

Beyin Tümörlerinde B. O. S. Sitolojisi ile Histopatolojik Korrelasyon *

Dr. İncilay ERALP**
Dr. Erhan OĞUL***
Dr. Nevzat PEHLİVAN**

ÖZET

Bu çalışmada, beyin tümörü tespit edilen 29 vak'ada B.O.S. (Beyin-Omurilik-Sıvısı) sitolojisi bulguları ile histopatolojik bulgular arasındaki korrelasyon araştırılarak sito-diagnozun değeri tartışılmıştır.

29 vak'anın 18'inde (% 62) sitolojik olarak doğru tanı konduğu, genellikle malign patolojilerde sito-diagnoz ihtimalinin daha yüksek olduğu saptanmıştır.

SUMMARY

Correlation of CSF Cytology and Histopathological Findings in Brain Tumours

In this study, correlation of CSF cytology and histopathological findings in 29 Brain Tumours was investigated and value of cyto-diagnosis was discussed.

In 18 (62 %) cases cyto-diagnosis was made correctly. In malignant processes, high probability of correct cyto-diagnosis was found.

Santral Sinir Sistemi (S.S.S.) tümörlerinin tanınmasında kullanılan ve artık rutin hale gelmiş bulunan, nörofizyolojik, radyolojik yöntemler, radyoizotop ve bilgisayarlı beyin tomografisi gibi daha gelişmiş tanı yöntemleri, nöropatolojik incelemeler, doğal olarak son sözü söylemektedirler. Ancak belki de nörolojik muayene kadar rutine girmiş bulunan beyin omurilik sıvısının (BOS) muayenesi, son yıllarda

* XVI. Ulusal Psikiyatri ve Nörolojik Bilimler Kongresinde tebliğ edilmiştir.
6-11 Ekim 1980, Antalya.

** Uzman Doktor

*** Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Birimi Profesörü

alanını giderek genişleten sitolojik bilim dalının etkisi ile kendini daha önemle hissettirmeye başlamıştır.

Quincke ¹'nin 1891 yılında Lomber Ponksiyonu tıp dünyasında tanıtmasından bu yana gelişmeler birbirini izlemiştir. Önce sayma kameraları geliştirilmiştir ²⁻³. Ancak bunlarında yetersiz kalması sonucu ve 1930'lardan başlayarak başarılarını hissettirmeye başlayan Nöroşirürji bilim dalının da etkisiyle daha iyi yöntemler aranmaya başlanmıştır. S.S.S. tümörlerinde BOS'da genellikle az sayıda hücre görülmesi, alınan materyeldeki hücreleri konsantre etmek ihtiyacını doğurmuştur. Alzheimer ⁴'in ilk olarak denediği sediment elde etme tekniğine paralel olarak kullanılabilir nitelikte atlaslar yayımlanmıştır ⁵. Ancak, klinik kullanım alanına halen giremeyen BOS sitolojisi, 1950'lerden itibaren layık olduğu yeri almaya başlamıştır.

Daha önceleri de denenen ⁶⁻⁷ ve Sayk ⁸'in tam olarak geliştirdiği spontan sedimentasyon tekniği ve başlıca vücut sıvılarında denenmiş olan ⁹ membran-filtre tekniğinin BOS sitolojisi alanına girmesi ¹⁰ ile bugünkü aşamaya gelinmiştir. Tümör hücrelerinin tanınmalarında; kullanılan çeşitli tekniklerin, boyama farklılıklarının ve yeni gelişmekte olan bir laboratuvar araştırma yöntemi olmasından ötürü BOS sitolojisinin, değeri hakkında doğal olarak çeşitli görüşler bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, membran-filtre tekniği ile yapılan likor sitolojisi ile histopatolojik korrelasyonu araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Ekim 1978 — Haziran 1979 tarihleri arasında Bursa Tıp Fakültesi Nöroloji ve Nöroşirürji Kliniklerine başvuran intrakraniyel tümör şüphesi olan 29 vak'a üzerinde uygulanmıştır.

Vak'aların yaş ortalaması 37,4 olup, en genç vak'a 7 yaşında, en yaşlı vak'a 53 yaşında idi.

Vak'aların 9'u kadın, 20'si erkekti.

Vak'aların hepsinde klinik tanı, nörolojik muayene, direkt kranium ve akciğer grafileri, EEG, serebral angiografi ve rutin-kan-idrar laboratuvar tetkikleri yapılarak konulmuş, bazı vak'alarda ventrikülografi, myelografi ve pneumoensefalografi tetkikleri de yapılmıştır.

Vak'aların hepsinde, lomber ponksiyon veya suboksipital ponksiyon yapılarak; bazı vak'alarda ise ventrikülografi esnasında veya operasyon esnasında ventrikül ponksiyonu yoluyla, beyin omurilik sıvısı alınarak rutin ve sitolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Rutin beyin omurilik sıvısı incelenmesinde mm³ de hücre sayısı, total protein, klorür, şeker miktarlarına bakılmış ve bakteriyolojik tetkik yapılmıştır. Bütün vak'aların tümör biyopsi materyali Bursa Tıp Fakültesi Nöroloji Kliniği, Nöropatoloji laboratuvarında hazırlanmış ve değerlendirilmiştir.

BOS'un Sitolojik Muayenesi

I — GEREÇLER:

a) Millipor filtre cihazı (Micro-syringe 25 mm Filter Holder, Luer Inlet Cat. No. XX3002500 — Millipore Corporation Redford, Massachusetts 01730 U.S.A.)

- 1- Paslanmaz ve dışında erkek luer çıkıntısı olan ana kısım;
 - 2- Düz teflon halka;
 - 3- Paslanmaz yardımcı delikli disk;
 - 4- Polietilen filtre çapı 25 mm her porun çapı 3 µm beyaz ve düz (Millipore Filter SSWP, 04700. Millipore corp. Bedford, Mass, 01730 U.S.A.);
 - 5- Yuvarlak teflon halka;
 - 6- Paslanmaz dişli luerluklu metal kapak.
- b) Luer lock cam enjektör
 - c) Çeşitli boyda cam tüpler, lam ve lameller
 - d) Boyama için kullanılan kimyasal maddeler.

II — YÖNTEM

a) *Filtrasyon*: Bunun için Bischoff ve Kistler'in tarif etmiş olduğu metod uygulanmıştır ¹¹. Hastalardan steril şartlarda BOS elde edildi. Lomber pnksiyon yoluyla alınan BOS örneklerinin 1 cm³'ü aşmamasına dikkat edildi. BOS Materyali derhal enjektör içine alınıp filtre cihazının erkek Luer Lock çıkıntısı olan kısmına monte edildi. Alet ve enjektör dikey konuma getirilerek tespit edildi. Enjektöre hiçbir basınç uygulamaksızın, BOS yerçekimi ve enjektör pistonunun oluşturduğu ağırlık altında filtrasyona bırakıldı. Diğer uçtan damlayan BOS bir tüp içinde toplanarak diğer rutin tetkiklerin yapılması amacıyla kullanılmak üzere toplandı. Bütün BOS örneği süzöldükten sonra cihaz demonte edilip polietilen filtre süzölme yüzeyi üstte kalmak üzere bir pensetle alınıp boyanmak üzere hazırlandı.

b- *Boyama*: Bunun için Papanicolaou'nun tarif etmiş olduğu boyama, Spriggs ve Baddington'un değiştirdiği şekilde uygulandı ¹².

Filtre BOS'un süzöldüğü kısım üstte kalmak üzere aşağıdaki işlemden geçirilerek boyama gerçekleştirildi.

- 1- % 70 lik alkol içinde 2 dk.
- 2- % 50 lik metil alkol içinde 2 dk. tutuldu.
- 3- Distile suda 2 dak. yıkandı.
- 4- Hematoksilen içinde 2 dakika tutulduktan sonra
- 5- Distile suda 4 dak. süre ile yıkandı.
- 6- % 0.05 HCl solüsyonunda 2 dak.,
- 7- Distile suda 2 dak.,
- 8- % 0,5 lik sodyum asetat solüsyonunda 2 dak. tutuldu.
- 9- Distile suda 2 dak.,
- 10- % 70 lik alkol'de 2 dak. ve
- 11- % 95 lik alkol'de 2 dak. yıkandı.
- 12- OG-5 solüsyonunda 2 dak.,
- 13- % 95 lik alkol'de 12 dak. ve
- 14- EA-solüsyonunda 2 dak. tutuldu.
- 15- Isopropil alkolde 2 dak. ve
- 16- Isopropil alkol/xylol (1 : 1) solüsyonunda 2 dak. tutuldu.
- 17- Xylol içinde filtre şeffaf oluncaya kadar bırakıldı.

Boyama süresi bitmiş olan filtre temiz bir lam üzerine konuldu, bir lamelle kapatıldıktan sonra Kanada Balzamu ile kapatılarak kurutulmaya bırakıldı. Preparatlar en geç 1 gün içinde ışık mikroskopu altında immersiyon objektifi ile tetkik edildi.

Konulan sitolojik tanılar hastalardan elde edilmiş olan biyopsi materyalinin histopatolojik sonuçları ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

Histopatolojik kesin tanıları konulmuş 29 S.S.S. tümörü vak'asının 27'si (% 93,1) primer S.S.S. tümörü, 2'si (% 6,9) metastatik tümör olarak değerlendirilmiştir. Histopatolojik tanılarına göre tümörlerin dağılımı Tablo: I'de gösterilmiştir.

Tablo: I

Tümör Cinsi	Vaka sayısı	% Oranı
Astrozitoma	10	34.4
Glioblastoma	4	13.8
Menengioma	4	13.8
Ependimoma	2	6.8
Nörinoma	2	6.8
Adenoma (Hipofiz)	2	6.8
Fibrosarkom	1	3.4
Hemangioblastom	1	3.4
III ventrikül kolloid kisti	1	3.4
Metastatik tümörler	2	6.8
TOPLAM	29	100.0

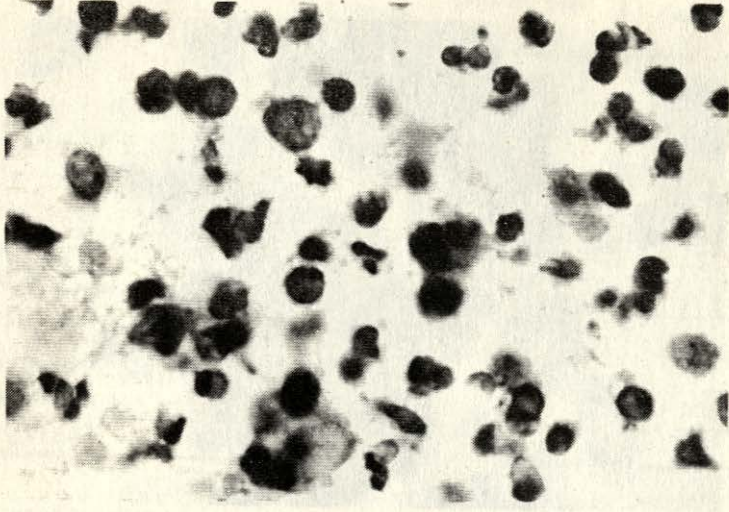
BOS sitolojik tetkikleri yapılan 29 vak'anın 18 tanesinde patolojik özellikleri olan hücreler saptanmıştır. Burada şüpheli olarak görülen hücreler de patolojik olarak değerlendirilmiştir. Bu oran bütün vak'alar için % 62, primer S.S.S. tümörleri için % 59,2, metastatik tümörler için % 100'dür. Histopatolojik bulgular ele alınarak tümörler tek tek değerlendirildiğinde BOS sitolojik tetkiklerinde histopatolojik tanıya uygun sonuç elde edilme oranları Tablo: II'de gösterilmiştir.

Sitolojik preparatların genel olarak değerlendirilmesi şöyledir:

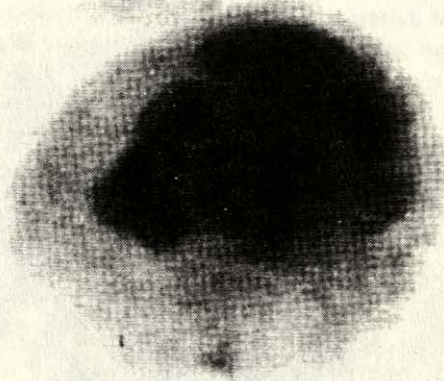
1. *Astrozitoma*: Bütün vak'alarda büyük ekstantrik yerleşimli hiperkromatik nukleusu olan, iyi boyanmayan, vakuol ihtiva eden sitoplazmalı hücreler saptandı. Nukleuslar içinde küçük bir veya birkaç nukleolus gözlendi. Hücreler tek tek olabildiği gibi genellikle kümeleşme eğilimi gösteriyordu. Hücrelerde mitoz sıklığı rastlanıyordu.

2. *Glioblastoma*: Tümör hücrelerinde polimorfizm ve atipi özelliği artmış olarak görüldü. Büyük hiperkromatik, sitoplazmalarında vakuol içeren nukleusu kenara yerleşmiş genellikle tek tek hücreler mevcuttu. İzomorfik hücre kümelerine pek rastlanılmadı.

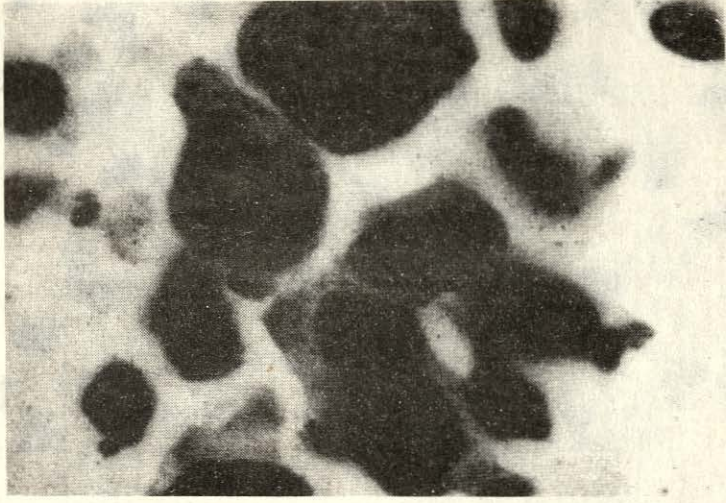
3. *Meningioma*: Hücreler kümeler halinde olup, açık renkte boyanan bazofilik sitoplazma ve orta büyüklükte yuvarlak nukleusları vardı. Hemen bütün hücrelerde koyu boyanan nukleoluslar gözlendi, belirgin bir polimorfizme rastlanılmadı.



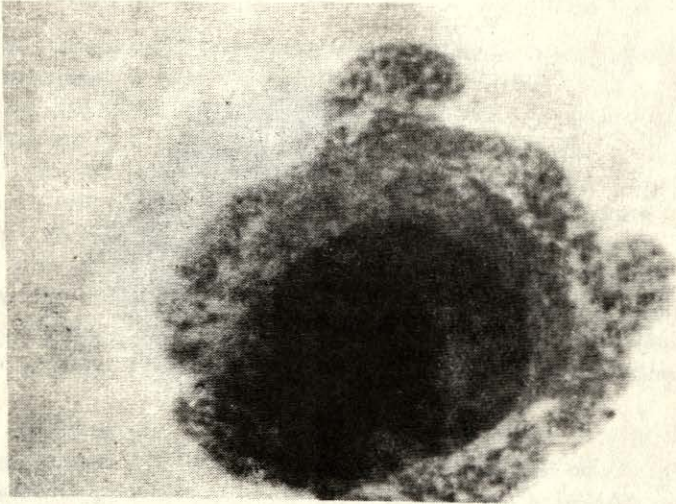
Resim: 1
Astrozitoma. Büyük, Eksantrik Yerleşimli, Hiperkromatik Nukleusu Olan, İyi Boyanmayan ve Vakuol İhtiva Eden Sitoplazmalı Hücreler



Resim: 2
Glioblastoma. Polimorfizm ve Atipi Özelliği Gösteren, Büyük Hiperkromatik Nukleuslu Tümör Hücresi



Resim: 3
Ependimoma. İzomorfik, Yuvarlak, Tek ve Hiperkromatik Nukleuslu, Sitoplazmaları Koyu Boyanan Tümör Hücreleri



Resim: 4
Sindirim Sistemi Ca. Metastazı. Büyük ve Polimorfik Hücreler. Sitoplazmaları Graniülasyon Göstermekte. Nukleusları Hiperkromatik

Tablo: II

Histolojik Tanı	Vaka sayısı	Sitolojik tanı vaka sayısı	Oranı
Astrositoma	10	6	% 60
Glioblastoma	4	3	% 75
Menengioma	4	2	% 50
Ependimoma	2	2	% 100
Nörinoma	2	2	% 100
Adenoma (Hipofiz tm)	2	1	% 50
Fibrosarkom	1	—	—
Hemangioblastoma	1	—	—
III ventrikül kolloid kisti	1	—	—
Metastatik tm.	2	2	% 100
TOPLAM	29	18	% 62

4. *Nörinoma*: Koyu boyanan ve granüllü sitoplazmaları olan tek veya ikili kümeler yapan hücelere rastlanıldı. Bazı hücrelerin sitoplazmalarında vakuoller bulunmaktaydı.

Nukleuslar genellikle ekstantrik yerleşmiş, koyu boyanmış ve oldukça büyük görünümde idiler.

5. *Hipofiz adenomu*: Hücreler izomorfik olup, epitel hücrelerine benzemekte idi. Nukleusları koyu boyanmış, hücrenin büyük bir kısmını kaplıyordu. Sitoplazmaları eozinofilik granüller ihtiva ediyordu. Hücreler kümeler halinde bulunuyorlardı.

6. *Ependimoma*: Hücreler genellikle izomorfik, yuvarlak tek ve büyük nukleuslu hücreler olup, sitoplazmaları koyu boyanıyordu. Sınırları belirli değildi.

7. *Metastatik tümörler*: Bu tümörlerden biri bronkojenik karsinom metastazı, diğeri sindirim sisteminden kaynaklanmış kanser metastazı idi.

a) Bronkojenik Karsinoma Metastazı: Dev hücre formasyonu polimorfizm gösteren hücrelerdi. Sitoplazmalarında, yıkım değişikliklerine rastlandı.

b) Sindirim Sistemi Kanseri Metastazı: Büyük ve polimorfik hücrelerde sitoplazmalarında granülasyon gözükmekteydi. Nukleusları metakromatik ve silik sınırlıydı.

SONUÇ

Çalışmalarımızın sonucunda şu hususlar saptanmıştır:

1- Çalışma kapsamına alınmış bulunan 29 vak'anın 18'inde BOS da patolojik hücreler bulunmuştur. Literatürle karşılaştırıldığında oranın yüksek oluşu:

a) Vak'aların hastahaneye çok ilerlemiş safhalarda başvurmaları:

b) BOS un birçok vak'ada ventrikül ponksiyonu ile elde edilmiş olması, bu nedenle patolojik hücre bulunma şansının artması,

c) Metod farklılığı,
ile açıklanabileceği,

2- Sitolojik tetkiklerin literatürde bildirilenler ile uygunluk gösterdiği,

3- Ventrikül ponksiyonu yolu ile elde edilen BOS örneklerinin sitolojik tetkikin diğer yollarla elde edilenlere oranla daha pozitif sonuçlar vereceği,

4- S.S.S. tümörü şüphe edilen bütün vak'alarda BOS un sitolojik tetkikin yapılmasının tanıya varmada yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. QUINCKE, H.: Lumbal punktion des Hydrozephalus. Klin. Wschr. 28: 929, 1891. In: Handbook of Clinical Neurology. P.J. Vinken and G.W. Bruyn. North-Holland Publishing Company. (Amsterdam). 1974, Vol: 16, p. 371.
2. FUCHS, A., and ROSENTHAL, R.: Physikalisch-chemische, zytologische und anderweitige Untersuchungen der Zerebrospinal flüssigkeit. Wien. Med. Presse 45: 2081, 1934. In: Cerebrospinal Fluid Cytology. Manfred Oehmichen. W.B. Saunders Company (Philadelphia), 1976, p.1.
3. JESSEN, H.: Zahl und Zahlung der Zelligen Elemente in der Spinalflüssigkeit. Z. Neurol. 159: 82, 1937.
4. ALZHEIMER, A.: Einige Methodenzur Fixierung der zelligen Elemente der Zerebrospinalflüssigkeit. Cbl. Nerveheilk. Psychiat. 30: 449, 1907. In: Cerebrospinal Fluid Cytology . Manfred Oehmichen. W.B. Saunders Company. (Philadelphia) 1976, p. 1.
5. REHM, Q: Atlas der Zerebrospinalflüssigkeit. Fisher, Jena, 1932.
6. WEDEMEYER, H.E.: Über die Zellen im. Liquor cerebrospinalis bei der Meningitis tuberculosa. Klin. Wschr. 14: 858, 1935.
7. SCHONENBERK, H.: Eine einfache Methode zur Herstellung gut. Differenzierbarer Liquorzellpreparate Dtsch. Med. Wschr. 74: 881, 1949.
8. SAYK, J.: Ergebnisse neuerliquor-cytologischer Untersuchungen mit dem Sedimentierkammer-Verfahren. Arzt. Wschr., 9: 1042, 1954.
9. SEAL, S.H.: A method for concentrating cancer cells suspended in large quantities of fluid. Cancer (Philadelphia), 9: 866, 1958.
10. HUTTON, W.E.: A survey of the application of the "molecular" membran filter to the study of cerebrospinal fluid cytology. Am. J. Clin. Path. 30: 407, 1958.
11. KISTLER, G.S. and BISCHOFF, A.: Zur exfoliativen Cytologie kleiner Flüssigkeitsmengen., Schweiz. Med. Wschr., 92: 863, 1962.
12. SPRIGGS, A.I., and BODDINGTON, M.M.: The cytology of effusions in the pleural, pericardial and peritoneal cavities and of cerebrospinal fluid. William Heinemann (2 nd ed.), London, 1968.