

LENF DÜĞÜMÜ LEZYONLARINDA SİTOLOJİK BULGULARIN DOKUNDURMA PREPARATLARIN (İMPRINT) HİSTOLOJİK KESİTLER İLE BİRLİKTE İNCELENEREK DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Kutsal YÖRÜKOĞLU (*) • Prof. Dr. Emek ÖZEN (**) • Prof. Dr. Cavit ÇEHRELİ (***) • Dr. Mehmet ALAKAVUKLAR (****)

ÖZET: Taze cerrahi materyallerden hazırlanan dokundurma preparatların (imprint) sitolojik incelenmesi yöntemi 1927'de uygulanmaya başlamış, 1958'de lenf düğümü dokundurma preparatlarına ait morfolojik bulgular tanımlanmış, daha sonra sitokimya, immünositokimya ve ultrastrüktürel çalışmaların uygulanması ile sitolojik tanı yöntemlerinde gelişmeler sağlanmıştır.

Bu çalışmada 45 olguya ait lenf düğümlerinin dokundurma preparatları ve histolojik kesitleri beraber incelenerek değerlendirilmiştir.

Frozen kesitler ile tanı konulan olgularda lenf düğümü dokundurma preparatları yapılarak frozen kesitlere göre hücre ayrıntıları daha iyi gösterilebilmektedir. Mikrometastazların parafin bloklardan elde edilen histolojik kesitler kullanılarak saptanmasında karşılaşılan güçlükler nedeni ile lenf düğümlerine dokundurma preparatların uygulanması, hücreleri daha ayrıntılı göstererek mikrometastazların saptanmasında parafin kesitlere yardımcı olduğu bildirilmektedir.

SUMMARY: Imprints of fresh tissues were used as diagnostic aids as early as 1927 and in 1958, interpretation of lymph node imprints are described. Application of cytochemistry, immunocytochemistry and ultrastructural analysis on lymph node imprints has broadened the views on the technic.

In this study, we examined lymph node imprints together with histologic sections of 45 cases and interpreted the morphological findings.

In conclusion the accuracy of lymph node diagnosis is enhanced by the use of imprints together with histological sections because of the superiority of interpretation of cellular details by imprints. However imprints alone have a limited diagnostic value in the detection of micrometastases in the lymph nodes.

GİRİŞ

Cerrahi materyallerden dokundurma preparatlar (imprint)

yoluyla sitolojik inceleme yöntemi ilk kez 1927'de Dudgeon ve Patrick tarafından birçok değişik organ ve dokuya uygulanmış ve tanımlanmıştır (26). Yöntem daha sonra tiroid tümörlerinde (28), nöroşirürjiye ait biopsilerde (22), oküler malign melanomlarda (11), meme lezyonlarının intraoperatif tanısında (9), postmortem incelemelerde (32) ve vitamin A yetmezliğinin saptanması (37) gibi birçok değişik alanda uygulanarak yöntemin özgülüğü ve duyarlılığı tanımlanmış,

* Dokuz Eylül Ü. Tıp F. Patoloji ABD Araştırma Görevlisi

** Dokuz Eylül Ü. Tıp F. Patoloji ABD Başkanı

*** Dokuz Eylül Ü. Tıp F. İç Hastalıkları ve Onkoloji ABD Başkanı

**** Dokuz Eylül Ü. Tıp F. Hematoloji-Onkoloji ABD Öğretim Üyesi

Tablo 1: 45 olgunun patolojik tanılara göre dağılımı

BENIGN	17
Reaktif lenfoid hiperplazi	14
Lenfadenit	3
SİNİR	4
Antipik hiperplazi	1
Anjioidimmünoblastik lenfadenopati	2
Anjiyofoliküler hiperplazi	1
MALIGN	12
Hodgkin lenfoma	6
Non-Hodgkin lenfoma	4
Granülositik sarkom	1
Malign timoma	1
METASTATİK	12
TOPLAM	45

histopatoloji ve frozen kesitlere üstünlüğü tartışılmıştır.

Lenf düğümlerinde sitolojik inceleme yöntemi ise yine 1927'lere kadar gitmektedir. Önce yayma biçiminde uygulanan yöntem, 1958'de Ultmann ve arkadaşları tarafından, bugün uygulanmakta olan dokundurma preparatların incelenmesi biçimine dönüşmüştür (35). Daha sonra değişik teknik yöntemler ile birçok çalışmalar yapılmış (1,13), prostat ve meme karsinomuna bağlı lenf düğümü metastazlarında (12,29), metastatik lenf düğümü tümörlerinde (5,14) kullanılmıştır.

Tüm bilim dallarında olduğu gibi patoloji alanında da sağlanan teknik gelişmelere paralel olarak lenf düğümü dokundurma preparatlarında sitokimyasal (6,8,20,38) ve immüno-sitokimyasal yöntemlerin tanımlanması (16,30) ile lenfoid hücrelerin ayırımı, yüzey immünglobulinlerin gösterilmesi ve monoklonal antikorların uygulanması ile lenfosit türlerinin ayırımı sağlanmıştır. Ayrıca dokundurma preparatlara ultrastrüktürel çalışma da uygulanmış ve hücrenin ince ayrıntılarının doku kesitlerinden daha iyi gösterildiği vurgulanmıştır (33). Son yıllarda Koo ve arkadaşları, geniş bir lenf düğümü dokundurma preparatları serisinde non-Hodgkin lenfomala-

rın immünolojik özelliklerini, histopatoloji ile ilişkilerini incelemiş ve non-Hodgkin lenfomaların dokundurma preparatları ile sınıflandırılması yolunda girişimlerde de bulunmuşlardır (19).

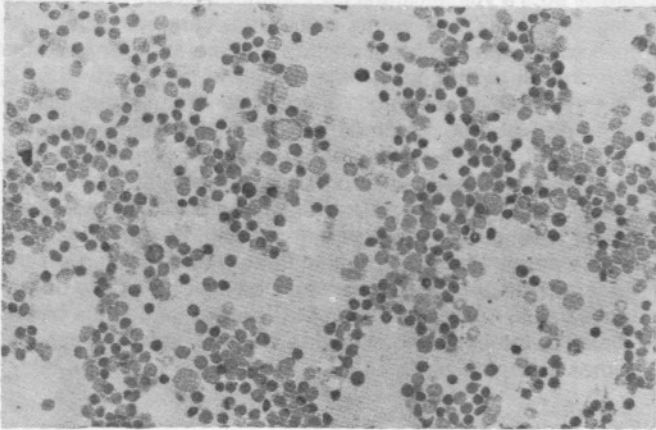
Lenf düğümlerinin patolojik incelemelerinde kesin tanıya ulaşma her olguda mümkün olamamaktadır. Sadece Hematoksilen-Eozin ile boyalı histolojik kesitlerde ileri yöntemlerin uygulandığı durumlarda bile eğer teknik yeterlilik de sağlanamazsa, tanıya ulaşmak açısından bir takım zorluklarla karşılaşmaktadır.

Bu çalışmaların amacı, incelemiş olduğumuz 45 olguya ait lenf düğümü dokundurma preparatlarındaki bulguları, histolojik kesitler ile birlikte değerlendirilerek tanımlamak, sitokimyasal ve immüno-sitokimyasal yöntemleri de uygulayarak, getirdiği yeni boyutları tartışmaktır.

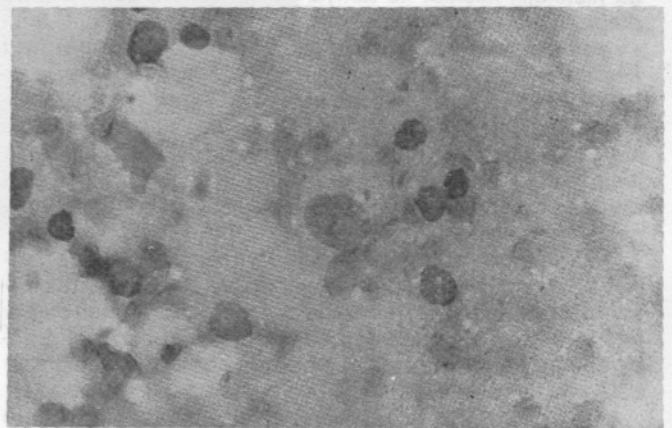
GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na ulaşan 45 olguya ait lenf düğümleri incelendi. 3 olguda, değişik zamanlarda ayrı ayrı gönderilen birden çok lenf düğümünde, ayrıca pake oluşturan ve radikal lenf düğümü diseksiyonu yapılan 20 olguda tüm lenf düğümlerinde ve tüm kesit yüzeylerinde dokundurma preparatları uygulandı.

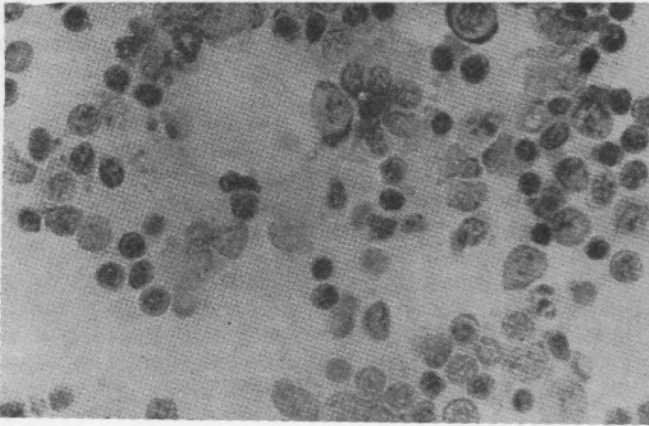
Lenf düğümleri kaynaklarda belirtildiği gibi (35), önce bir jilet ya da bistüri ile ikiye ayrıldı. Kesit yüzeyleri temiz lam üzerine hafifçe dokundurularak preparatlar hazırlandı. Yüzeyde yer alan ve görünümü engelleyen eritrositler nedeni ile, hazırlanan ilk lamlar atıldı. Preparatların bir bölümü, kurumadan % 95 etil alkolde tespit edildi ve Hematoksilen, eozin, Papanicolaou ve/veya Toluidin blue ile, havada kurutulan diğer preparatlar ise tespitten sonra Wright yöntemi ile boyandı (15). Bu preparatların değerlendirilmesinden sonra gerek görülen olgularda Periodic acid-Schiff ve Methyl Green Pyronin boyaları uygulandı (15). Olguların bir bölümüne de tanımlandığı biçimde immüno-sitokimyasal boyamalar uygulandı (2,3,16,18,21,27,34). İmmüno-sitokimya yönteminde CRL (Cambridge Research Laboratory, USA) ürünleri kullanıldı ve non-Hodgkin lenfoma saptanan 4 olguda Kappa, Lambda hafif zincirleri, IgG, IgM, IgA ile meme karsinomlu olgularda östrojen reseptörü araştırıldı.



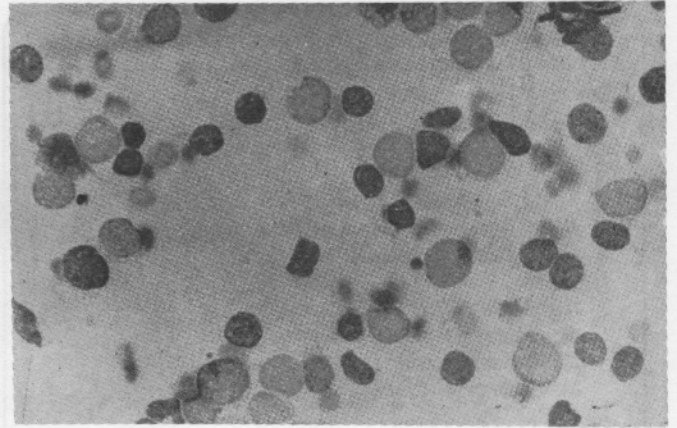
Resim 1: Anjioidimmünoblastik lenfadenopati olgusunda immünoblaslar, plazma ve mast hücreleri, lenfositler ile eozinofil lökositler. (Wright boyası. x315)



Resim 2: Nodüler sklerozan Hodgkin lenfoma olgusunda hücreden fair dokundurma preparatta Reed-Sternberg hücresi. (Wright boyası. x315)



Resim 3: Lenfoblastik lenfoma olgusunda uniform görünümde lenfoblastlar. (Wright boyası x315)



Resim 4: Malign timoma olgusunda neoplastik epitelyal hücreler ve benign lenfositler. (Wright boyası x315)

Dokundurma preparatlar hazırlandıktan sonra dokular formalinde tespit edildi ve hazırlanan parafin kesitlere Hematoksilen-Eozin, gerekli görülen olgularda ise vanGieson, retikulum, PAS ve MGP boyaları uygulandı.

Non-Hodgkin lenfomalı olgularda tür ayırımı International Working Formulation'a göre yapıldı (25).

BULGULAR

45 olguya ait lenf düğümlerinin histolojik incelemeleri sonucunda ulaşılan tanımlar ve dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Reaktif lenfoid hiperplazi saptanan olgularda matürasyonu değişik dönemlerde olan lenfositler ile makrofajlar, plazmositler ve mast hücreleri ayrıca fibrozis ve nekroz izlenmiştir. Granülomatöz lenfadenitli olgularda epitelooid histiositler ve multinükleer dev hücreler zorlukla gözlenebilmiştir.

Sınır lezyonlar saptanan olgularda immünoblastlar, plazmositler, eozinofil lökositler ve mast hücreleri izlenmiş, tanı ancak histolojik kesitlerin incelenmesi ile verilebilmiştir (Resim 1).

Özellikle Nodüler Sklerozan Hodgkin lenfomalı bir olguda histolojik kesitler ile tanıya gidilemezken, dokundurma preparatlarında Reed-Stenberg hücrelerinin görülmesi tanıya yardımcı olmuş, biopsinin tekrarı bu tanıyı doğrulamıştır (Resim 2).

Non-Hodgkin lenfoma saptanan olgularda (bir olguda büyük hücreli immünoblastik, bir olguda diffüz mikst büyük ve küçük hücreli, bir olguda diffüz büyük hücreli, bir olguda da lenfoblastik türde) uygulanan immünohistokimya ve hücre ayrıntılarının daha iyi değerlendirilmesi ile tür ayırımında belirgin yararlar sağlamıştır (Resim 3).

Uygulanan dokundurma preparatlar granülositik sarkomlu olguda hücre ayrıntılarının daha iyi belirlenebilmesi ile myeloid lösemilerin Non-Hodgkin lenfomadan ayırımını sağlamıştır. Malign timomalı olguda ise epitelyal hücrelerin dokundurma preparatlarda daha belirgin olarak gözlemlendiği dik-kati çekmiştir (Resim 4).

Metastatik lezyonlarda ise, invaziv duktal karsinomlu olgulardan birinde aksiller lenf düğümlerinden hazırlanan dokundurma preparatlarda immünohistokimyasal yöntem ile östrojen reseptörü belirlenerek mikrometastaz gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Lenf düğümü dokundurma preparatları lenfoproliferatif hastalıkların ayrıntıları ile tanımlanmasında yararlı olmasına karşın (17,19,20,23,31,36), çalışmamızda olduğu gibi reaktif hiperplazik lenfadenopati, lenfadenitler ve benign lezyonların ayırımında yetersiz kalmaktadır (1,35). Granülomatöz lenfadenitli olgumuzda da epitelooid histiositler ve dev hücreler hazırlanan çok sayıda preparatlardan ancak birinde ve bir küçük odakta izlenebilmiştir. Sınır lezyonlarda da dokundurma preparatların yetersiz kaldığı görülmüş, tanıya ancak histolojik kesitlerin incelenmesi ile ulaşılabilmiştir.

Malign lezyonlarda ise özellikle Hodgkin lenfomalı olgumuzda olduğu gibi lenf düğümü dokundurma preparatları tanıya yardımcı olmuş, Non-Hodgkin lenfomalarda tür ayırımına belirgin katkılar sağlamış, malign timomada epitelyal hücrelerin daha iyi belirlenebilmesi ile lenfomadan ayırım sağlamıştır. Metastazlı olgularda da mikrometastazların gösterilmesindeki üstünlüğüne ek olarak, frozen çalışılan olgularda tanı konulmasına yardımcı olmuştur.

Dokundurma preparatların değerlendirilmesinde sitopatolog olmanın gerekmemesi, konulan tanının doğruluk oranının % 96.5'a yükseltilmesi (32), immünohistokimya ile birlikte değerlendirildiğinde yanlış pozitif tanı vermemesi (30), en hızlı sonuç veren yöntem oluşu (9,22) metastazlar ile primer lezyonların ayırımında frozen kesitlere üstünlüğü (5,9,12,26,29) follikül ile psödo-follikül arasında ayırım örneğinde olduğu gibi morfolojik kriterlerin güncel yöntemlere olan üstünlüğü (4,7,10,24) dokundurma preparat yönteminin rutin kullanıma girmesi gerektiğini göstermektedir. Ayrıca uzmanlık eğitiminde histolojik kesitlerin ve sitolojik materyallerin değerlendirilmesinde yararlı olmaktadır. Ancak dokundurma preparatlar hiçbir zaman frozen ya da parafin kesitlerin yerini almamalıdır ve histolojik kesitler ile birlikte değerlendirilmelidir. Her iki yöntem birlikte uygulandığında birçok yönleri ile birbirini tamamlamakta ve daha sağlıklı tanıya ulaşılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Ademiluyi SA, Akinyan ju OO, Mordi VPN: Technical method. Evaluation of lymph node imprint in rapid diagnosis of lymph node biopsy specimens. J Clin Pathol. 39: 688-689, 1986.

2. Aratake Y, Tamura K, Katani T, Ohtaki S: Application of the Avidin-Biotin Complex method for the light microscopic analysis of lymphocyte subsets with monoclonal antibodies on air-dried smears. *Acta Cytol.* 32: 117-122, 1988.
3. Banks PM, Caron BL, Morgan TW: Use of imprints for monoclonal antibody studies: Suitability of air-dried preparations from lymphoid tissues with an immunohistochemical method. *Am J Clin Pathol.* 79: 438-442, 1983.
4. Berard CW, Dorfman RF, Kaufman N: Malignant Lymphoma. International Academy of Pathology Monograph. Baltimore, MD. Williams & Wilkins, 1987, p. 20-21 42,46,57.
5. Bonfiglio TA, MacIntosh PK, Patten SF, Cafer DJ, Woodworth FE, Kim CW: Fine needle aspiration cytopathology of retroperitoneal lymph nodes in the evaluation of metastatic disease. *Acta Cytol.* 23: 126-130, 1979.
6. Carbone A, Caillaud JM, Carlu C, Micheau C: Cytochemistry of Reed-Strenberg cells in lymph node imprints. *Am J Clin Pathol* 79: 553-558, 1983.
7. Carter TR, Feldman PS, Innes DJ, Frierson HF, Frigay AF: The role of fine needle aspiration cytology in the diagnosis of lymphoma. *Acta Cytol.* 32: 848-853, 1988.
8. Chilosi M, Pizzolo G, Menestrina F, Iannucci AM, Bonetti F, Donati LF: Enzyme histochemistry on normal and pathologic paraffin-embedded lymphoid tissues. *Am J Clin Pathol.* 76:729-736, 1981.
9. Esteban JM, Zaloudek C, Silverberg SG: Intraoperative diagnosis of breast lesions. Comparison of cytologic with frozen section technics. *Am J Clin Pathol.* 88: 681-688, 1987.
10. Frable WJ: Needle Aspiration Biopsy: Past, present and future. *Hum Pathol.* 20: 504-517, 1989.
11. Fuchs U: Smear and imprint technique in malignant melanoma of the eye. *Acta Ophthal.* 66: 445-449- 1988.
12. Gentry JF: pelvic lymph node metastases in prostatic carcinoma. The value of touch imprint cytology. *Am J Surg Pathol* 10: 718-727, 1986.
13. Ghandur-Mnaymeh L: Tissue imprints in surgical pathology, with a modified fixation procedure. *Hum Pathol.* 14: 929-930, 1983.
14. Ghandur-Mnaymeh L, Paz J: The use of touch preparations (tissue imprints) in the rapid intraoperative diagnosis of metastatic lymph node disease in cancer staging procedures. *Cancer.* 56: 339-344, 1985.
15. Hayhoe FGJ, Flemans RJ: A Colour Atlas of Haematological Cytology. Wolfe Medical Publications Ltd. 2nd. ed. 1982, p. 233-234.
16. Helin HJ, Isola JJ, Helle MJ, Krohn KJE: Imprint cytology in immunocytochemical analysis of oestrogen and progesterone receptors of breast carcinoma. *J Clin Pathol.* 42: 1043-1045, 1989.
17. Jaffe ES: Lymph Nodes. Reactive and Neoplastic Conditions. in Zucker-Franklin D, Greaves MF, Grossi CE, Marmont AM (eds): atlas of Blood Cells. Function and Pathology, Philadelphia. Lea & Febiger, 1988, p. 549-596.
18. Katz RL, Gritsman A, Cabanillas F, Fannign CV, Dekmezian R, Ordonez NG, Barlogie B, Butler JJ: Fine-needle aspiration cytology of peripheral T-cell lymphoma. A cytologic, immunologic and cytometric study. *Am J Clin Pathol.* 91: 120-131, 1989.
19. Koo CH, Rappaport H, Sheibani K, Pangalis GA, Nathwani BN, Winberg CD: Imprint cytology of non-Hodgkin's lymphomas based on a study of 212 immunologically characterized cases: Correlation of touch imprints with tissue sections. *Hum Pathol.* 20: 1-138 (Suppl 1), 1989.
20. Lakshminayanan K, Shrikhande SS, Talvalkar GV: Role of imprint cytology in the diagnosis of lymphoproliferative disorders. *Indian J Med Res.* 88: 434-442, 1988.
21. Li C-Y, Lazcano-Vilareal O, Pierre RV, Yam LT: Immunocytochemical identification of cells in serous effusions. Technical considerations. *Am J Clin Pathol.* 88: 696-706, 1986.
22. Marshall LF, LF, Adams H, Doyle D- Graham DI: The histological accuracy of the smear technique for neurosurgical biopsy. *J Neurosurg.* 39: 82-88, 1973.
23. Meis JM, Butler JJ, Osborne BM, Manning JT: Granulocytic sarcoma in nonleukemic patients. *Cancer* 58: 2697-2709, 1986.
24. Nathwani BN, Winberg CD, Diamond LW, Bearman RM, Kim H: Morphologic criteria for the differentiation of follicular lymphoma from florid reactive follicular hyperplasia: A study of 80 cases. *Cancer* 48: 1794-1806, 1981.
25. National Cancer Institute sponsored study of classification of non-Hodgkin's lymphomas: Summary and description of working formulation for clinical usage. *Cancer* 49: 2112-2135, 1982.
26. Owings RM: Rapid cytologic examination of surgical specimens: A valuable technique in the surgical pathology laboratory. *Hum Pathol.* 15: 605-614, 1984.
27. Pangalis GA, Nathwani BN, Rappaport H: An immunocytochemical study of Non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer* 48:915-922, 1982.
28. Pluot M, Faroux MJ, Rain J, Patey M, Mallais T, Simatos A: Apports de la cytologie d'apposition dans le diagnostic tumeurs de la thyroïde. *Arch Anat Cytol Pathol.* 37: 36-39, 1989.
29. Quill DS, Leahy AL, Lawler RG, Finney RD: Lymph node imprint cytology for the rapid assessment of axillary node metastases in breast cancer. *Br J Surg.* 71: 454-455, 1984.
30. Sneige N, Dekmezian RH, Katz RL, Fanning TV, Lukeman JL, Ordonez NF, Cabanillas FF: Morphological and immunocytochemical evaluation of 220 fine needle aspirates of malignant lymphoma and lymphoid hyperplasia. *Acta Cytol.* 34: 311-322, 1990.
31. Spahr J, Behm FG, Schneider V: Preleukemic granulocytic sarcoma of cervix and vagina. Initial manifestation by cytology. *Acta Cytol.* 26: 55-60, 1982.
32. Suen KC, Yermakov V, Raudales O: The use of imprint technique for rapid diagnosis in postmortem examinations. *Am J Clin Pathol.* 65: 291-300, 1976.
33. Tabibzadeh SS, Gerber MA: Applicability of imprints to immunocytochemical studies of lymphoid tissues. *J Histochem Cytochem.* 33: 884-890, 1985.
34. Tani EM, Christensson B, Prowit A, Skoog L: Immunocytochemical analysis and cytomorphologic diagnosis on fine needle aspirates of lymphoproliferative disease. *Acta Cytol* 32: 209-214, 1988.
35. Ulmann JE, Koprowska I, Engle RL: A cytological study of lymph node imprints. *Cancer* 11: 507-524, 1958.
36. Weisenburger DD, Nathwani BN, Diamond LW, Winberg CD, Rappaport H: Malignant lymphoma, intermediate lymphocytic type: A clinicopathologic study of 42 cases. *Cancer* 48: 1415-1425, 1981.
37. Witpenn JR, Natadisastra G, Mele L, Sommer A: Reproducibility of determining Vitamin A status by impression cytology. *Ophthalmic Surgery* 19: 559-561, 1988.
38. Yam LT, Li C-Y, Crosby WH: Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Am J Clin Pathol.* 55: 283-290, 1971.