

Farklı Tespit Solusyonları ile Endometrium Fizyolojik Fazları ve Kistik Hiperplazilerinde Mast Hücreleri

THE MAST CELLS IN PHSIOLOGICAL PHASES OF ENDOMETRIUM AND CYSTIC HYPERPLASIES WITH DIFFERENT FIXATION SOLUTIONS

Mehmet ÇERÇİ*, Lema TAVLI**, Salim GÜNGÖR**, Ali İhsan GÜLEÇ**, Mehmet YÜNCÜ*, Osman YILMAZ**

* Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ve Histoloji AD, MANİSA

** Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, KONYA

Özet

Çalışmamızda endometriumun proliferasyon ve sekresyon fazları ile kistik hiperplazilerindeki mast hücre sayıları, %10'luk Formalin ve Carnoy tespit solusyonları kullanılarak hazırlanan dokularda, iki grup halinde araştırıldı.

Birinci grupta retrospektif bir çalışma yapılarak Formalin'de tespit edilmiş kırkar olguluk materyaller kullanıldı. İkinci grupta ise prospektif bir çalışma yapıldı ve küretaj materyalleri Carnoy Solusyonunda tespit edildi. Bu grupta yirmişer adet proliferasyon ve sekresyon fazı ile yedi adet kistik hiperplazi olgusu üzerinde çalışıldı. Her iki grupta da Toluidin-Blue ile boyama yapılarak proliferasyon, sekresyon fazları ve kistik hiperplazide ortalama mast hücre sayıları, ayrıca tespit solüsyonlarının mast hücreleri üzerindeki etkileri mukayese edildi.

Yaptığımız çalışmada mast hücre sayılarında Carnoy'la tespit formalinli seriye göre proliferasyon, sekresyon fazlarında belirgin, kistik hiperplazi olgularında ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış saptandı. %10'luk formalinli seride, proliferasyon fazı ile hiperplazik dokulardaki mast hücre sayıları arasında anlamlı bir fark bulunmaz iken, sekresyon fazında proliferasyon fazına ve hiperplazik dokulara göre mast hücre sayıları istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

Carnoy solusyonu ile tespit edilen dokularda sekresyon fazındaki mast hücre sayıları, proliferasyon fazındaki ve hiperplazik dokulara göre anlamlı yüksek bulunmuş, ayrıca hiperplazik dokulardaki mast hücre sayısının proliferasyon fazına göre yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Endometrium fazları, Kistik hiperplazi, Mast hücreleri, Tespit solüsyonları

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:119-122

Summary

In our study mast cell counts in proliferative phase, secretion phase and cystic hyperplasias, of endometrium were investigated in two groups, in which tissues were prepared using with fixative solutions of %10 Formaline and Carnoy's.

In the first group, with making a retrospective study, 40 cases of materials which are fixed in Formaline, were used. In the second group, a prospective study was made and materials of curettage were fixed in Carnoy's solution. In this group, 20 cases, which were proliferative and secretion phase, and 7 cases, which were cystic hyperplasias were evaluated. In each two group, average mast cell counts were found in proliferative phase, secretion phase and cystic hyperplasias by means of Toluedin Blue fixation solutions effects on mast cells were compared.

In this study, an exident increase of mast cell count, was found in proliferative and secretion phases by means of Carnoy's solution as compared to Formaline's series. On the other hand, no significant increase as statistically was found in cystic hyperplasia cases. In series of %10 Formaline, a significant difference on mast cell counts was not found between proliferative phase and hyperplasia cases. In addition, a statistical increase of mast cell counts in secretion phase was found in comparison with proliferative phase and hyperplastic tissues.

In tissues which were fixed with Carnoy's solution, a significant increase was found in secretion phase. Finally, mast cell count of hyperplastic tissue was more than proliferative phase.

Key Words: The phases of endometrium, Cystic hyperplasia, Mast cells, Fixation solutions

T Klin J Med Sci 1998, 18:119-122

Geliş Tarihi: 29.07.1997

Yazışma Adresi: Dr.Lema TAVLI
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD, KONYA

T Klin J Med Sci 1998, 18

Mast hücrelerinin bulunışundan beri yüzüylü aşkın bir süre geçmesine rağmen, bu hücrelerin fonksiyonlarının anlaşılması ancak son yıllarda kaydedilen gelişmeler sonucu olmuştur.

1. Mukozal mast hücreleri
2. Bağ dokusu mast hücreleri

Mukozal mast hücreleri, sindirim ve solunum sistemi mukozalarında, bağ dokusu mast hücreleri ise periferik sinirlerle bez kanallarının çevrelerinde, organ kapsüllerinde, seröz membranlarda, deri altı fasyalarında, timus ve diğer lenfoid dokularda bulunurlar (1). Mast hücreleri ayrıca uterus, solunum ve sindirim sistemi mukozalarında ve deride bol miktarda bulunurlar (2-4).

Mast hücreleri histamin, heparin, serotonin salgırlarlar (5). Bu hücrelerin sayıları çeşitli allerjik hastalıklar, ürtikerya pigmentoza, Behçet hastalığı gibi durumlarda artmaktadır (6-9).

İyi bilinmektedir ki mukozal mast hücreleri, standart formalin ve diğer aldehit kökenli fiksatiflerle tespit sonrasında boyanma özelliklerinden bazılarını kaybetmektedir (3). Halbuki Carnoy veya temelini asetatların oluşturduğu fiksatiflerin kullanılmasıyla mukozal mast hücreleri kolayca görülebilir (10).

Materyel ve Metod

Çalışmamızı retrospektif ve prospektif olmak üzere iki grup halinde planladık. Birinci grup retrospektif olarak incelendi. Bu grup Ocak 1992 - Eylül 1993 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji laboratuvarına gönderilen ve %10'luk formalinle tespit edilmiş doku örneklerinden oluşmaktaydı. İkinci grupta Temmuz 1993-Eylül 1993 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen ve Carnoy solusyonu ile tespit edilmiş probe küretaj materyallerini kullandık.

Birinci grupta proliferasyon, sekresyon ve kistik hiperplazi tanısı almış kırkar olguluk biyopsi materyali incelendi. Her iki grupta da doku örneklerini seçerken düzensiz proliferasyon gösterenler çalışmaya alınmadı, ayrıca endometritis ve aşırı kanama içeren doku örnekleri de konu dışı bırakıldı. Sekresyon fazında ise yirmidört ile yirmi-altıncı günlere uyan doku örnekleri seçilmeye çalışıldı. Kistik hiperplazide ise atipisiz vakalar çalışmaya dahil edildi.

Birinci grupta, yukarıda belirtilen tarihler arasında laboratuvarımıza gelen probe küretaj materyallerini rutin boyama metodu ile Hematoksilin-Eozin (H.E) ile hazırlanmış

preparatları arşivden alınarak tekrar incelendi. Bunların içinden proliferasyon, sekresyon ve kistik hiperplazi tanısı almış kırkar adet olgu seçildi; parafin blokları arşivimizde bulunarak her olgu için bir blok tespit edildi. Bu bloklardan beşer mikron kalınlığında yeni kesitler alındı. Her lamda üçer kesit olmak üzere her olgu için toplam iki lama altı kesit alındı. Bu kesitler Toluidin-Blue boyası ile boyanarak mast hücreleri sayıldı.

İkinci grupta ise Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde alınan probe küretaj materyalleri hemen Carnoy solusyonuna konuldu. Bu solüsyon içerisinde, oda sıcaklığında 3-8 saat arasında tespit edilen materyaller; buradan %10'luk Formalin içermeyen takibe alındı. Daha sonra bu materyaller parafin bloklara gömüldü. Her blokta iki H.E. için, iki de Toluidin-Blue için olmak üzere dörder lam hazırlandı. Her lama beşer mikron kalınlığında yine üçer kesit alındı. H.E. ve Toluidin-Blue ile boyandı.

Önce H.E.'li preparatlar incelendi. Proliferasyon ve sekresyon tanısı alan yirmişer olgu seçildi. Bu seçim işleminde yukarıda belirtilen kriterlere uyuldu. Bu dönem içerisinde kistik hiperplazi gösteren ancak yedi olgu vardı.

Daha sonra, belirlenen bu olguların Toluidin-Blue ile hazırlanan preparatlarından birer bloğuna ait ikişer lamaları seçilerek mast hücreleri sayıldı.

Mast hücrelerinin sayımında birim bir immer-siyon objektifi sahası kullanıldı. Her kesitten onar saha olmak üzere, her bir olgudan toplam altmış saha sayıldı. Preparatlarda, sahanın tüme yakınının değerlendirme kapsamına alınabilmesi için birer objektif sahası atlanarak hücre sayımı yapıldı. Altmış sahadaki mast hücre sayısı tekrar altmışa bölünerek her olgu için bir sahadaki ortalama mast hücre sayısı bulundu.

Böylece hem Formalin hem de Carnoy tespit solusyonları ile takip edilen, proliferasyon, sekresyon ve kistik hiperplazi gösteren küretaj materyallerinde bir immersiyon objektifi sahasına düşen ortalama mast hücre sayısı belirlenmiş oldu.

Hücre sayımları bitince, karşılaştırmalara esas olmak üzere, Formalin'li ve Carnoy'lu serilerde, proliferasyon, sekresyon ve kistik hiperplazi gruplarında, olgu başına ortalama mast hücre sayıları toplanıp gruptaki toplam olgu sayısına bölünerek, her grup için mast hücrelerinin aritmetik ortala-

maları hesaplandı. Elde edilen ortalamalar için standart hataları hesaplanarak ortalama ile birlikte ifade edildi (11).

Her iki yöntemle elde edilen hücre sayım sonuçları arasındaki farkın istatistikî önemini belirlemek için student-t testinden yararlanıldı.

Bulgular

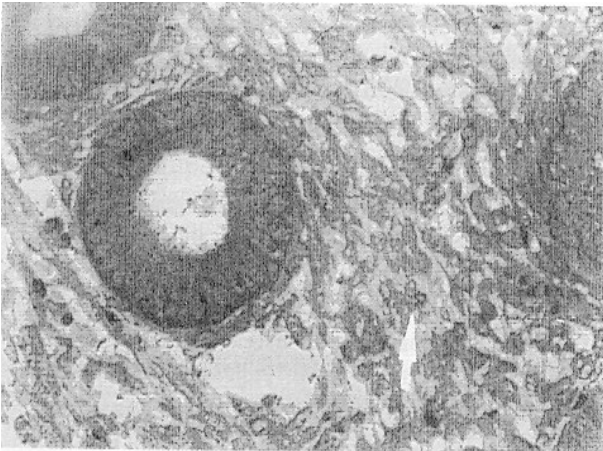
Formalin ile tespit edilen seride; proliferasyon dönemindeki endometriumlarda her sahada sayılan hücre sayısı sıfır ile iki arasında değişmekteydi; ancak altmış sahanın büyük çoğunluğunda hiç mast hücresi sayılamamıştı. Bu grupta her sahada ortalama 0.02-0.008 mast hücresi bulundu (Şekil 1).

Formalin ile tespit edilen seride sekresyon dönemindeki endometriumlarda her sahada sayılan mast hücre sayısı sıfır ile dört arasında değişmekteydi ve her sahada bulunan ortalama mast hücre sayısı 0.06-0.016 idi.

Proliferasyon ve Sekresyon grupları arasındaki fark ($t=2.222$, $p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Formalinli serideki kistik hiperplazi olgularında her sahada tespit edilen mast hücre sayısı sıfır ile bir arasında değişmekteydi. Bir sahadaki ortalama mast hücre sayısı 0.007-0.003 olarak bulundu.

Proliferasyon ile kistik hiperplazi arasında ortalama mast hücre sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($t=1.494$, $P>0.05$). Ancak sekresyon ile kistik hiperplazi arasında ortalama mast hücreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($t=3.212$, $P<0.001$).



Şekil 1. Formalinli seride, proliferasyon dönemindeki probe küretaj materyallerindeki seyrek mast hücreleri Toluidin-Blue x 400

Carnoy solusyonu ile tespit ettiğimiz ikinci grupta ise: Proliferasyon döneminde her sahada tespit edilen mast hücre sayısı sıfır ile sekiz arasında değişmekteydi, ortalama mast hücre sayısı 0.045-0.083 olarak bulundu (Şekil 2).

Formalinle tespite göre; Carnoy ile tespit edilen proliferasyon dönemindeki mast hücreleri sayısında büyük artış mevcuttu. ($t=5.181$, $P<0.001$).

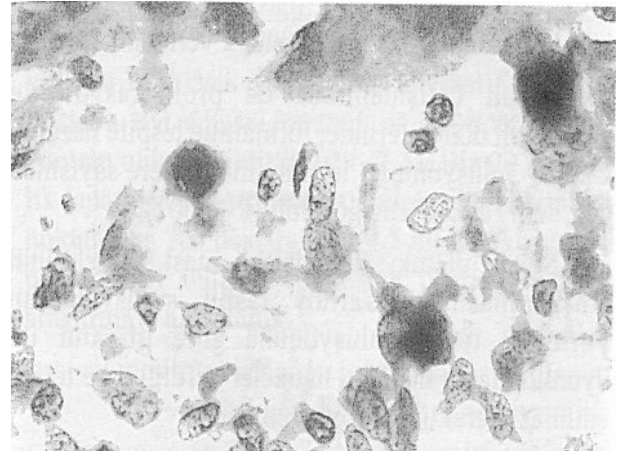
Carnoy solusyonuyla tespit ettiğimiz sekresyon döneminde ise her sahada tespit edilen mast hücre sayısı sıfır ile altı arasında değişmekteydi. Ortalama mast hücre sayısı 0.37-0.058 olarak bulundu.

Carnoy ile tespit edilen sekresyon gösteren olgularda, Carnoyla tespit edilen proliferasyon gösteren olgulara göre mast hücreleri daha azdı. Fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($t=0.7912$, $P>0.05$).

Carnoylu serideki kistik hiperplazide her sahadaki mast hücre sayısı sıfır ile bir arasında değişmekteydi ve ortalama mast hücre sayısı 0.05-0.033 olarak tespit edildi.

Carnoylu seri içinde, proliferasyon dönemindeki mast hücreleri, kistik hiperplaziye göre ileri derecede anlamlı bulunmuştur ($t=4.494$, $p<0.001$).

Yine aynı seri içinde; sekresyon döneminde mast hücrelerinin kistik hiperplaziye göre ileri derecede artmış olduğu gözlemlendi ($t=4.776$, $P<0.001$).



Şekil 2. Carnoylu seride proliferasyon döneminde probe küretaj materyallerinde mast hücreleri. Toluidin-Blue x 1000

Formalinli ve Carnoylu tespit solusyonlarında kistik hiperplazi gösteren küretaj materyallerindeki ortalama mast hücreleri karşılaştırılınca, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($t=1.494$, $P>0,05$).

Tartışma ve Sonuç

Yapmış olduğumuz araştırmalarda probe küretaj materyallerinde mast hücrelerinin durumunu içeren bir çalışmaya rastlamadık.

Uterus kavitesini döşeyen endometrium, seks hormonlarına cevap vererek siklik değişiklikler gösterir. Endometrial hiperplazi ve karsinomlarının da hormon düzeyleriyle ilişkisi bilinmektedir. (12-14,19). Uterus endometrium ve myometriumundaki mast hücre sayılarının seks hormonları tarafından düzenlendiği belirtilmektedir (3).

Padilla ve arkadaşlarının fare uteruslarında yaptıkları çalışmada, pregesteron etkisi altındaki uteruslarda, östrojen etkisine göre, histamin konsantrasyonu yüksek bulunmuştur (3). Bu çalışmamızda Formalin'li serideki sonuçlar ile uyumlu, Carnoylu seri ile uyumlu değildir.

Endometrial hiperplazilerin aşırı östrojen etkisi altında genellikle menapoz ve perimenapozal dönemde geliştiği çeşitli kaynaklarca belirtilmiştir (18-20). Kistik hiperplazi olgularındaki mast hücre sayılarının azalması Padilla ve arkadaşlarının çalışmaları ile uyumlu olarak değerlendirildi.

Ghaneu ve arkadaşlarının Gine domuzlarında yaptıkları bir çalışmada; çeşitli dokularda Carnoy ve Formol-Salin tespit solusyonlarının mast hücre sayısına etkileri karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır (10). Carnoy solusyonu, mast hücrelerinin tespiti için tüm dokularda en iyi sonucu vermiştir.

Bizim çalışmamızda da proliferasyon ve sekresyon dönemlerinde, formalinle tespate nazaran Carnoy solusyonu ile tespit mast hücre sayısında çok belirgin bir artış görüldü ($P>0.001$).

Sonuç olarak, endometrial mast hücrelerinin araştırılmasında, Carnoy tespit solusyonunun Formalin tespit solusyonuna göre literatür ile uyumlu olarak daha iyi neticeler verdiğini ve tercih edilmesi gerektiğini söyleyebiliriz.

Formalinli seride sekresyon döneminde, proliferasyon dönemine göre daha fazla mast hücre bulunması literatürle uyumlu olmasına rağmen bu

seride, Carnoylu seriye göre çok az oranlarda mast hücre bulunması Formalin tespit sonuçlarını, Carnoyla tespit karşısında daha az güvenilir kılmaktadır.

Her iki serideki kistik hiperplazilerde ise proliferasyon ve sekresyon dönemlerine nazaran ileri derecede mast hücre azalması izlenmiş, bu da endometrium hiperplazilerinin etiyojilerindeki östrojen etkisi konusundaki literatür bulguları ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Peters SP, Schleimer RP, Naclerio RM, Macgloshan DW, Togias AG, Proud D, et al. The Pathophysiology of human mast cells. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135:1196-2000.
2. Marshall JS, Bienenstoc J. Mast Cells. *Spinger Seminars in Immunopathology* 1990; 12: 191-202.
3. Padilla L, Reinicke K, Montesino H, Villena F, Acencio H. *Celluler and Molecular Biology* 1990; 36(1):93-100.
4. Widemar L, Hellstrom S, Stenfors LA, Bloom GD. An overlooked site of tissue mast cells: The human tympanic membrane *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1986; 102: 391-5.
5. Krüger PG, Morphology of normal and secreting mast cells: *Acta Otolaryngol (Stockh) Supply* 1984; 414: 118-23.
6. Vural Ö, Yılmaz O, Tavlı L, Güngör S, Kalkan S, Çerçi M. Mast hücrelerinin iltihap ve tümörlerle olan ilişkileri: Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1991; 7(3):307-16.
7. Stevens RL, Austen KF. Recent advances in the cellular and molecular biology of mast cells: *Immunology today and molecular biology of mast cells. Immunology Today* 1989; 10 (11) 381-6.
8. Atkins FM, Clark RAF. Mast cells fibrosis. *Arck Dermatol* 1987; 123: 191-3.
9. Binstock J, Tomioka M, Stead R, Ernst P, Jordana M, Gauldine J, et al. Mast cell involvement in various inflammatory processes. *Am Rev Respir Dis* 1987;135;3-5.
10. Ghaneu NS, Assen ESK, Leung KBP, Pearce FL. Morphology, Fixation and staining properties. *Int Archs Allergy Appl Immun* 1988;858:351-7.
11. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biostatik*, 3.Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınları, 1990:26.
12. Kurman RJ, Norris HJ. Endometrial neoplazi, hiperplazi ve karsinom In: Blaustein A, eds: *Jinekolojik Patoloji*. Kazancıgil A, Erkin E, Bozkurt S. İstanbul, Arkadaş Kitabevi, 1985: 351-72.
13. Cotran SR, Kumar V, Robbins SL. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 4 th ed. Philadelphia: WB Saunders Comp, 1989: 1128-51.
14. Hendrickson MR, Kempson RL. Endometrial hyperplasia, metaplasia and carcinoma. In; Fox it eds. Haines and Taylor *Obstetrical and Gynaecological Pathology*. Edinburg: Churchill Livingstone, 1987;1: 354.