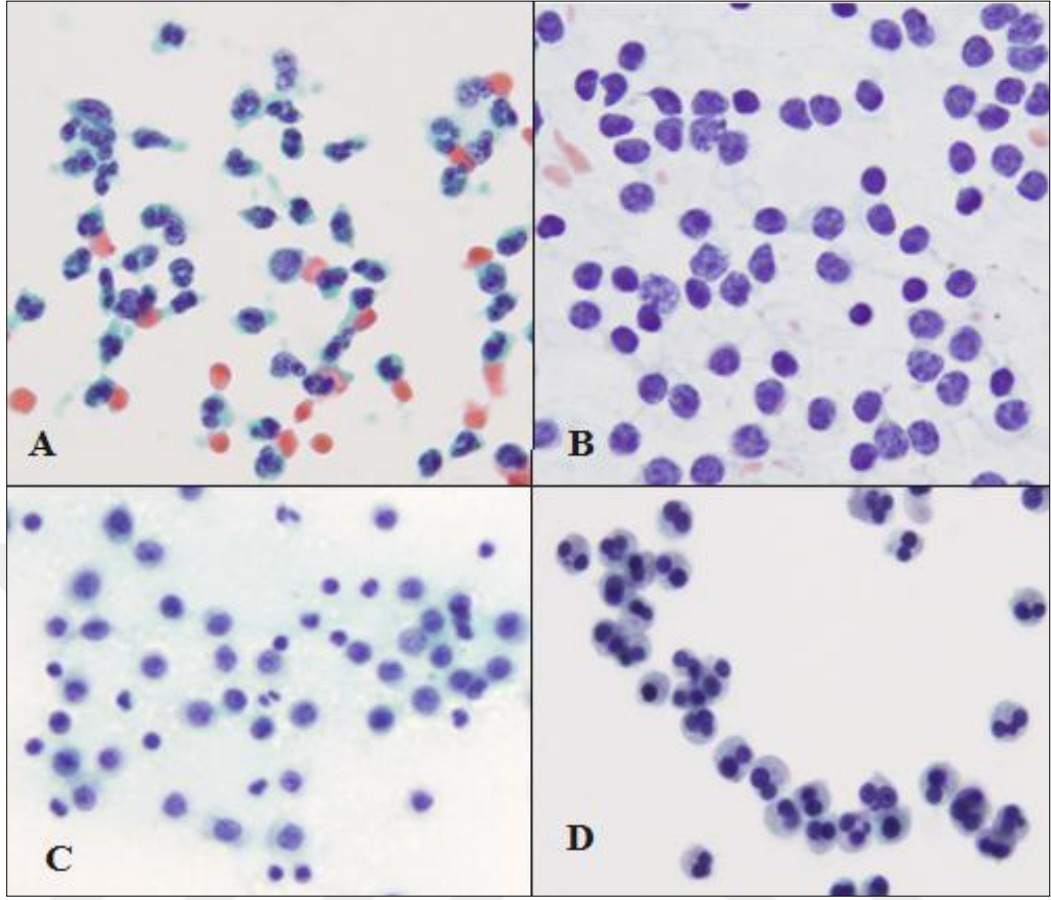
Resim 9. Mezotelyal pencere görünümü. (PAP boyalı KS).



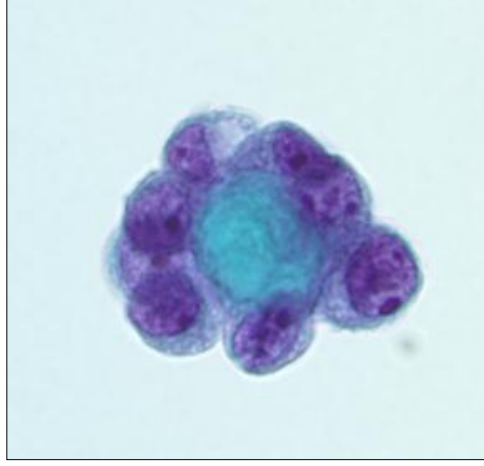
Resim 10. Tek, büyük sitoplazmik vakuol nedeniyle taşlı yüzük hücresi görünümüne sahip mezotel hücresi (PAP boyalı KS).



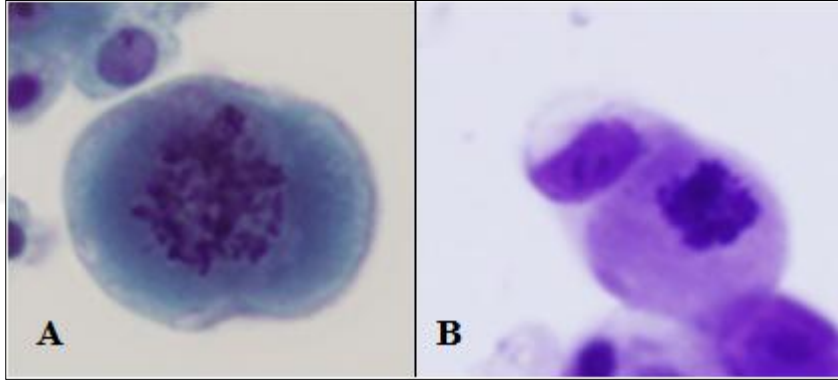
Resim 11 A, B ve C. Atipik mezotel hücreleri. A ve B: Malignite kuşkusu uyandıran anormal hücre şekilleri. C: Karsinom metastazlarında beklenen tarzda sıkı tutunan küme oluşturmuş atipik mezotel hücreleri (A, B ve C: PAP boyalı TP).



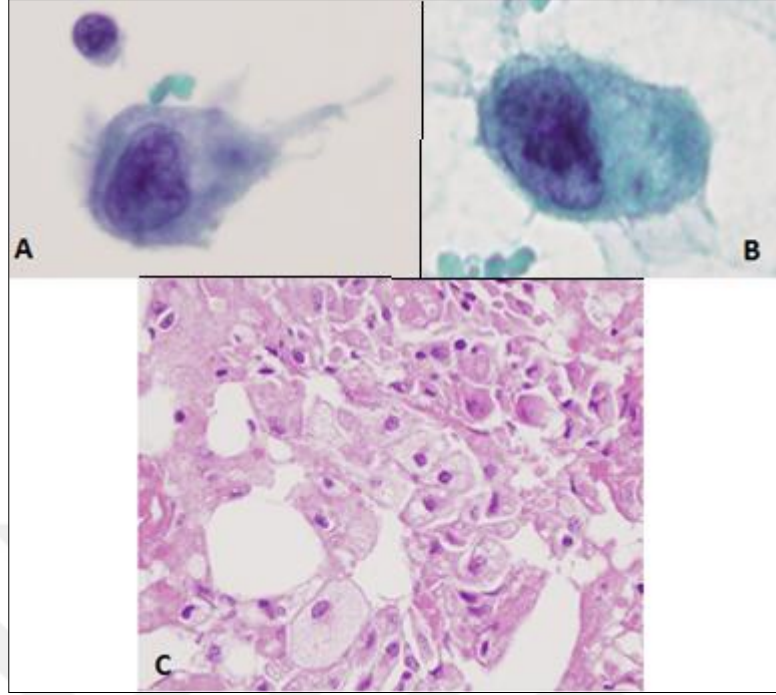
Resim 12 A, B, C ve D. SE’da görülen inflamatuvar hücreler. A: Nötrofil polimorflar. B: Lenfositler. C: Makrofajlar. D) Eozinofil polimorflar (A, B ve C: PAP boyalı KS; D: PAP boyalı TP).



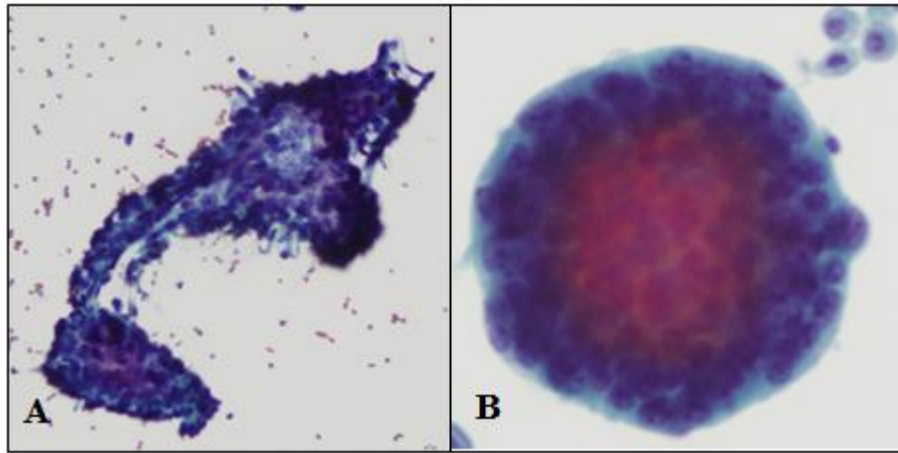
Resim 13. Reaktif mezotel hücreleri ile çevrili kollajen top (PAP boyalı TP).



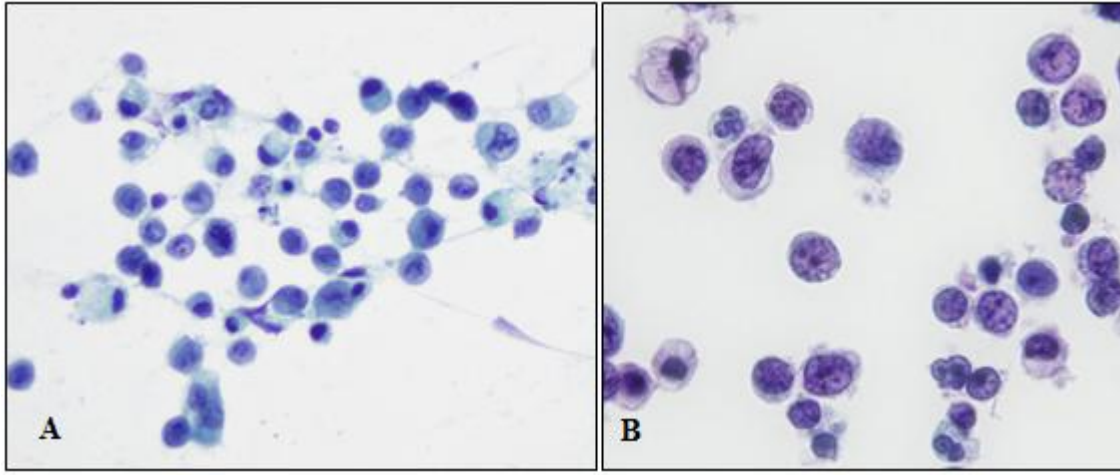
Resim 14 A ve B. Reaktif mezotel hücresinde mitoz (A: PAP boyalı TP; B: Toluidin mavisi boyalı Wet film).



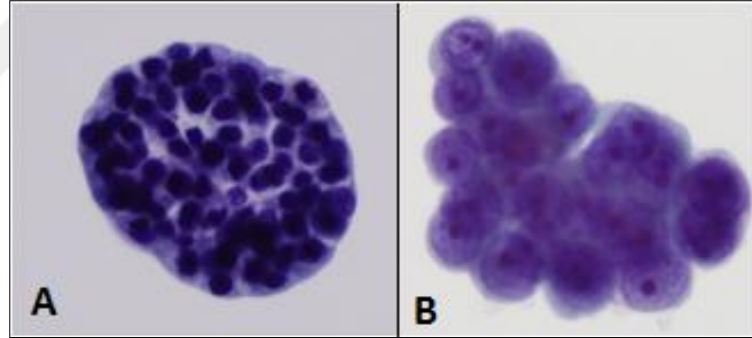
Resim 15 A, B ve C. Romatoid artriti olan hastanın plevral efüzyonu. A ve B: İzole halde atipik epiteloid hücreler. C: Hücre bloğu kesitinde bazıları geniş vakuollü sitoplazmalı atipik epiteloid hücreler (A: PAP boyalı TP; B: PAP boyalı KS; C: H&E).



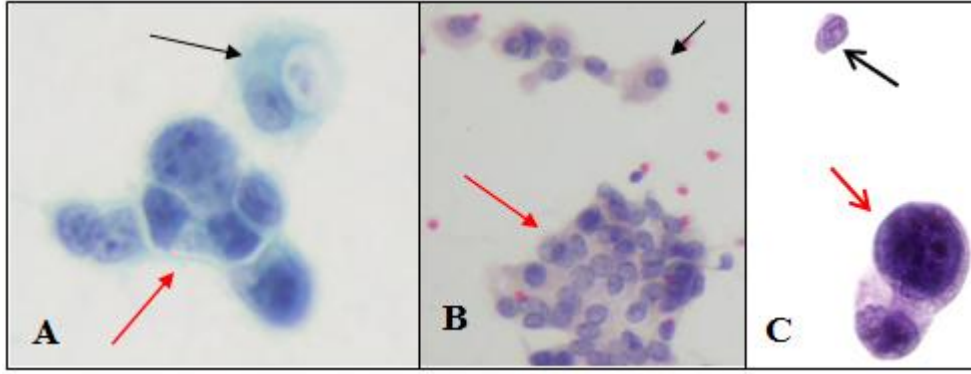
Resim 16 A ve B. Tümör hücrelerinin oluşturduğu grup çeşitleri. A: Papiller grup. B: Küresel grup (A: PAP boyalı KS; B: PAP boyalı TP).



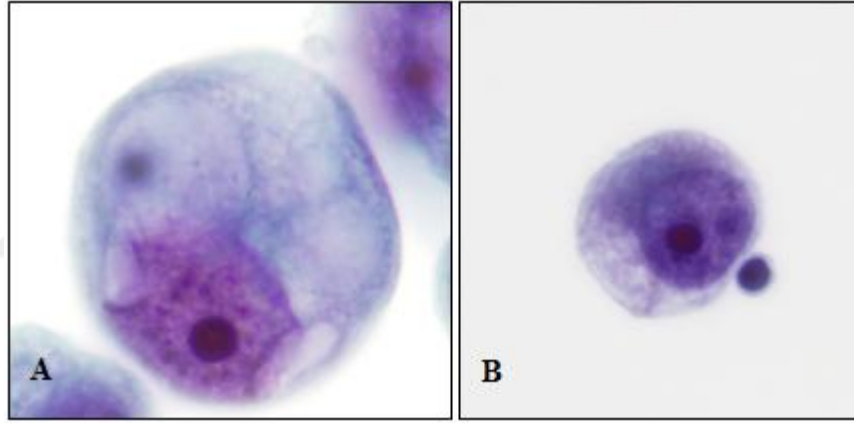
Resim 17 A ve B. Tek tek duran malign tümör hücreleri. A: İndiferansiye karsinom metastazı. B: Non-Hodgkin lenfoma yayılımı (A: PAP boyalı KS; B: PAP boyalı TP).



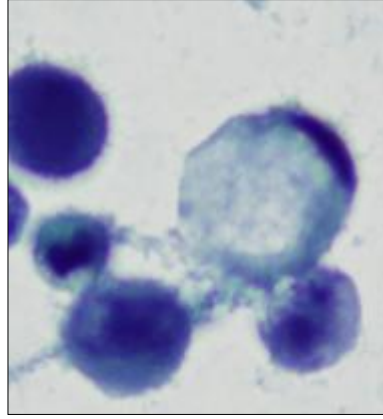
Resim 18 A ve B. Tümör hücre gruplarının sınır özellikleri. A: Düzgün, ortak sınır. B: Lobüle sınır (A ve B: PAP boyalı TP).



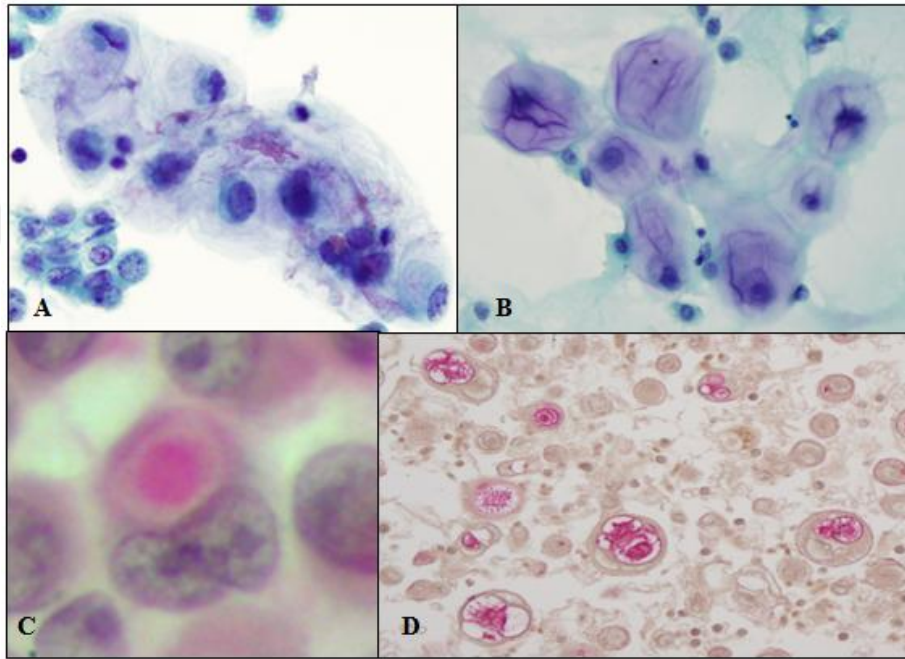
Resim 19 A, B ve C. Mezotel hücresine kıyasla tümör hücresi boyutları. A: Küçük boyutlu karsinom hücreleri (kırmızı ok ile işaretli; siyah ok, mezotel hücresi). B: Orta boyutlu karsinom hücreleri (kırmızı ok ile işaretli; siyah ok, mezotel hücresi). C: Büyük boyutlu karsinom hücreleri (kırmızı ok ile işaretli; siyah ok, mezotel hücresi) (A ve B: PAP boyalı KS; C: PAP boyalı TP).



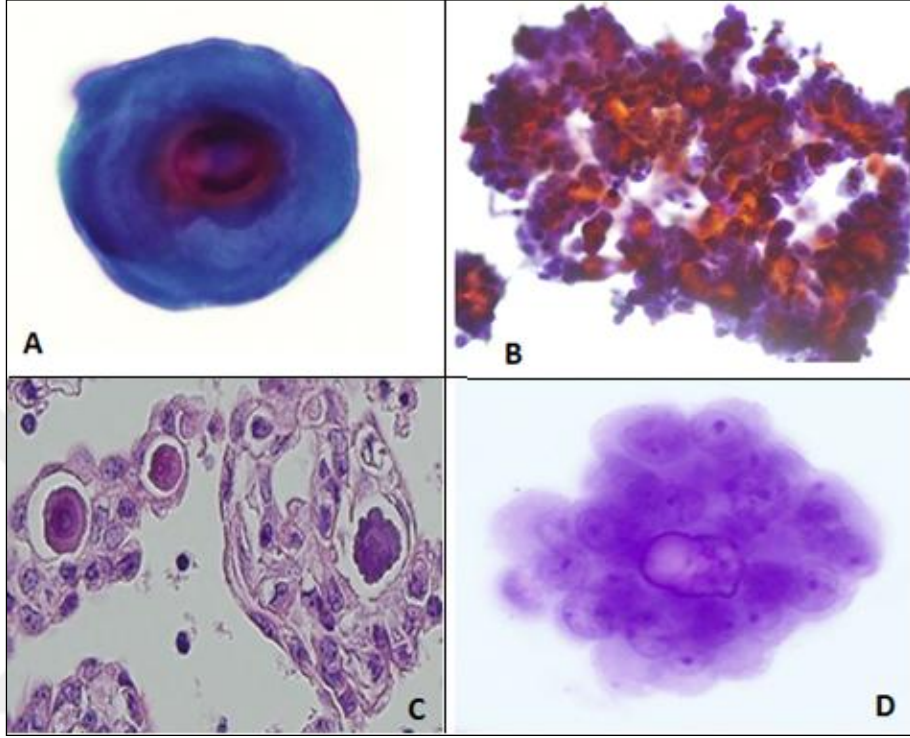
Resim 20 A ve B. Anaplazinin belirgin olduğu karsinom hücreleri. A ve B: Çekirdek/sitoplazma oranı artmış, çekirdek zarı ve kromatin dağılımı düzensiz, çekirdekçik belirgin (A ve B: PAP boyalı TP).



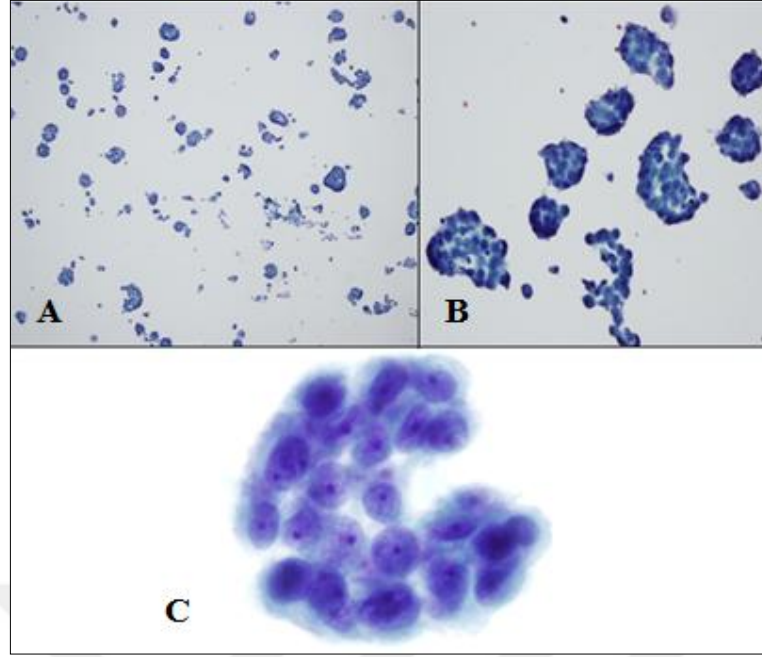
Resim 21. Taşlı yüzük hücresi görünümünde karsinom hücresi (PAP boyalı KS).



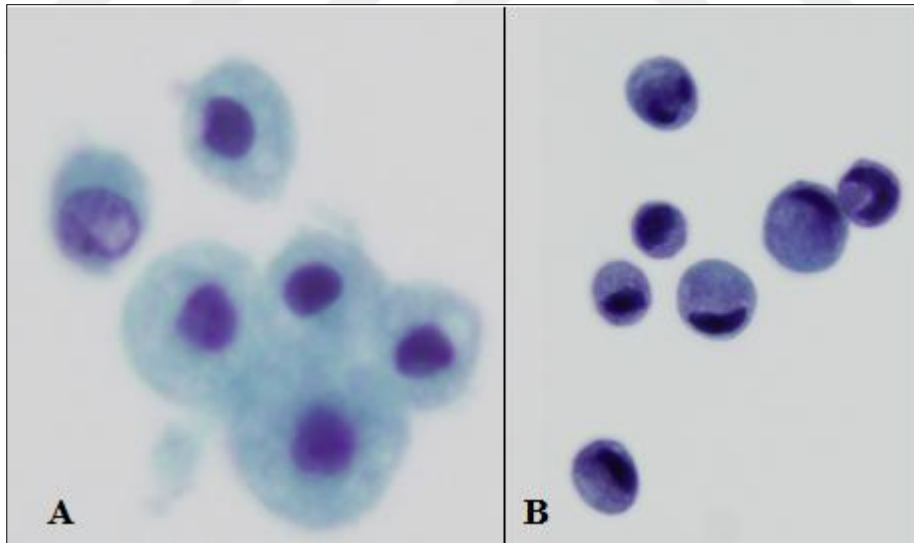
Resim 22 A, B, C ve D. Müsin içeren karsinom hücreleri. A: Sitoplazmada müsin varlığına işaret eden geniş, vakuollü görünüm. B: Tümör hücrelerinin zemininde mukoid materyal. C: “Öküz gözü” şeklinde intrasitoplazmik müsin. D: Hücre bloğu kesitinde intrasitoplazmik müsin içeren karsinom hücreleri (A: PAP boyalı TP; B: PAP boyalı KS; C ve D: Müsakarmin boyası).



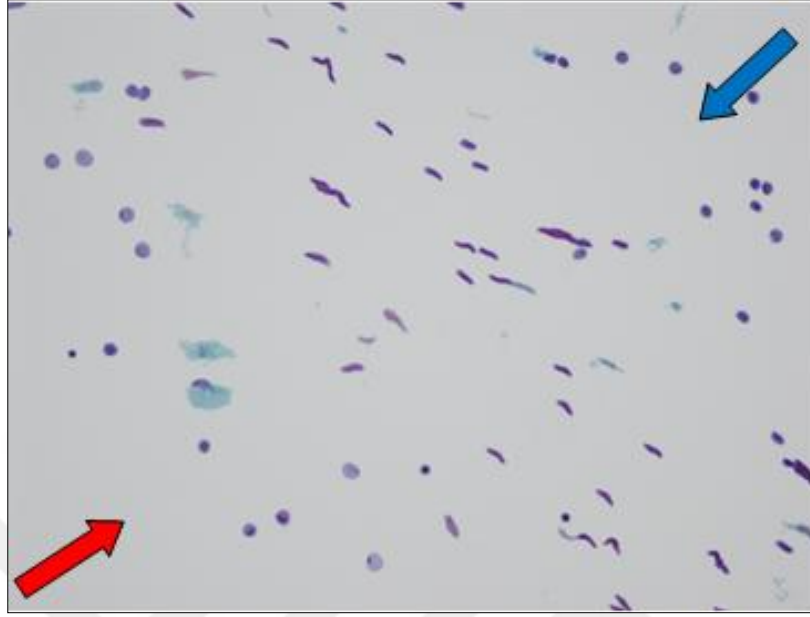
Resim 23 A, B, C ve D. Seröz karsinom metastazında psammoma cisimcikleri. A: Tek, izole halde. B: Papiller grup içinde çok sayıda. C: Hücre bloğu kesitinde konsantrik görünüm. D: Grup ortasında (A ve B: PAP boyalı TP; C: H&E; D: Toluidin mavisi boyalı wet film).



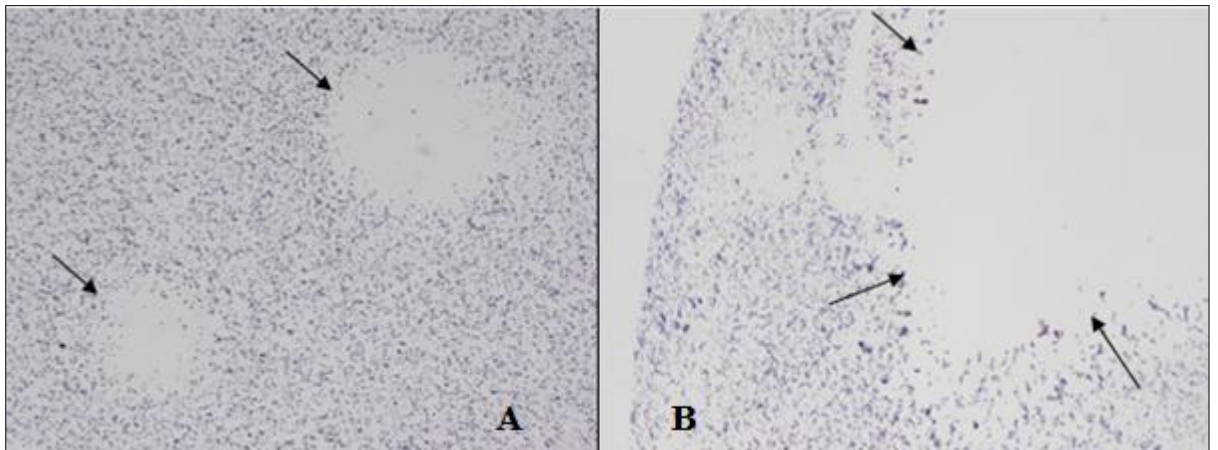
Resim 24 A, B ve C. Mezotelyomada sitomorfolojik özellikler. A ve B: Çok sayıda kalabalık grup halinde tümör hücreleri. C: Mezotelyal hücre özelliklerini yansıtan tümöral hücre grubu (A, B ve C: PAP boyalı TP).



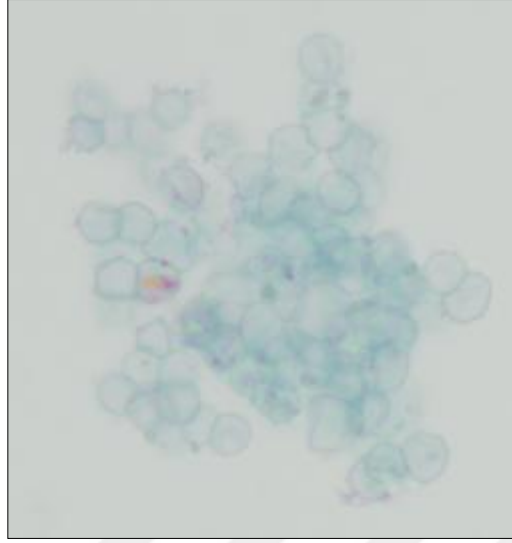
Resim 25 A ve B. TP preparatında ortaya çıkan piknotik değişiklikler A: Özellikleri seçilemeyen büzüşmüş çekirdeğe sahip mezotel hücreleri. B: Aynı değişikliğe uğramış tümör hücreleri (A ve B: PAP boyalı TP).



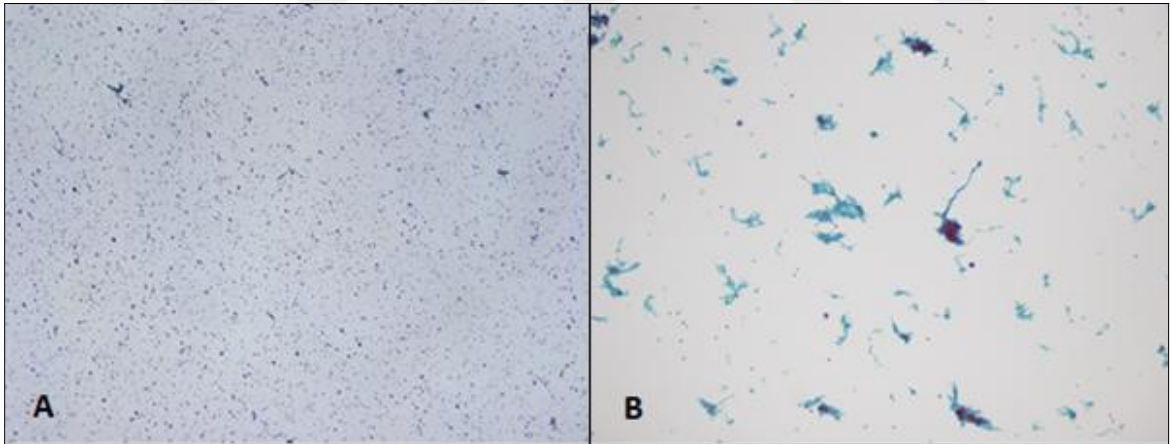
Resim 26. TP preparatında ortaya çıkan periferel rim artefaktı. Kırmızı ok ile gösterilen taraf, hücrelerin yayıldığı dairesel alanın dış kenarı; mavi ok ile gösterilen taraf periferel rim artefaktı ile sitomorfolojik özelliklerin olağan olduğu alanın geçişi; ikisinin arası periferel rim artefaktı bölgesi (PAP boyalı TP).



Resim 27 A ve B. TP preparatında görülen artifisial açıklıklar (A ve B: PAP boyalı TP).



Resim 28. TP preparatında kalan eritrosit debris (PAP boyalı TP).



Resim 29 A ve B. TP preparatlarında kalite. A: İyi kalite preparata örnek: Artefakt içermeyen, hücresel, homojen yayma. B: Düşük kalitede preparata örnek: Bolca ekstrasellüler materyal kalıntısı içeren hücreden fakir yayma (A ve B: PAP boyalı TP).

8. KAYNAKLAR

1. Bibbo M, Wilbur D. Comprehensive cytopathology: Elsevier Health Sciences; 2015.
2. Shidham VB, Atkinson BF. Cytopathologic diagnosis of serous fluids: Elsevier Health Sciences; 2007.
3. Demay RM, Press A. The art & science of cytopathology: ASCP Press Chicago; 2012.
4. Koss LG, Melamed MR. Koss' diagnostic cytology and its histopathologic bases: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
5. Gill G. Cytopreparation: Principles & Practice: Springer Science & Business Media; 2012.
6. Hoda RS. Non-gynecologic cytology on liquid-based preparations: A morphologic review of facts and artifacts. *Diagnostic cytopathology*. 2007;35(10):621-34.
7. Leung CS, Chiu B, Bell V. Comparison of ThinPrep and conventional preparations: nongynecologic cytology evaluation. *Diagnostic cytopathology*. 1997;16(4):368-71.
8. Shambayati B. Cytopathology: Oxford University Press; 2011.
9. Jeffus S. Histology for Pathologists. LWW; 2014.
10. Gray W, Kocjan G. Diagnostic Cytopathology: Expert Consult: Online and Print: Elsevier Health Sciences; 2010.
11. Pereira TC, Saad RS, Liu Y, Silverman JF. The diagnosis of malignancy in effusion cytology: a pattern recognition approach. *Advances in anatomic pathology*. 2006;13(4):174-84.
12. Jha R, Shrestha HG, Sayami G, Pradhan SB. Study of effusion cytology in patients with simultaneous malignancy and ascites. *Kathmandu University medical journal*. 2006;4(4):483-7.
13. Hatchette TF, Drews SJ, Grudeski E, Booth T, Martineau C, Dust K, et al. Detection of Enterovirus D68 in Canadian Laboratories. *Journal of clinical microbiology*. 2015.
14. Leiman G. The cytopathology of serous effusions: the cavalry has arrived—with reinforcements. *Current Diagnostic Pathology*. 2001;7(2):123-30.
15. Grunze H, Spriggs AI. History of clinical cytology: A selection of documents: GIT Verlag E. Giebeler; 1983.
16. Broghamer WL, Jr., Richardson ME, Faurest SE. Malignancy-associated serosanguinous pleural effusions. *Acta cytologica*. 1984;28(1):46-50.
17. Ganjiei-Azar P. Effusion Cytology: A Practical Guide to Cancer Diagnosis: Demos Medical Publishing; 2010.
18. Moriarty AT, Stastny J, Volk EE, Hughes JH, Miller TR, Wilbur DC, et al. Fluids--good and bad actors: observations from the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Nongynecologic Cytology. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2004;128(5):513-8.
19. Gabriel C, Achten R, Drijkoningen M. Use of Liquid-Based Cytology in Serous Fluids. *Acta cytologica*. 2004;48(6):825-35.
20. Pelin-Enlund K, Husgafvel-Pursiainen K, Tammilehto L, Klockars M, Jantunen K, Gerwin BI, et al. Asbestos-related malignant mesothelioma: growth, cytology, tumorigenicity and consistent chromosome findings in cell lines from five patients. *Carcinogenesis*. 1990;11(4):673-81.
21. Walshe AD, Douglas JG, Kerr KM, McKean ME, Godden DJ. An audit of the clinical investigation of pleural effusion. *Thorax*. 1992;47(9):734-7.

22. Sallach SM, Sallach JA, Vasquez E, Schultz L, Kvale P. Volume of pleural fluid required for diagnosis of pleural malignancy. *Chest*. 2002;122(6):1913-7.
23. Cibas ES, Ducatman BS. *Cytology: diagnostic principles and clinical correlates*: Elsevier Health Sciences; 2013.
24. Manosca F, Schinstine M, Fetsch PA, Sorbara L, Maria Wilder A, Brosky K, et al. Diagnostic effects of prolonged storage on fresh effusion samples. *Diagnostic cytopathology*. 2007;35(1):6-11.
25. Krafts K, Pambuccian S. Romanowsky staining in cytopathology: history, advantages and limitations. *Biotechnic & Histochemistry*. 2011;86(2):82-93.
26. MEB TC. TIBBİ LABORATUVAR SİTOLOJİK PREPARAT HAZIRLAMA. 2011.
27. Erkilic S, Kocer NE. Diagnostic accuracy of toluidine blue-stained wet films in effusion cytology. *Acta cytologica*. 2006;50(4):407-9.
28. Jain D, Mathur SR, Iyer VK. Cell blocks in cytopathology: a review of preparative methods, utility in diagnosis and role in ancillary studies. *Cytopathology : official journal of the British Society for Clinical Cytology*. 2014;25(6):356-71.
29. Richardson H, Durfee G, Day E, Papanicolaou G, editors. Role of cytology in detection of early prostatic cancer. HOMBURGER and FISHMAN The laboratory diagnosis of cancer of the prostate Tufts College Medical School, Symposia on Research Advances applied to Medical Practice; 1954.
30. Nathan NA, Narayan E, Smith MM, Horn MJ. Cell block cytology. Improved preparation and its efficacy in diagnostic cytology. *American journal of clinical pathology*. 2000;114(4):599-606.
31. Shivakumarswamy U, Arakeri SU, Karigowdar MH, Yelikar B. Diagnostic utility of the cell block method versus the conventional smear study in pleural fluid cytology. *Journal of cytology / Indian Academy of Cytologists*. 2012;29(1):11-5.
32. Linder J. Recent advances in thin-layer cytology. *Diagnostic cytopathology*. 1998;18(1):24-32.
33. Zahniser DJ, Sullivan PJ. CYTYC Corporation. *Acta cytologica*. 1996;40(1):37-44.
34. Kurtycz DF, Hoerl HD. Thin-layer technology: tempered enthusiasm. *Diagnostic cytopathology*. 2000;23(1):1-5.
35. HOLOGIC. ThinPrep 2000 PROCESSOR Operator's Manual.
36. Thiriyai SA, Rana DN, Roulson J, Crosbie P, Woodhead M, Eyden BP, et al. Diagnosis of alveolar rhabdomyosarcoma in effusion cytology: a diagnostic pitfall. *Cytopathology : official journal of the British Society for Clinical Cytology*. 2010;21(4):273-5.
37. Filie AC, Jones HD. Metastatic carcinoma in effusions: Query primary site. *Pathology Case Reviews*. 2006;11(2):74-7.
38. Gushchin V, Demmy TL, Kane JM, editors. Surgical management of metastatic peritoneal or pleural disease. *Seminars in oncology*; 2007: Elsevier.
39. Nance K, Shermer R, Askin F. Diagnostic efficacy of pleural biopsy as compared with that of pleural fluid examination. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 1991;4(3):320-4.
40. Garcia LW, Ducatman BS, Wang HH. The value of multiple fluid specimens in the cytological diagnosis of malignancy. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 1994;7(6):665-8.
41. Motherby H, Nadjari B, Friegel P, Kohaus J, Ramp U, Bocking A. Diagnostic accuracy of effusion cytology. *Diagnostic cytopathology*. 1999;20(6):350-7.

42. Chen L, Caldero SG, Gmitro S, Smith ML, De Petris G, Zarka MA. Small orangiophilic squamous-like cells: an underrecognized and useful morphological feature for the diagnosis of malignant mesothelioma in pleural effusion cytology. *Cancer cytopathology*. 2014;122(1):70-5.
43. Ylagan LR, Zhai J. The value of ThinPrep and cytospin preparation in pleural effusion cytological diagnosis of mesothelioma and adenocarcinoma. *Diagnostic cytopathology*. 2005;32(3):137-44.
44. Mohanty SK, Dey P. Serous effusions: diagnosis of malignancy beyond cytomorphology. An analytic review. *Postgraduate medical journal*. 2003;79(936):569-74.
45. Michael CW, McConnel J, Pecott J, Afify AM, Al-Khafaji B. Comparison of ThinPrep and TriPath PREP liquid-based preparations in nongynecologic specimens: a pilot study. *Diagnostic cytopathology*. 2001;25(3):177-84.
46. Elsheikh TM, Kirkpatrick JL, Wu HH. Comparison of ThinPrep and cytospin preparations in the evaluation of exfoliative cytology specimens. *Cancer*. 2006;108(3):144-9.
47. Lee YM, Hwang JY, Son SM, Choi SY, Lee HC, Kim EJ, et al. Comparison of diagnostic accuracy between CellprepPlus(R) and ThinPrep(R) liquid-based preparations in effusion cytology. *Diagnostic cytopathology*. 2014;42(5):384-90.
48. Nasuti JF, Tam D, Gupta PK. Diagnostic value of liquid-based (Thinprep) preparations in nongynecologic cases. *Diagnostic cytopathology*. 2001;24(2):137-41.
49. Choi J, Shim HS, Song JW, Chae SW, Lee YN, Kim JE, et al. Image analysis of peripheral compression artefacts of ThinPrep((R)) liquid-based cytology preparations. *Cytopathology : official journal of the British Society for Clinical Cytology*. 2013;24(2):99-104.
50. Song LH, Goh ES, Phang LC, Poh WT, Tay SK. Technical aspect of ThinPrep. *Singapore medical journal*. 2000;41(12):575-8.
51. Michael CW, Hunter B. Interpretation of fine-needle aspirates processed by the ThinPrep technique: cytologic artifacts and diagnostic pitfalls. *Diagnostic cytopathology*. 2000;23(1):6-13.
52. Nicol TL, Kelly D, Reynolds L, Rosenthal DL. Comparison of TriPath thin-layer technology with conventional methods on nongynecologic specimens. *Acta cytologica*. 2000;44(4):567-75.
53. Soendergaard K. On the interpretation of atypical cells in pleural and peritoneal effusion. *Acta cytologica*. 1976;21(3):413-6.
54. Bedrossian CW. Diagnostic problems in serous effusions. *Diagnostic cytopathology*. 1998;19(2):131-7.
55. Boerner SL. Mimicry and pitfalls in effusion cytology. *Pathology Case Reviews*. 2006;11(2):85-91.
56. Kalomenidis I, Light RW. Pathogenesis of the eosinophilic pleural effusions. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2004;10(4):289-93.
57. University T. Body Cavities and serous membranes [22.09.2015]. Available from: <https://www.studyblue.com/notes/n/body-cavities-and-serous-membranes/deck/5446268>.

EKLER

EK 1: ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ

	ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ	Doküman Adı: KADB-F.23-R.00
		Yayın Tarihi: 18.04.2013
		Sayfa No: 120/133
		Onaylayan: Daire Başkanı

- 1-) Bu çalışma bilimsel bir araştırma niteliğindedir.
- 2-) Bu çalışma seröz efüzyon (vücut boşluklarında biriken sıvı) materyallerinde sıvı bazlı sitoloji yöntemi olan ThinPrep® yöntemini konvansiyonel sitoloji yöntemi ile karşılaştırmayı (sıvıdaki hücrelerin iki farklı yöntemle incelenmesi) amaçlamaktadır.
- 3) Bu çalışma kapsamında sizden veya yakınınızdan (hastanızdan) alınan seröz efüzyon örneğine uygulanacak işlemler rutin sitolojik inceleme için gerekli olanlarla sınırlı kalacaktır.
- 4) Yapılacak olan inceleme sadece araştırma amaçlıdır. Bununla birlikte tanınıza belirli ölçüde olumlu katkı sağlayacaktır.
- 5) Sizin yakınınızın araştırmaya katılımı isteğe bağlı olup ve gönüllü istediği zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkını kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilir.
- 6) İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Kurum ve diğer ilgili sağlık otoriteleri, gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişebilir, ancak bu bilgiler gizli tutulacak, gönüllü veya yasal temsilcisi yazılı “*bilgilendirilmiş gönüllü olur formu*”nu imzaladığında söz konusu erişime izin vermiş olacaktır.
- 7) İlgili mevzuat gereğince kimliğinizi ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanamayacak; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.
- 8) Araştırma hakkında, kendi hakları hakkında veya araştırmayla ilgili daha fazla bilgi temin edebilmek için aşağıdaki telefon numarasından ilgili kişiye erişebilir.
- Dr. Ertuğrul Oruç: 414 30 00 / 21644
- 9) Araştırmaya tahmini olarak 250 hastanın katılımı beklenmektedir.
- 10) Sizlerden veya yakınınızdan elde edilecek olan seröz efüzyon materyalleri sitolojik inceleme için kullanılacaktır.
- 11) Seröz efüzyon materyalleriyle ilgili tüm çalışmalar bölümümüzde uygulanacak olup yurtdışına bu amaçla materyal gönderilmeyecektir.

12) Bu araştırma için size herhangi bir ücret ödenmeyecek, sizden de herhangi bir ücret alınmayacaktır. Bağlı bulunduğunuz Sosyal Güvenlik Kurumun (SGK)' dan herhangi bir ücret alınmayacaktır.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum.

“Seröz efüzyon sitolojisinde konvansiyonel sitoloji ve sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep) yöntemlerinin karşılaştırılması” isimli araştırma kapsamına alınan seröz efüzyon örneğimin yukarıda bahsi geçen araştırmada ve ilerde yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Tarih:

Gönüllünün adı, soyadı:

Gönüllünün imzası:

Tel:

Yakınının adı,soyadı:

Yakınının imzası:

Tel:

Araştırma Sorumlusu: Dr. Ertuğrul Oruç

Tarih:

İmza:

EK 2: SERÖZ EFÜZYON MAKROSKOPİ MATBU FORM

Biyopsi no:.....

Tarih:/...../.....

Materyalin cinsi:.....

Makroskopi:

..... cc hacimde renkli, bulanık / berrak, tortulu / tortusuz sıvı.

2 adet konvansiyonel sitoloji preparatı ve 1 adet sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep®) preparatı hazırlandı (3 PAP).

..... adet hücre bloğu oluşturuldu.

Materyalin kalanı: VAR YOK

Materyali hazırlayan:.....

Hemoliz sıvısı ile muamele: EVET HAYIR

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sayısı:

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi dipte kalan pellet miktarı:.....mm

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama öncesi pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı:.....mm

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası dipte kalan pellet miktarı:.....mm

CytoLyt® çözeltisi ile yıkama sonrası pellet üzerinde bırakılan süpernatant miktarı:.....mm

ThinPrep® PreservCyt® solüsyonuna aktarılan miktar:.....µl