

T.C.
OKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SAĞLIKTA KALİTE YÖNETİMİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

PATOLOJİ LABORATUVARINDA KULLANILAN
DİJİTAL TARAMA SİSTEMİNİN TANI KALİTESİNE
ETKİSİ

Meltem Algan Bertalan
122021007

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Onur YARAR

İSTANBUL - 2017

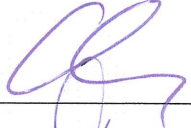

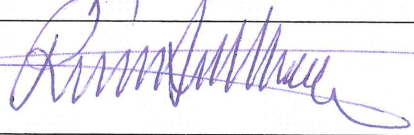
T.C
OKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
Y Ü K S E K L İ S A N S
T E Z O N A Y I

ÖĞRENCİNİN

Adı ve Soyadı :Meltem Algan Öğrenci No : 122021007
Anabilim/Bilim Dalı : Sağlıkta Kalite Yönetimi Anabilim Dalı Tez Savunma Tarihi : 13.09.2017
Danışman : Yrd. Doç. Dr. Onur Yarar Tez Savunma Saati : 11:00

Tez Konusu : "Patoloji Laboratuvarında Kullanılan Dijital Tarama Sisteminin Tam Kalitesine Etkisi"

TEZ SAVUNMA SINAVI, Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin 28.Maddesi uyarınca yapılmış, sorulan sorulara alınan cevaplar sonunda adayın tezinin KABULUNE 'ne OYBİRLİĞİ / OYÇOKLUĞUYLA karar verilmiştir.

JÜRİ ÜYESİ	KANAATİ (KABUL / RED / DÜZELTME)	İMZA
Yrd. Doç. Dr. Onur Yarar	Kabul	
Yrd. Doç. Dr. Yıldırım B. Gülhan	Kabul	
Yrd. Doç. Dr. Rüstü Uçan	Kabul	

YEDEK JÜRİ ÜYESİ	KANAATİ (KABUL / RED / DÜZELTME)	İMZA
Prof. Dr. Mithat Kıyak		
Yrd. Doç. Dr. Selma Söyük		

ÖNSÖZ

Bu tezin yazılması aşamasında başından itibaren bilgi ve deneyimleriyle yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve her zaman varlığını yanımda hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Ümit İNCE'ye teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Tezimin ölçümsel kısmında kıymetli zamanını bana ayırarak yardımlarını esirgemeyen Dr. Fatma TOKAT'a ve çalışmamı sahiplenerek titizlikle takip eden danışmanım Yrd. Doç. Dr. Onur YARAR'a değerli katkı ve emekleri için içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Meltem Algan Bertalan

BEYAN

Bu belge ile tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik davranış ilkelerine uygun olarak toplanıp sunulduğunu beyan ederim. Bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı ve kaynağını gösterdiğimi ayrıca beyan ederim.

Meltem Algan Bertalan



İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

ÖNSÖZ.....	i
BEYAN.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. MİKROSKOP.....	3
2.1.1. Mikroskopun Tarihçesi.....	4
2.1.2. Mikroskopun Kısımları.....	6
2.1.3. Mikroskop Çeşitleri.....	7
2.1.3.1. Işık Mikroskobu.....	7
2.1.3.2. Floresans Mikroskobu.....	9
2.1.3.3. Elektron Mikroskop.....	11
2.1.3.4. Dijital Mikroskop	14
2.1.4. Işık Mikroskobu İle Dijital Sistemin Kıyaslanması	15
2.2. PATOLOJİ.....	16
2.2.1. Patoloji Laboratuvarı.....	17
2.2.2. Patolojide Raporlama.....	19
2.2.3. Raporun İnanırlılığı.....	21
2.2.4. Raporlama Süreci.....	21
2.3. Mikroskopun Patoloji Laboratuvarında Kullanım Alanı ve Önemi....	22
2.4. Dijital Mikroskopun Patoloji Laboratuvarında Kullanımı (Dijital Patoloji).....	23
2.4.1. Dijital Tarama Sistemleri.....	24
2.4.2. Dijital Sitopatoloji.....	25
2.4.2.1. Statik Görüntü Transferi.....	25

2.4.2.2. Real-Time Görüntü Transferi.....	26
2.4.2.3. Tüm Preparatın Dijital Görüntü Transferi.....	26
2.5. Patoloji Laboratuvarlarında Dijital Sistemin Bazı Kullanım Yöntemleri.....	29
2.5.1. Ki67(İmmünohistokimyasal boyama yöntemi).....	29
2.5.2. Frozen (İntraoperatif Konsültasyon Yöntemi).....	31
2.5.3. Tiroid İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi.....	31
2.6. Dijital Patolojinin ve Sitopatolojinin Avantajları	32
2.7. Dijital Patolojinin ve Sitopatolojinin Dezavantajları.....	34
2.8. Dijital Patoloji ve Sitopatolojinin Geleceğine Yönelik Projeksiyonlar	36
2.9. Akıllı Cep Telefonları İle Hücre Sayımı	38
2.10. Türkiye’de Dijital Patoloji Kullanımı	40
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	41
3.1. ÇALIŞMANIN AMACI.....	41
3.2. ÇALIŞMANIN EVRENİ.....	41
3.3. ÇALIŞMANIN SINIRLILIKLARI.....	41
3.4. ÇALIŞMANIN HİPOTEZİ.....	42
3.5. ÇALIŞMANIN YÖNTEMİ.....	42
3.5.1. Pannoramic Scanner.....	43
3.5.2. Pannoramic Viewer.....	44
3.5.3 Nuclear Quant.....	46
4. BULGULAR.....	48
4.1. Ki67 (İmmünohistokimyasal boyama yöntemi).....	48
4.2. Frozen (İntraoperatif Konsültasyon Yöntemi).....	54
4.3 Tiroid İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi (İİAS).....	55
4.4. Hipotezlerin Değerlendirilmesi.....	66
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	70
7.KAYNAKLAR.....	72

ÖZET

Teknolojik gelişmeler hemen her alanda olduğu gibi sağlık alanında da etkilerini gün geçtikçe daha fazla hissettirmektedir. Dijital sistemlerin patoloji laboratuvarlarında kullanılmaya başlanması ile kanser hastalığının tanısında önemli gelişmeler yaşanmıştır. Bu gelişmelerin en önemlileri tanı aşamasında kazanılan süre ve erişilebilirliktir. Patologların ışık mikroskopları ile gözle taradıkları kanserli hücreleri tek bir tuşla tarayan dijital sistemler, zamanla yarışan patologların işlerini hızlandırmakta ve aynı zamanda internetin olduğu her yerden bu preparatlara erişim imkanı sunmaktadır. Dijital patolojinin üzerinde durulması gereken en önemli konusu ise tanı kalitesidir. Kanserli hücreleri insan hatası olmaksızın sayan dijital mikroskoplar, tanı kalitesini de oldukça etkilemektedir.

Bu çalışmada, patoloji laboratuvarında kullanılan dijital sistemlerin tanı kalitesine etkisi incelenmiştir. Çalışmada patoloji laboratuvarlarında kullanılan Ki67 ölçüm süresinin, Frozen ve Tiroid İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi yöntemlerinin, ışık mikroskopları ve dijital mikroskoplarda verdiği sonuçların tanı kalitesine etkisi incelenmiştir. Çalışmada dijital patolojinin hata ihtimalinin insana oranla daha az olduğu baz alınmıştır.

Anahtar Kelimeler; Dijital mikroskoplar; Dijital patoloji, Işık mikroskopları, patolojide tanı kalitesi

ABSTRACT

EFFECT OF DIAGNOSTIC SCANNING SYSTEM USED IN PATHOLOGY LABORATORY ON DIAGNOSTIC QUALITY

Technological developments make feel its effects on by day by in the healthcare field as it is in almost every field. Important developments have been observed in the diagnosis of cancer with coming into use the digital systems in pathology laboratories. The most important of these developments is the time and accessibility during the diagnosis phase. The digital systems that pathologists scan with the light microscope at the touch of a single button of the cancerous cells they scan, expedite the work of pathologists racing against time, and at the same time they offer access to these preparations wherever on the Internet. The most important issue that should be considered on the digital pathology is the diagnostic quality. Digital microscopes, which count cancerous cells without human error, also significantly affect the quality of diagnosis.

In this study, the diagnostic quality of digital systems used in pathology laboratory was investigated. The results of Ki67 resulting time, Frozen and Thyroid Fine Needle Aspiration methods used in pathology laboratories on the diagnostic quality of light microscopes and digital microscopes was investigated. The study assumes that the probability of error of the digital pathology is less than that of humans.

Keywords; Digital microscopes; Digital pathology, Light microscopes, Diagnostic quality of pathology

KISALTMALAR LİSTESİ

CD	: Compact Disc
CCD	: Charge Coupled Device (Şarj Birleştirici Cihaz)
CMOS	: Complementary Metal Oxide Semiconductor (Bütünleyici Metal Oksit Yarı İletken)
DICOM	: Digital Imaging and Communications in Medicine (Tıpta Dijital Görüntüleme ve İletişim)
DVD	: Digital Versatile Disc (Çok Amaçlı Sayısal Disk)
FDA	: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)
İHK	: İmmünohistokimya
İİAS	: İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi
JPEG	: Joint Photographic Experts Group (Birleşik Fotoğraf Uzmanları Grubu)
M.Ö.	: Milattan Önce
SEM	: Scanning Elektron Mikroskobu
SGK	: Sosyal Güvenlik Kurumu
TEM	: Transmission Elektron Mikroskobu
WSİ	: Whole Slayt İmaging

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>SAYFA NO</u>
Şekil 1: Bir mikroskobun genel görüntüsü.....	4
Şekil 2: Robert Hooke'un mikroskobu.....	5
Şekil 3: Anthony van Leeuwenhoek'in mikroskobu.....	6
Şekil 4: Işık mikroskobu.....	8
Şekil 5: Işık mikroskobunda doku görüntüsü.....	9
Şekil 6: Floresans Mikroskobu.....	10
Şekil 7: Floresan mikroskop görüntüsü.....	10
Şekil 8: Elektron Mikroskobu.....	11
Şekil 9: Geçirimli (Transmission) Elektron Mikroskobu ile 1000000 kat büyütme.....	13
Şekil 10: SEM Görüntüsü.....	14
Şekil 11: Dijital Mikroskop.....	15
Şekil 12: Örnek Taraması.....	24
Şekil 13: Dijital scanner ve preparatların görüntülediği monitör.....	27
Şekil 14: Rapor edilen Ki-67 sayımları ile cep telefonu uygulamasının saydığı hücreler.....	38
Şekil 15: Rapor edilen Ki-67 sayımları ile cep telefonu uygulamasının saydığı hücrelerin Ki-67 indeksine göre gruplanması.....	39
Şekil 16: Panoramic scanner'in temel parçaları.....	43
Şekil 17: Slayt tablasına slaytın yerleştirilmesi.....	44
Şekil 18: Piramit görüntüsü örneği.....	45
Şekil 19: Z-stack örneği.....	45
Şekil 20: Floresan modda DAPI, Alexa 488 ve Cy3 boyaalarının seçildiği dijitalize görüntü.....	46
Şekil 21: Dikdörtgen şekilli ve rastgele çember şekilli açıklamalar.....	47

TABLO LİSTESİ

SAYFA NO

Tablo 1: Meme Tümörlerinde Ki67 Sonucunun Işık Mikroskobu İle Klasik Hesaplanması ve Dijital Sistem Yazılımı ile Hesaplanması Sonuçlarının Karşılaştırması.....	48
Tablo 2: Meme Tümörlerinde Ki67 Hesaplanması sırasında Işık Mikroskobu İle Klasik Hesaplanması ve Dijital Sistem Yazılımı ile Hesaplanması Sonucu harcanan süre Tablosu.....	52
Tablo 3: Meme Tümörlerinde Ki67 Hesaplanması sırasında Işık Mikroskobu İle Klasik Hesaplanması ve Dijital Sistem Yazılımı ile Hesaplanması Sonuçların karşılaştırılması	52
Tablo 4: Patoloji Raporuna Göre Frozen (intraoperatif konsültasyon yöntemi) Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Sonuçlarının Uyum Tablosu.....	54
Tablo 5: Patoloji Raporuna Göre Frozen (intraoperatif konsültasyon yöntemi)Sonuçlarının Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırması	55
Tablo 6: Tiroid İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırılması (Hastane D).....	55
Tablo 7: Tiroid İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırılması (Hastane C).....	59
Tablo 8: Tiroid İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırılması (Hastane B).....	60
Tablo 9: Tiroid İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırılması (Hastane A).....	62
Tablo 10: Tiroid İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop'un Genel Karşılaştırılması.....	66

1. GİRİŞ

Bilişim ve iletişim teknolojilerinde yaşanan büyük ilerlemeler, insanlık tarihini sosyo-ekonomik yönden etkilediği gibi bilimsel alanda da büyük değişimler yaşanmasına neden olmuştur. Dijital çağ olarak da adlandırılan yaşadığımız yüzyılda kaydedilen teknolojik gelişmelerle birlikte, bilişim ve iletişim altyapısının geniş coğrafi alanlara yayılması ve mobil iletişim teknolojileri aracılığıyla veri ve enformasyon erişiminin zaman ve mekandan bağımsız hale gelmesi, bireylerin, kurumların ve toplumların birbirleri ile ilişkilerinin bir bölümünü iletişim ve bilgisayar ağları üzerinden yürütebilmelerine olanak sağlamıştır. Veri ve enformasyon paylaşımında zaman ve mekan kısıtlamalarının aşılması, bilişim çağı'nda ülke sınırlarını yok etmese de bir anlamda bu sınırların yeniden tanımlanmalarına yol açmıştır. Oyunlar, kitaplar, müziksel yapıtlar, görseller ve videolar dijitalleşerek elektronik ürünlere dönüşmüştür.

Hemen her alanda hayatımıza giren dijitalleşme elbette ki tıp alanında da karşımıza çıkmaktadır. Dijital mikroskopların laboratuvarlara girmesiyle birlikte ışık mikroskopları aracılığıyla manuel olarak yapılan işlemler bilgisayar yazılımları sayesinde dijital ortamda yapılmaya başlanmıştır. Dijital mikroskopların patoloji laboratuvarlarında kullanılması ile birlikte dijital patoloji dönemi başlamıştır. Dijital patoloji, hücrelerin manuel olarak tek tek sayılması yönteminde olası hataları en aza indirdiği gibi, zaman kaybı ve erişilebilirlik gibi sorunları da çözümlenmektedir. Mikroskopik görüntülere, yazılımlar sayesinde, akıllı telefon, tablet, dizüstü bilgisayar gibi şahsi elektronik cihazlardan erişim imkanı sağlayan dijital patoloji, sunmuş olduğu tüm imkanlara rağmen halen tam olarak güvenilir olup olmadığı konusunda bazı şüpheler uyandırmaktadır. Literatürde dijital patolojinin kullanım alanı, yararları ve olası riskleri hakkında yapılmış kapsamlı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dijital patoloji sistemlerinin çok yeni oluşu, maliyetli olması ve henüz tüm patoloji laboratuvarlarında kullanım alanı bulamamış olması bu çalışmaların sınırlılıklarının nedenlerindedir.

Bu çalışmanın amacı, dijital mikroskopların patoloji laboratuvarlarında kullanım alanlarını ortaya koyarak tanı kalitesi üzerindeki etkilerini incelemektir. Çalışmada öncelikle mikroskop kavramı ve mikroskop çeşitlerine yer verilmiştir. Sonrasında ise patoloji ve sitoloji kavramları ve patoloji laboratuvarları açıklanarak ve ışık mikroskopları ile dijital mikroskopların farkı incelenmiştir. Çalışmanın son bölümünde

patoloji laboratuvarlarında meme kanserinin histolojik inceleme yöntemlerinden biri olan Ki67 immünohistokimyasal boyanmasının hesaplama süresi karşılaştırılmasına, değişik organ kaynaklı frozen (Intraoperatif Konsültasyon Yöntemi) ve Tiroid İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi tekniklerinin ışık ile dijital mikroskop verilerinin karşılaştırılmasına yer verilmiştir. Çalışma verileri İstanbul'da bulunan bir zincir hastanenin patoloji laboratuvarları'ndan alınmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde mikroskoplar, patoloji ve patoloji laboratuvarları hakkında bilgi verilmiş ve dijital mikroskopların patoloji laboratuvarları içindeki kullanım amacı, avantajları ve dezavantajları incelenmiştir.

2.1. MİKROSKOP

Mikroskop, Yunanca “mikro” ve “skop” kelimelerinden meydana gelmiş bileşik bir kelimedir. Mikro, küçük; skop, bakıcı, gözleyici anlamına gelmektedir. Sözcüğü bütünüyle ele aldığımız zaman, küçük şeylere bakıcı; küçük şeyleri gören anlamı ortaya çıkacaktır (1). İsim tanımında da anlaşılacağı gibi bir mikroskop gözle görülemeyecek kadar küçük şeylerin gözlenip incelenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Mikroskoplar biyoloji, tıp, sanayi, metalurji, jeoloji, arkeoloji, kriminoloji gibi alanlarda kullanılırlar (2).

İnsan gözü 200–250 mikrometre (μm)den yukarı olan büyüklükteki objeleri görebilir. Bu limitin aşağısını göremez. Mikroskopun işlevi, çıplak gözle görülmeyecek küçüklükteki cisimlerin görüntüsünü büyütür ve gözle görünür hâle getirmek ve onların ayrıntılı bir şekilde incelenmesine olanak sağlamaktır. Bunu, yapısındaki büyüteçler (mercekler) aracılığı ile yapar. Dolayısı ile mikroskop, özünde bir büyüteçler sistemidir. Objektifteki büyüteç tarafından büyütülerek şekillendirilen cismin görüntüsü, oküler tarafından ikinci kez büyütülür, yeterli büyüklüğe ulaşır ve düzeltilir. Böylece, gözle görülemeyen cisimlerin incelenmesi sağlanır. Mikroskopun, cismin görüntüsünü büyütme gücüne “mikroskopun ayırım (resolüsyon)/büyütme gücü” denir (3).

Mikroskopta incelenecek olan dokuları sadece ince bir kesit olarak incelemek mümkün değildir. Dokuların tespit edilmesi, bazı kimyasal işlemlerden geçirilmesi, parafin gibi bir gömme ortamı içerisinde bloklanması, bu bloklardan alınan ince kesitlerin boyanmasının ardından incelenmesi gerekmektedir (4).

Küçük nesnelere ait görüntüleri ayrıntılı bir şekilde inceleyecek kadar büyüten araçlardır. Mikroskoplar bugün modern bilimin birçok dalında tanı ve araştırma amacıyla kullanılmaktadır. Değişik teknik özellikler gösteriyor olmalarına karşılık sonuçta

amaçları aynı olup incelenecek objeye ait görüntüyü büyütürken gözün retinasına, bir fotoğraf plağına veya bir ekrana iletmesi esasına dayanır (4).



Şekil 1: Bir mikroskobun genel görüntüsü (30)

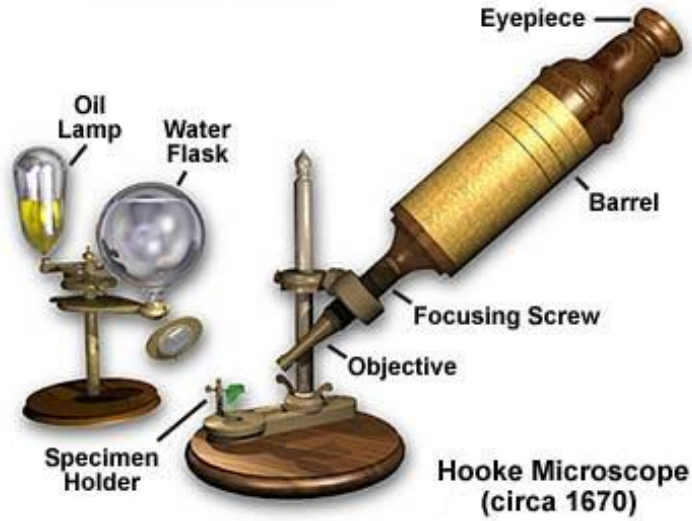
2.1.1. Mikroskobun Tarihçesi

Mikroskobun ilk defa ne zaman icat edildiği tam olarak bilinmemektedir. Ancak 1590 yıllarında Hollandalı Zacharias Janssen'in bir teleskobu tadil ederek mikroskobu icat ettiği düşünülmektedir (1). Küçük cisimlerin büyütülmesi amacıyla mercek kullanılmasına M.Ö. 590 yılında Euclid zamanında bile rastlanır. Bazı kaynaklar ise Galileo'yu işaret etmektedir (1). Bu basit mikroskop yapıldığı tespit edilen ilk mikroskop olmakla birlikte bir tüp şeklinde içine yerleştirilen iki konveks mercek küçük cisimlerin büyütülmesini sağlamıştır.

16. yüzyılda içbükey mercekler üretildiğinde, içbükey ve dışbükey merceklerin doğrusal kombinasyonlarını deneyerek, ilk mikroskobu geliştirmiştir. Bu ilk kaba birleşik mikroskop, bir nesneyi tamamen kapalı iken 3 kat, açıkken 9 kat kadar büyütebilmekteydi. Mikroskop, 2 mercek ve tüpler arasındaki bir diyaframdan oluşuyordu. Bu sıralarda başka Hollandalı, Alman, İngiliz ve İtalyan bilginleri de, mercek sistemi tersine çevrilmiş bir teleskopun, cisimleri büyütme için kullanılabileceğinin farkına varmışlardır. İtalyan bilgini Galilei Galileo, iki mercek kullanarak bazı denemelerde bulunmuşsa da, günümüzde kullanılan mikroskopların temeli olan ilk

mikroskop 17. Yüzyılda Hollandalı Antonie van Leeuwenhoek ve İngiliz Robert Hooke tarafından bulunmuştur (3).

Hooke, Kirchner'in optik aracını geliştirerek bir mikroskop meydana getirmiştir (Şekil 1.1). Hooke "micrographia" adlı eserinde, objektif ve oküler mercekleri olan bir mikroskoptan ve nasıl geliştirdiğinden bahsetmektedir. Hooke, mikroskoba "orta cam" da dediği üçüncü bir mercek yerleştirmiş ve böylece materyallerin daha iyi gözleendiğini ortaya koymuştur. Hooke, mantar parçalarından aldığı ince kesitleri mikroskopda incelemiş ve mantar parçalarında gördüğü odacıklara hücre ismini vermiştir. Hooke'un çalışmalarını Grew de yaptığı çalışmalarla desteklemiştir (3).



Şekil 2: Robert Hooke'un mikroskoku (51)

Daha sonra Anthony van Leeuwenhoek (1632-1723) iki metal parça arasında yerleştirdiği merceklerle basit bir mikroskop meydana getirmiştir (Şekil 1.2). Leeuwenhoek 40 yaşlarında mikroskop kullanmaya ve yapmaya başlamıştır. Hooke'un direktiflerini de göz önünde bulundurarak 400'den fazla mikroskop üretmiş; ancak bunların sadece dokuz tanesi günümüze ulaşabilmiştir. Leeuwenhoek düzgün işlenmiş tek mercekli mikroskobun birleşik mikroskoptan daha iyi sonuç verdiğini fark etmiştir. Bu mikroskop ile görüntüde 50-200 kat arası bir büyütme sağlanmaktaydı (3).



Şekil 3: Anthony van Leeuwenhoek'in mikroskoku (53)

Bu gelişmelerden sonra yüzyıl kadar bir sessizlik devri yaşanmıştır. Ardından 19. Yüzyılın başlarında çeşitli mercek kombinasyonları geliştirilerek 1 mikron kadar küçük materyallerin bile görülebilmesi sağlanmıştır. 2000'li yıllarda sonra bilgisayar teknolojisinde yaşanan gelişmelerden sonra dijital mikroskop dönemi başlamıştır. Dijital mikroskoplar, özellikle tıp ve biyoloji alanlarına önemli katkılarda bulunmuştur (5).

2.1.2. Mikroskobun Kısımları

Genel olarak bütün mikroskoplar üç kısımdan oluşur. Bunlar;

Mekanik Kısım; Mekanik kısım içinde, mikroskop ayağı, mikroskop kolu, mikroskop tablası, mikroskop maşaları, mikroskop tüpü ve ayar vidaları bulunmaktadır. Mikroskop ayağı; mikroskopun devrilmemesini sağlayan ve genellikle yuvarlak, dikdörtgen ya da at nalı şeklinde olan ağır madensel kısımdır. Mikroskop kolu; mikroskobun tutulması ve istenilen eğiklikte çalışılmasını sağlamayan parçadır. Mikroskop tablası; üzerine incelenecek preparatın konulduğu, mikroskop koluna eklenmiş, ortasında ışığın geçebileceği delik bulunan ve sağ-sol, ileri-geri yönde hareket ettirilebilen bölümdür. Mikroskop maşaları; tabla üzerinde preparati tespit maksatlı yerleştirilen sıkıştırma tertibatlarıdır. Mikroskop tüpü; optik kısımları taşıyan borudur. Ayar vidaları; mikroskop kolunun yan tarafında dişli kızak üzerinde bulunan ve tablayı yukarı-aşağı yönde hareket ettiren vidalardır. Büyük ve kaba hareketler makrovida ile mikrometre cinsinden küçük hareketler ise mikrovida yardımıyla gerçekleştirilmektedir (6).

Aydınlatma Kısmı; Genel olarak; ışık kaynağı, ayna, diyafram ve kondansörden oluşur. Ayna; ışık kaynağından gelen ışığı tablanın ortasındaki delikten yukarı doğru yansıtır. Aydınlatma sistemi mikroskop bünyesinde düzenlenen mikroskoplarda ayna bulunmaz. Diyafram; ortası istenildiği kadar açılıp kapanabilen bir delikten ibaret olup, ışık miktarını ayarlayan kısımdır. Kondansör ise; aşağı-yukarı hareketle gelen ışığı preparat üzerinde toplayan mercek ya da mercek sistemidir (6).

Optik Kısım; Mikroskopta objektif ve oküler adı verilen mercek sistemlerinden oluşan bölümdür. Göz ile göremeyeceğimiz kadar küçük cisimlerin görüntülerini büyütme için kullanılan mikroskop çeşitlerinden birisi de polarize ışık mikroskopudur. Bir çeşit kompakt mikroskop olan polarize ışık mikroskopunda; kompakt mikroskopta bulunan esas elemanlar olan; ışık kaynağı, kondansör, örnek tablası, objektifler, okülerler, destek ve hizalama bölümlerine ilaveten; polarizer, analizör, kompensatörler (first-order red, quarter-wave, quartz wedge) ve Bertrand lensler bulunur (6).

2.1.3. Mikroskop Çeşitleri

Günümüzde laboratuvarlarda en yaygın kullanılanlar, aydınlık alan (ışık) mikroskopudur.

2.1.3.1. Işık Mikroskopu

Büyüteç basit bir mikroskoptur. Işık mikroskopu doku bölümlerini incelemek için kullanılan iki basit mikroskopun ya da büyütücü lens sisteminin kombinasyonu ile oluşur. Bu sebeple ışık mikroskopu birleşik mikroskop olarak da adlandırılır. Birleşik mikroskopta bulunan lens sistemleri objektif lenslerini ve oküler lensleri içerir (7).



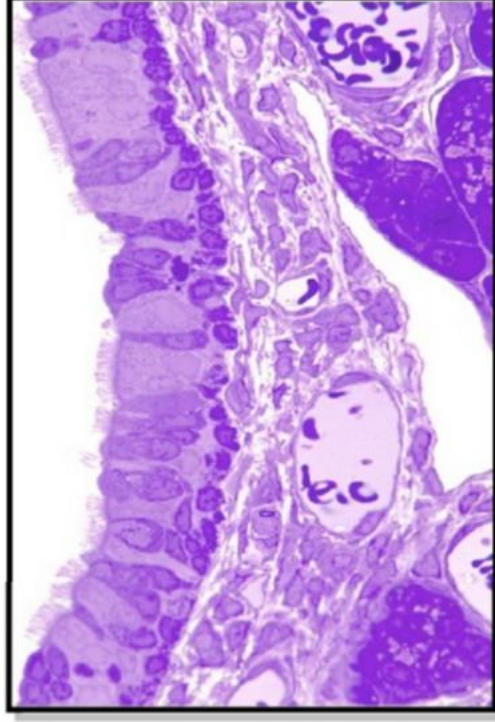
Şekil 4: Işık mikroskobu

Objektif lensleri objeye yakın olan lenslere denir. Bunların odak uzaklıkları çok kısadır. Objektif lensleri ile objenin gerçek görüntüsü elde edilir. Oküler lensleri ile elde edilen görüntü ise virtüel görüntüdür. Gözle oküler lensinden bakılırsa objenin son görüntüsü görülür (Şekil 2.3). Oküler ve objektif lensleri bir tüpün iki ucuna yerleştirilmişlerdir. Her biri birkaç mercekten yapılmıştır. Genellikle objektif lensleri 8-10 mercekten, oküler lensleri ise 2-3 mercekten oluşmaktadır. Bunu sebebi çok sayıda merceğin kullanılması ile tek merceğin neden olduğu kusurların yok edilmesidir. Böylece ışığın çeşitli dalga boylarına ayrılması önlenir ve monokromatik ışık sağlanmış olur (7).

Işık mikroskobunda objeye çeşitli büyüme düzeylerinde incelemek mümkündür. Objeye büyütülmesi büyütme güçleri farklı olan objektifler ve okülerler kullanılarak yapılır. Özel bir objektif ile özel yağlı bir ortam (immersiyon yağı) oluşturularak büyütmeyi daha da arttırmak mümkündür (4).

İncelenecek obje canlı olarak veya özel boyama işlemlerinden geçirilerek mikrotom ile ince kesitler halinde kesilir ve lam üzerine alındıktan sonra mikroskop tüpünün altında bulunan ve tabla denen düzlemin üzerinde incelenir. Boyama görüntünün daha kontrastlı olmasını sağlar (Şekil 1.4). Kesitler alınmadan önce alkol banyoları ile objenin dehidrasyonu sağlanır, parafin gibi bir gömme ortamı içinde bloklanır. Mikroskop

tablasının altında ayna ve kondansör vardır. Mikroskobun bu iki parçası ışık kaynağından gelen ışınların daha yoğun bir şekilde obje üzerine gönderilmesini sağlar (Şekil 2.5).



Şekil 5: Işık mikroskobunda doku görüntüsü

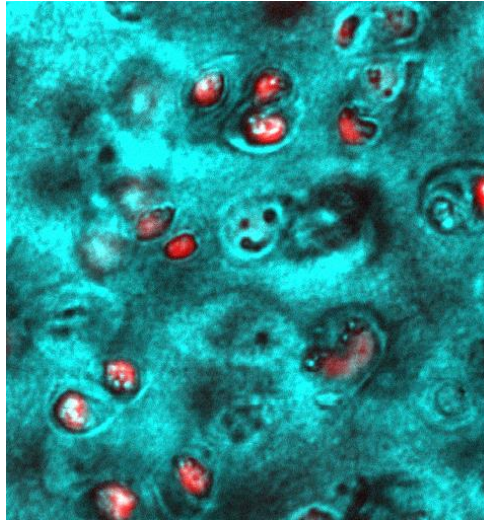
2.1.3.2. Floresans Mikroskobu

Cisimlerin kendilerine gelen ışınları ve bu ışınlardakinden farklı dalga boylarını yansıtmaları olayına floresan denir (4). Floresan mikroskobu, maddelerin karanlık bir zemin üzerinde parlak ışıklar yaydığı ve insan gözünün görme sınırı altındaki dalga boylu ışınların kullanıldığı mikroskop türüdür. Floresan mikroskobunda ışınım genellikle ultraviyole dalga boyu (360nm) veya mavi alan (400nm) arasındadır (şekil 2.6). Bazı modern boyalarla daha uzun dalga boyları kullanılabilir (7).



Şekil 6: Floresans Mikroskobu

Dokularda bazı maddeler normal olarak floresans yaparlar. Bu duruma otofloresans ya da primer floresans denir. Otofloresans hücrelerin doğal bileşikleri olan vitamin-A, porfirin ve klorofil gibi maddelerde bulunur. Floresan boyalar, kimyasallar ve antibiyotikler dokuya eklenerek sekonder floresan yapılar oluşturulur ve buna fluorokromlar denir. Bu en çok kullanılan floresan mikroskopi örneğidir ve fluorokromların büyük çoğunluğu mavi ışık yayılımı gerektirir. DAPI (diamedino-2-fenilindol) hücreleri parlak maviye boyamak için kullanılan yaygın bir boyadır (Şekil 2.7). DAPI kullanılarak klinik örnekler gibi kompleks ortamlardaki hücreler görüntülenebilir (8).



Şekil 7: Floresan mikroskop görüntüsü (52)

Konfokal mikroskoplar ise floresan mikroskopun bir gelişmiş modelidir. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop araştırmacılara floresan veya yansıtıcı probalar ile işaretlenmiş kemik, beyin ve diğer benzeri dokuların oldukça kalın kesitleri, gelişmekte olan embriyolar gibi küçük organizmalar ve bütün haldeki hücre örnekleri ile çalışma imkanı sağlar. Bu teknoloji araştırmacılara ulaşılacak en yüksek ışık mikroskobu çözünürlüğü ile hücre altı yapılar, fonksiyonları ve hücre/organizma yapısının temiz bir şekilde görüntülenmesini sağlar (4).

2.1.3.3. Elektron Misroskop

Işık mikroskoplarında iki bine ulaşamayan büyütme gücüne karşılık elektron mikroskoplarda yüz binlerle ifade edilen büyütmeler elde etmek mümkündür. Bu tür mikroskoplarda görüntü elde etmek için ışık mikroskoplarındaki foton yerine elektron kullanılır. Elektronlar negatif elektrik yüklü ve dalga boyları çok kısa olan partiküllerdir. Elektron demetleri ısıtılmış bir flamanın ucundan salınırlar. Elektronlar havadaki gaz molekülleri tarafından durdurulurlar. Ancak birkaç mikron gidebilirler. Bu nedenle elektron mikroskoplarda iyi bir vakum sistemine de ihtiyaç vardır (3).

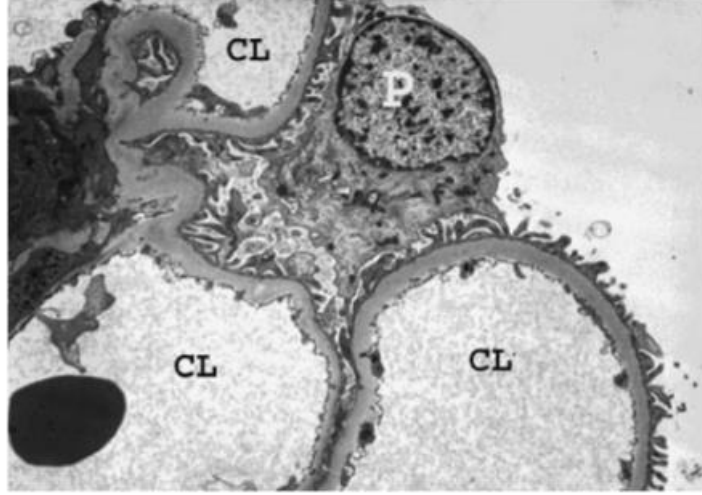


Şekil 8: Elektron Mikroskopu (21).

Elektron mikroskobu ile ışık mikroskopları arasındaki bir diğer fark da görüntünün oluşmasındadır. Işık mikroskoplarında görüntünün oluşması ışığın farklı absorpsiyonu sonucudur. Elektron mikroskopunda ise görüntü farklı sapmalar sonucu ortaya çıkar. Elektronları geçiren kısımlar ile saptıran kısımlar, bu sapmanın derecesine göre floresans ekranda beyazdan griye hatta siyaha kadar varan koyulukta belirir. Işık mikroskoplarında ışığın ince kenarlı merceklerde kırılmasıyla sağlanan büyütme, elektron mikroskopta başka bir prensiple sağlanır. Vakumlu ortamda düzgün paralel demetler şeklinde ilerleyen elektronlar elektrik yükleri olmalarından yararlanılarak bir manyetik alanda açılırlar. Demetlerin açılıp genişlemesi oranında görüntü büyür (7).

Elektron mikroskoplar için söyleyebileceğimiz bir diğer özellik görüntünün belirmediği son aşamadır. Elektronlar gözle görülmediği için görüntü bir floresans ekran üzerine düşürülerek incelenir. Elektron mikroskopları, ışık mikroskoplarında olduğu gibi kesit özelliklerini ortaya koyan “geçirimli (transmisyon) elektron mikroskopları” ve yüzey özelliklerini ortaya koyan ve bunu üç boyutlu bir görüntü şeklinde sağlayan “taramalı (scanning) elektron mikroskopları” olmak üzere iki farklı tipe ayrılmaktadır (8).

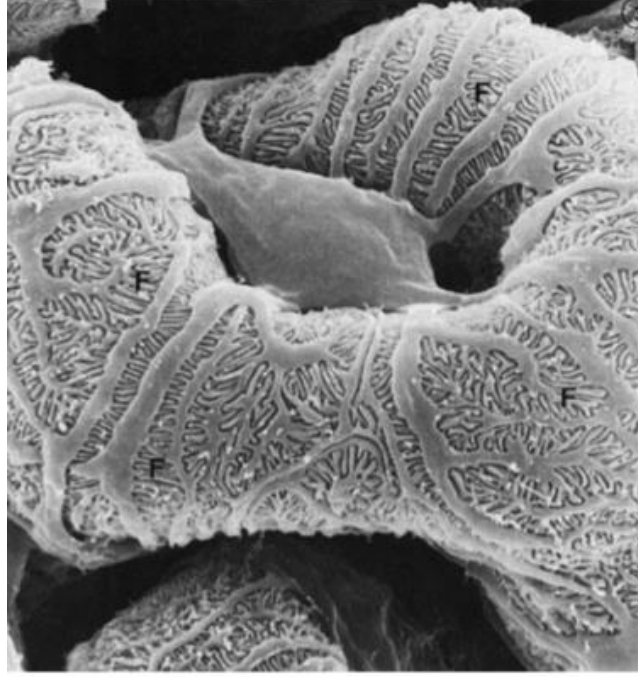
Geçirimli (Transmission) Elektron Mikroskobu (TEM): Elektron tabancasından elde edilen elektronlar 100-200kV değerinde hızlandırma voltajı ile vakumda hızlandırılarak numuneye yönlendirilirler. Elektronların, elektro mıknatıslar ile sabitlenmiş, bölümlere ayrılmış ve boyanmış örnek üzerine odaklanması sağlanır. Elektronların yönlendirilmesi elektromanyetik lensler kullanılarak yapılır. Numuneden geçebilen elektronlar gözlem ekranının üzerine düşer ve görüntü elde edilir. Görüntü, film üzerinde veya fosforlu ekran üzerinde yakalanır. Numune içinden geçen elektronların kırılmasıyla numunenin kristal yapısı da belirlenebilir. Elektronların örnek ile etkileşimleri sonucu oluşan görüntü büyütülür.



Şekil 9: Geçirimli (Transmission) Elektron Mikroskobu ile 1000000 kat büyütme (21).

Taramalı (Scanning) Elektron Mikroskobu (SEM): Yüksek çözünürlüklü resim elde etmek için, vakum ortamında oluşturulan ve aynı ortamda elektromanyetik lenslerle inceltiren elektron demeti ile incelenecek malzemeyi analiz etme imkanı sunar. Mikroskopta oluşturulan resimler, elektron demetinin malzeme ile olan etkileşiminden ortaya çıkan ışınlar veya geri yansıyan elektronlar sayılarak oluşturulur. Numunenin SEM ile incelenmesi sırasında numune üzerinde istenilen alana gönderilen elektron demeti ile numune yüzeyine enerji transferi sağlanır (9).

Yüksek enerjili demet elektronlarının, birincil elektronlar olarak adlandırılır ve numune atomlarının dış yörünge elektronları ile elastik olmayan etkileşimi sonucunda numuneden bazı elektronların yerinden oynamasına neden olur. Böylece düşük enerjili elektronlar oluşur. Bu elektronlar numune yüzeyi hakkında bilgi taşır. Yörüngelerinden atılan veya enerjisi azalan demet elektronları, numune yüzeyine doğru hareket ederek yüzeyde toplanırlar. İkincil elektron olarak adlandırılan bu elektronlar bir algılayıcı tarafından toplanır ve sinyale dönüştürülür. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) tamamen dijital olup bilgisayar kontrolü ile çalışmaktadır. 5x-300.000x arası büyütme kapasitesine sahiptir. Tabaka film çekme ünitesi ve video, kopya, baskı ünitesi vardır (3).



Şekil 10: SEM Görüntüsü (21).

2.1.3.4. Dijital Mikroskop

Dijital mikroskop, bir bilgisayarın numuneyi gözleme izin veren bir dijital kamera ile görüntüleyen mikroskop çeşididir (10). 2000’li yıllardan sonra tüm hayatı etkileyen bilgisayar ve internet teknolojisindeki gelişmeler, geleneksel tıp eğitiminde ve bilginin aktarılmasında değişikliklere neden olmuştur. Özellikle histoloji ve embriyoloji gibi görsel konular içeren dallarda daha belirgin etkiler görülmüştür. Önceleri mikroskoplara bağlı dijital kameralarla görüntülerin bilgisayar monitörlerine aktarıldığı sistemler kullanılırken, daha sonra histoloji slaytları taranıp dijital görüntüler haline dönüştürülmüştür (5). Disklerde ya da sanal ortamda depolanan bu görüntülere, bilgisayarın olduğu her ortamda erişmek mümkün olmuştur. Dijital slaytlar önceleri CD-DVD tabanlı olarak öğrenciler ile paylaşılmış, bu sayede istenildiğinde görüntülere erişme imkanına sahip olunmuş olsa da ne yazık ki güncelleme önemli bir sorun olmuştur. Daha sonra sanal ortamda depolanan görüntülerin çözünürlüğü ve indirilme hızı artmış, internet üzerinden erişimi kolaylaştırmıştır (11). Dijital mikroskoplar dijital slaytları gösteren, navigasyonu sağlayan, açıklayıcı veya yönlendirici notlar barındıran ve görüntüyü net olarak 200-400 kat büyütebilen bilgisayar yazılımlarını içermektedirler (5).



Şekil 11: Dijital Mikroskop (9).

Dijital mikroskoplar, konvansiyonel mikroskobun eşidir. Testler, mikroskoptan doğrudan yapılamaz ve bunun yerine tam bir sanal imaj olarak verilir ve örnek daha sonra taranarak istenilen çözünürlük ayarlanır. İçinde bulunan otomatik odak ile imaj her daim nettir. Tarama ile oluşturulan görüntüler final görüntüyü oluşturmak için kullanılır ve bu son imaj veri tabanına kaydedilebilir (2).

2.1.4. Işık Mikroskobu İle Dijital Sistemin Kıyaslanması

Patolojinin en sık kullandığı mikroskop ışık mikroskobudur. Geleneksel olarak kabul edilen ışık mikroskoplarının günümüzde halen yaygın olarak kullanımının en önemli sebebi maliyetinin dijital mikroskoplara oranla daha düşük olmasıdır. Geleneksel ışık mikroskopları ve dijital mikroskoplar arasındaki farkları şu şekilde sıralamak mümkündür (12);

- Daha önceleri görüntüler CMOS fotoğraf filmi ile yakalanıyordu. Ancak günümüzde şarj çiftli aygıt (CCD) kameralar ile dijital görüntü yakalama imkanı bulundu. Sadece bir CCD kamera kullanarak artık tamamen dijital mikroskop ile

bir örneği incelemek ve görüntü olarak bilgisayar ekranında doğrudan göstermek mümkün hale gelmiştir (10).

- Bir ışık mikroskobu ve dijital mikroskop arasındaki en temel fark büyütmedir. Işık mikroskobu ile sağlanabilecek büyütme yaklaşık x 1000 ile sınırlıdır ve görünür ışığın dalga boyundan kaynaklanan bu sınırın ışık mikroskopları için teknolojik ilerlemeler ile aşılması mümkün görünmemektedir (5). Bir ışık mikroskopu ile büyütme mercekle büyütmenin mercekle büyütme ile çarpılması suretiyle bulunur. Dijital mikroskoplarda ise bir mercekle olmadığı için, büyütme bu yöntem kullanılarak bulunamaz. Bunun yerine bir dijital mikroskopta büyütme monitörün büyüklüğüne bağlıdır. Ortalama dijital mikroskop sistemi monitörü 15 inçtir. Bir ışık mikroskopu ile dijital mikroskop arasında yaklaşık % 40 büyütme oranı söz konusudur. Böylece geleneksel bir ışık mikroskobunun büyütme oranı dijital mikroskoplara oranla %40 daha azdır (10).
- Dijital mikroskop CCD kamera ile doğrudan yansıtılan görüntüye sahip olduğundan, bir ışık mikroskoptan daha yüksek kalitede kaydedilmiş görüntüleri elde edebilmektedir. Işık mikroskopunda lensler, göz optik yapılıdır. Monitör görüntüsü ve kaydedilen görüntü dijital mikroskop ile daha yüksek kalitededir (10).

2.2. PATOLOJİ

Patoloji, eski Yunan dilinde hastalık anlamına gelen “pathos” teriminden türetilmiş bir kelimedir. Patoloji kelimesi, hastalıkların bilimsel yöntemlerle incelenmesi anlamına gelmektedir. Daha geniş bir ifadeyle patoloji, hastalıklara neyin neden olduğunu, doku ve organları etkileme biçimlerini, hastalıklı durumda olan doku ve organların biçimsel ve görüntüsel özelliklerini incelemektedir. Patoloji, anatomi ve fizyolojide öğrenilen bilgilere, hastalıklı organların çıplak gözle veya mikroskop altındaki anormal görünüşlerini ekleyerek hastalıkların daha kolay anlaşılmasını sağlamaktadır. Görünüşlerin karar vermeye yardımcı olduğu alanlarda, patolojik incelemenin tanıya ve uygun tedavi yönteminin belirlenmesine çok önemli katkısı bulunmaktadır. Günümüzde kanser vakaları başta olmak üzere pek çok hastalığın kesin olarak tanısı patolojik inceleme sonucu verilmektedir (13).

2.2.1. Patoloji Laboratuvarı

Modern hasta bakımında patoloji önemli bir role sahiptir. Genel bir düşünce veren otopsi dışında patologlar zamanlarının çoğunu hatta önemli bir kısmını tanı koymak için geçirirler. Bir patolog mikroskop üzerine yansıtılmış hücrelerin muayenesi sonucu hücredeki anormal değişiklikler sayesinde hastalıkları tayin eder. Patoloji laboratuvarları, üniversite hastanelerinin “Patoloji Anabilim Dalı”nda, Devlet hastanelerinin “Patoloji Servisleri”nde incelenirler. (13).

İster patolojik inceleme amaçlı, ister araştırma amaçlı olsun, laboratuvara alınan bir biyolojik örneği canlı olarak incelemenin çoğu kez mümkün olmadığı durumlarda örneği incelemenin 2 tür yöntemi bulunmaktadır. İlki uygun olan herhangi bir kimyasal ajan veya karışım ile tespit (fikse) ederek ikinci olarak da yapıyı düşük derecede kısa süreliğine dondurarak yapmaktır (14).

Laboratuvara gelen bir doku örneği, öncelikle genellikle kimliğini belirten bir numara veya isimle işaretlenmektedir. Takibin tüm aşamasında bu örnek verilen kimlik ile korunmaktadır. Doku hakkında temel kimlik bilgilerini belirten işaretlerin yumuşak uçlu bir kurşun kalemle ince kağıt parçasına yazılıp takip kabına veya tek kullanımlık kasetlere konulması gerekmektedir. Bu işlem sırasında mürekkepli ve mumlu kalemler kesinlikle kullanılmamalıdır, kurşun kalem tercih edilmelidir. Bu kimlik bilgileri bir numara olabileceği gibi ilgili kişi veya deneyin isminin baş harfleri veya protokol işaretleri de olabilmektedir. Doku, parafine gömüldüğü zaman, doku örneğinin işaretlenmiş yüzü üste, kesit alınacak düzgün yüz ise alta gelecek şekilde oryante edilmelidir (14).

Daha sonra incelenecek objenin yapısına uygun kimyasalların doğru seçilmesi çok önemli bir aşamadır. Yapıya geç nüfuz edecek bir tespit solüsyonu uygun olmadığı gibi, yapıyı meydana getiren molekülleri yok edebilecek kimyasalların da kullanılmaması gerekmektedir (14).

Doku takibi bitip kesim aşamasına gelindiğinde, her kesilen bloğun diğerlerinden ayrılması ve kaçınıcı sefer kesit alındığının anlaşılması için her kesilecek olan kesitler, çini mürekkebi veya doku bloğun üzerine monte edildiği ahşap kaidenin ters yüzeyi üzerine yazılır veya mekanik çentik atılmasıyla belirlenebilir. Bunun için silinmez bir kurşun kalem kullanılabilir (14).

Objenin mikroskopik incelenmesi için mutlaka sertleşmiş bir blok statüsünde olması gerekmektedir. Bunun için de genel metodoloji olarak kullanılan parafin, selloidin veya diğer plastik maddeleri ile yapılan bloklama türüdür. Selloidin veya diğer yumuşak plastik maddelere gömülen biyolojik obje genelde, rutinde çok özel çalışmaları kapsamaktadır (14).

Dondurarak tespit, canlılık özelliğine en yakın durumu gösterme bakımından en uygun yöntem kabul edilmektedir. Özellikle objenin, protein-enzim ve diğer submolekülleri incelenmek istendiği zaman bu yöntem kullanılmaktadır. Morfolojik gözlemler için bu yöntem çok elverişli olmayabilir (14).

Boyama işlemine geçmeden önce boyanacak dokuların geçmesi gereken 5 aşama bulunmaktadır. Bunlar (14);

- 1- Tespit/fiksasyon (fixation)
- 2- Sudan kurtarma/dehidrasyon (dehydration)
- 3- Şeffaflaştırma/klering (clearing)
- 4- Gömme/embedding (embedding)
- 5- Kesitlerin lamlara alınmasıdır (sectioning).

Bu basamaklardan ilk üçünde, doku eğer parafin veya selloidine gömülecekse, temel esaslar aynıdır. Basamaklardan her biri, bir sonraki basamağın verimi için, finaldeki gözlemi direkt olarak etkileyeceği için çok önemlidir. Örneğin, işe tespitle başlanacağı için ilk basamak olan tespit basamağı, çok önem taşımaktadır. Kullanılacak tespit yöntemi, incelenecek doku ve konuya göre uyumlu seçilmesi şarttır. Görülmek istenen yapıların görülebilir olması uygun tespit yöntemiyle mümkün olabilmektedir. Son 2 basamak, gömme maddesinin parafin veya selloidin olmasına göre farklılık göstermektedir (14).

Kısaca patoloji laboratuvarında iş akışı şu şekildedir (13);

- Cerrahi olarak çıkarılmış hasta örneği patoloji laboratuvarına ulaşır ve patolojik tanı için laboratuvara kabul edilir.
- Sitoloji örnekleriyle preperasyon işlemleri ve biyopsi örnekleri doku takip işlemleri ve ardından preperasyon işlemleri yapılır (doku gömme, kesit, boya).
Bu işlemler klasik ışık mikroskopunda inceleme yapabilmek gerekmektedir. Işık

dokunun içerisinde geçerek farklı renk yansımaları sayesinde preparatı görünür hale getirir. En yaygın olarak Heamatoxyline & Eosin boyama yapılır. İki renk olarak görüntü sağlanır (hücre çekirdeği mor, hücre zarları pembe görülür).

- Özel boyama yöntemi olan immünohistokimya (İHK) boyaları da tanıya yardımcı olmaktadır. Dokunun 2 renk dışında daha ayrıntılı görülmesi için farklı renklendirmeler yapılabilir.
- Patolog incelemeye hazır olan boyalı preparatları mikroskop ile değerlendirir. Hücre yoğunluğu, hücre değişikliği, İHK boyanma dereceleri gibi çeşitli kriterler sonucunda herhangi bir tanı koyamadıysa veya tanı için emin değil ise meslektaşlarının yorumuna ihtiyaç duyar.
- Patolog tarafından belirlenen tanı, hastaya klinisyen doktoru aracılığı ile bildirilir.

2.2.2. Patolojide Raporlama

Patoloji tarafından incelenecek örnekler asıl olarak 2 grupta toplanmaktadır. Bunlar (13);

- 1- Vücuttan küçük veya büyük bir operasyonla çıkarılan dokular veya organlar üzerinde yapılan incelemelerdir. Bu gruptaki incelemeler için “Biyopsi Raporu” hazırlanmaktadır.
- 2- Vücuttan iğne ile alınan hücreler, kendiliğinden dökülen hücreler veya vücut sıvıları üzerinde yapılan incelemeler. Bu gruptaki incelemeler için ise “Sitoloji Raporu” hazırlanmaktadır.

Yukarıda belirtilen yollardan biriyle alınan (doku, organ, hücre topluluğu, sıvılar) “örnek” olarak adlandırılmaktadır. Örnek teslim alınırken hangi hastaya ait olduğunu belirten isim ve numaralar yazılır. Bu numara, patoloji raporunda da belirtilir. Üniversite hastanelerinde raporun hazırlanması aşamasında uzmanlık öğrencileri (asistanlar) da görev yapmaktadırlar. Ancak inceleme sonuçları patoloji uzmanları tarafından rapor edilmektedir (13).

Patoloji raporlarını şu alanlardan oluşur;

- Hastanın adı
- Hastanın yaşı

- Raporun numarası
- Örneğin alındığı tarih
- Rapor tarihi

Patoloji raporunda, teslim alınıp incelenen örneğin özellikleri de (sayısı, boyutları, rengi vb.) yer almaktadır. Bu yukarıda 1. grupta belirtilen örneklerde genellikle “Makroskopi” başlığı altında tanımlanmaktadır. Hekimler ve hastalar, incelemenin doğru örnek üzerinde yapıp yapılmadığını bu açıklamaya bakarak anlayabilirler. “Örneğin bir başka örnekle karışmış olması” endişesi de böylelikle engellenmiş olmaktadır (13).

2. grupta yer alan örnekler “sitoloji” olarak adlandırılırlar. Bunların dış görünüşü ve diğer özellikleri de bazı patoloji laboratuvarlarının raporlarında yer almaktadır. Raporda, mikroskopi başlığı altında yer verilebilen açıklamalar çoğu kez doktordan doktora ek mesaj biçimindedir. Anlaşılması için biyoloji ve mikroanatomi bilgisi gerektiren bu alandaki bilgiler tıp eğitimi olamayanlar için genellikle bir anlam ifade etmez. Bu aşamada hastalar için en merak edilen kısım “tanı” kısmıdır. Bu kısımda örneğin alındığı organ/doku ve alınma biçimi ile ilgili bilgilere de (tanıdan önce veya sonra) yer verilebilmektedir (13).

Tanı kısmında, ek açıklama veya örneklere de yer verilebilir. Bunlar hastanın doktoruna yönelik notlar olarak değerlendirilebilir. Ek bilgiler arasında, tanı konulan hastalığın şiddeti, derecesi, yaygın olup olmadığı bulunabilir. Gerektiğinde, “biyopsinin tekrarlanması önerilir” gibi bir ifade de raporda yer alabilir. Bu önerinin hasta için uygun olup olmadığını değerlendirmek hastanın takibini yapan doktorun görevidir. Özellikle 2. Grupta yer alan “sitolojik” incelemelerden sonra hastadan doku/organ örneği alınması gündeme gelebilmektedir (13).

Hastaların kendileri için konmuş olan tanıyı “kendi anlayacakları terimlerle” öğrenme hakları vardır. Hastayı bu açıdan aydınlatma görevi, kendisinden sorumlu hekime aittir. Kendilerine danışıldığında, bazı patologlar da “sınırlı biçimde” hastaya tanı ile ilgili bilgi verebilmektedirler. Bu konudaki en sağlıklı yaklaşım, hastanın tüm bilgi gereksinimlerinin “tedaviyi üstlenen hekim” tarafından karşılanmasıdır (13).

Patoloji raporunda yer alan “tanı”, tedavi ile ilgili tüm kararları tek başına belirleyici olmayabilir. (#) ilişitiri , internet kaynakları veya konuya uzak hekimlerin tanı konusunda sağlayabilecekleri ek bilgilere gerektiğinden fazla anlam verilmesi bazı sıkıntılar yaşanmasına sebep olabilmektedir. Bu konuda değerlendirme yapacak en yetkili isim hastanın takibini yapan hekimdir (13).

2.2.3. Raporun İnanıdırıcılığı

Hastaların, özellikle tanı kısmında kanser gibi bir hastalık çıkması durumlarında, raporun doğruluğuna inanmaları bazen güç olmaktadır. Bazı hastalar kendilerinden alınan örneğin bir başkasından alınan örnekle karıştırılmış olabileceğini düşünmektedirler. Bu durum çoğu zaman kısa sürse de bazı durumlarda hastalar tanıları, başka tanı merkezlerinde teyit etmek istemektedirler (13).

Bazı durumlarda ise, hekim yapılan tanı ile ilgili kuşkuya düşebilmektedir. Bu kuşkuyu giderebilmek için hekim tarafından, diğer yöntemlerin yetersiz kalması durumunda “konsültasyon” istenir. Hekim bu isteğini patoloğa bildirir. Patoloğun tanıda ısrarlı olması durumunda, aynı kurumda görevli bir başka patoloji uzmanına danışılabileceği gibi, başka bir kuruma da başvurulabilir. Konsültasyonun kiminle yapılacağı konusunda mutlaka tanıyı koyan patoloğun görüşü alınmalıdır. Çünkü söz konusu hastalığın tanısı konusunda hangi patoloğların daha bilgili/deneyimli olduklarını en iyi bilen kişi genellikle tanıyı ilk koyan patologdur. Patologlar her zaman raporlarına yansıtmasalar da meslektaşlarından görüş alabilmektedirler. Kulaktan dolma bilgilerle yapılacak bir konsültasyon, işleri zor duruma sokarak hastanın zarar görmesine neden olabilir (13).

2.2.4. Raporlama Süreci

Bir doku örneğinin patoloji laboratuvarı tarafından teslim alınmasından, bir “biyopsi raporu” düzenlenmesine kadar geçen süre çok değişkenlik göstermektedir. Bu süreyi belirleyen faktörler arasında şunlar sayılabilir (13);

- Örneğin niteliği (kemikler daha uzun süre almaktadır)
- Hastalığın niteliği (tanısı özel işlem gerektiren hastalıklar daha uzun süre almaktadır)
- Laboratuvarın niteliği (eğitim verilen kurumlarda raporlama süresi uzun sürebilir)

- Kurumlar arasında büyük farklılıklar olmamakla birlikte, biyopsi raporlarının süresi hakkında şunlar söylenebilir (13);
- Özel laboratuvarlar 1-2 günde,
- Üniversite hastanelerinin Patoloji Ana Bilim Dalları 5-9 günde verilmektedir.

Bazı özel durumlarda raporların süresi 1 ayı bulabilmektedir. Bunun tek nedeni ihmal değildir. Bazen gece gündüz çalışılsa bile bu süre uzayabilmektedir. Raporun hızlı verilmesi de değerlendirmenin “çok iyi” olduğu anlamı taşımamaktadır. Gelişmiş ülkelerde rapor süresi 3 gün kadardır (13).

Sitoloji inceleme raporları genel olarak daha kısa sürede hazırlanmaktadır.

2.3. Mikroskopun Patoloji Laboratuvarında Kullanım Alanı ve Önemi

Patoloji en geniş anlamıyla hastalıklara yol açan nedenleri, bunların doku ve organları etkileme biçimlerini, hastalıklı doku ve organların özellikle morfolojik (biçimsel, görüntüsel) özelliklerini inceleyen bilimdir. Bu anlamıyla bakıldığında patolojinin tıbbın temeli olduğu görülmektedir. Patoloji; anatomi ve fizyolojide öğrenilen bilgilere, hastalıklı organların çıplak gözle veya mikroskop altındaki anormal görünüşlerini ekleyerek hastalıkların daha kolay anlaşılmasını sağlar. Günümüzde kanserli hücrelerin tanısı başta olmak üzere, pek çok hastalığın kesin tanısı için patolojik inceleme gerekli ve zorunludur (13).

Mikroskoplar doku inceleme bilimi olan patolojinin vazgeçilmez cihazlarıdır. Patoloji süreci, hastalardan tarama ve tanı amacıyla hücre/doku örnekleri veya organların alınması ile başlamaktadır. Alınan bu örneklerin öncelikle dış görünüşleri (makroskopi) değerlendirilir. Böylece mikroskop altında incelenmesi gereken kısımlar seçilerek ayrılır. Hastalardan alınan örneklerin mikroskopta incelenebilir duruma getirilebilmesi için bir dizi işlem den geçirilmesi gerekmektedir. Bu işlemler birkaç dakikadan birkaç güne kadar sürebilir. Patologlar, değerlendirmelerinin önemli bir kısmını mikroskop başında yaparlar (13).

Mikroskobik tekniklerde önemlilik derecesine bağlı olarak incelemede sırasındaki hiçbir basamak (tespit, sudan kurtarma, şeffaflaştırma, gömme, kesitlerin lamlara alınması aşamaları) öncelikli veya vazgeçilebilir değildir. Her basamak bir diğerini, hatta bütün basamakları etkileyeceği için çok önemli ve hassastır. Baştaki bir basamakta

yapılacak bir hata, tüm basamakları ve sonucu etkileyecektir. Yine aynı şekilde en son basamakta yapılacak bir hata da sonucu olumsuz etkilemektedir (14).

2.4. Digital Mikroskopun Patoloji Laboratuvarında Kullanımı (Dijital Patoloji)

Teknolojideki gelişmelere paralel olarak hızla gelişmekte olan dijital mikroskoplar, bilgisayarların işlem gücü, veri aktarım hızları, yazılımdaki gelişmeler ve bulut depolama çözümleri sayesinde, dijital patolojide geniş bir kullanım alanı bulmaya başlamışlardır (15). Dijital patoloji, tanıya giden yolda kullanılan kriterleri daha objektif kriterlere dayandırmak amacıyla mikroskopik görüntünün dijital ortama nakledilerek bu görüntülerdeki özelliklerin boyut, sayı, alan, çevre, yoğunluk gibi sayısal özelliklere dönüştürülerek değerlendirilmesi yöntemi olarak tanımlanmaktadır (16). Subjektif bir bilim olan patoloji teknolojik gelişmeleri sadece insan gücüne yardımcı olarak kullanılmaktadır, teknolojinin bir patologun yerini alması söz konusu değildir. Dijital patoloji, patoloji hekimlerinin tanı koyma sürecine yardımcı olduğu gibi uzun yıllar bilgilerin depolanmasına da imkan sağlar.

Dijital patoloji, dijital slayt üreten bilgilerin yönetimini sağlayan bilgisayar teknolojisi tabanlı bilgi ortamıdır. Dijital patoloji, bir bilgisayar monitöründe incelenen ve analiz edilen dijital slaytları, cam slaytlara dönüştürme işlemi yapmaktadır. Günümüzde tıbbın en umut verici alanlarından biri olarak kabul edilen dijital patoloji, kanser ve diğer önemli hastalıklarda daha hızlı ve daha ucuz bir şekilde tanı ve teşhis konulmasında önemli bir katkı sağlamaktadır (15).

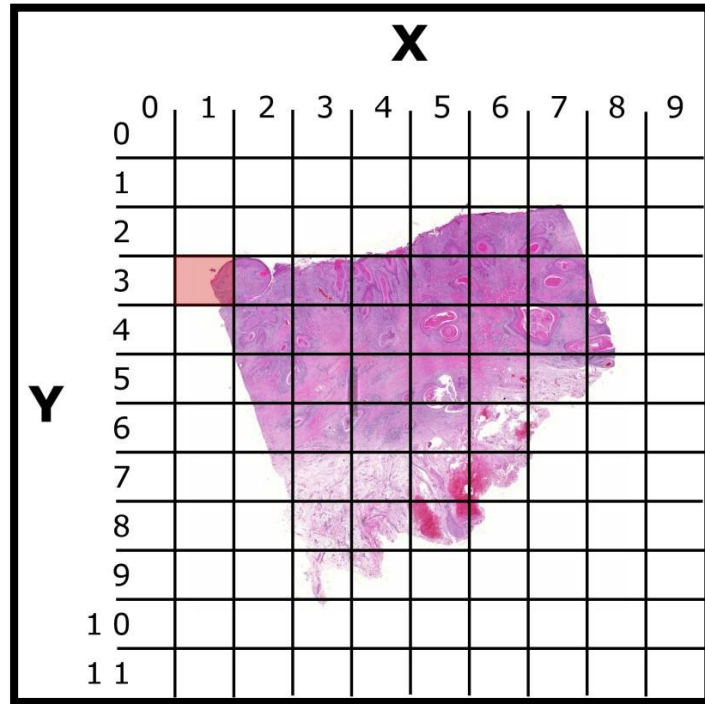
Bugün dijital patoloji, en basit işlemde (örneğin görüntü arşivleme) en karmaşık işlemlere (örneğin telepatoloji, görüntü analizi) kadar pek çok evrede kullanılmaktadır (15). Dijital görüntüleme sistemleri, ayrıca, tele-eğitim, klinik konsültasyon, telecytology, uzak konferans, web tabanlı öğrenme, kalite güvencesi ve bu görüntü analizi (17) gibi ikincil uygulamalar için de patoloji ve sitopatoloji alanında kullanılmaya başlanmıştır. Geleneksel ışık mikroskoplarını taklit etmesi amaçlanan ve "sanal mikroskopi" olarak da anılan (15) dijital mikroskopların patolojide kullanım sistemleri aşağıda incelenmiştir.

2.4.1. Dijital Tarama Sistemleri

Dijital tarama sisteminde kullanılan cam preparatlar yüksek çözünürlükte dijitalize edilmiştir, bu sayede preparatlar bilgisayar ortamında saklanabilir ve online olarak bu bilgilere ulaşılabilir. Dijital slaytlar sayesinde preparatlar uzun süre saklanabilir, herhangi bir bozulma oluşmaz ve istenildiğinde erişimleri sağlanır. Aynı zamanda dijital tarama sistemlerinde özel olarak geliştirilen çekirdek algoritmaları sayesinde hesaplamalar kolayca yapılabilmektedir.

Dijital tarama sistemleri patologların teşhis koymak için sıkça başvurduğu konsültasyon sürecinde de kullanıcıya kolaylık sağlar. Konsültasyon için preparatların manuel olarak ulaştırılmasına gerek kalmaz çünkü preparatlar sisteme yüklenebilir haldedir ve online olarak kullanıma açıktır. Bu işlemler sırasında patologlar dijital slaytlar üzerinde işaretleme, not alma, fotoğraf çekme gibi teşhis koymalarına yardımcı olacak işlemleri rahatlıkla gerçekleştirebilirler.

Patolog dijital tarama sistemi aracılığı ile klasik mikroskop çalışma şekline göre daha kolay şekilde tanı koyabilirler. Tarama başlamadığında düşük rezolüsyonda tam bir resim oluşturulur.



Şekil 12: Örnek Taraması

Tarama sırasında koordinat düzlemine göre taranacak maksimum alanı tespit eder ve taramaya en küçük X ve en küçük Y alanından başlar. Tespit edilenlerin çok küçük olanları öreğin toz parçacıklar filtrelenerek yok sayılır. Örneğin; (1, 3) - (1, 4) - (2, 7) - (2, 6) - (2, 5) - (2, 4) - (2, 3) - (3, 3) - (3, 4).

Görüntü netliği ve odaklama Z boyutunda da yapılabilmektedir.

2.4.2. Dijital Sitopatoloji

Sitolojide bilgisayarlı tarama sistemine geçilmesi çok eskilere dayanmamaktadır. İlk denemeler 1950'li yıllarda gerçekleştirilmiş fakat kullanılan yöntemlerin eksikliğinden dolayı geliştirilen sistem başarılı olamamıştır. Daha sonraki yıllarda çalışmalara ve araştırmalara devam edilmiştir. 1990'lı yıllarda çalışmalar hız kazanmış 2000'li yıllara gelindiğindeyse geliştirilen sistemlere FDA onayı alınmıştır (18).

Günümüzde sitopatoloji ve patolojide kullanılan dijital sistemlerde; görüntü transferi için 3 farklı yöntem kullanılmaktadır. Bunlar; statik görüntü transferi, real-time (canlı) görüntü transferi ve tüm preparatın taranması (whole-slide imaging) ile elde edilen dijital görüntünün transferidir (19).

2.4.2.1. Statik Görüntü Transferi

Mikroskoba bağlanmış dijital bir fotoğraf makinesi ile çekilen resimlerin bilgisayara aktarılması, orada kayıt altına alınması ve transfer edilmesine dayanan bir sistemdir. Bu yöntemle elde edilen görüntülerin dijital ortamda kapladığı yer az olduğu için internet ortamında transfer edilmesi ve depolanması oldukça kolaydır. Aynı zamanda bu yöntemin kullanımı oldukça kolay ve ekonomiktir. Statik görüntü transferi patoloji ve sitopatoloji eğitiminde, toplantılarda, konsültasyonlarda ve medikal yayınlarda oldukça kullanılan bir yöntemdir. Özellikle servikovaginal sitolojide primer tanı ve konsültasyonunda başarılı olarak kullanılmaktadır (19).

Statik görüntü transferi yöntemi yaygın olarak kullanılsa da bazı dezavantajları da vardır. En büyük dezavantajı slaytın sadece seçilmiş, sınırlı bir bölgesini göstermesidir. Sınırlı bir alan görüntülenebildiği için bu alanın seçimini yapan kişinin tecrübesi yöntemin başarısını etkilemektedir. Bunların yanında yöntem odaklamaya ve büyütme

olanak vermemektedir. Bu dezavantajlar tanı ve konsültasyon aşamasında hataya neden olabilirler.

2.4.2.2. Real-Time Görüntü Transferi

Mikroskoptaki görüntü dijital bir kamera ile kesintisiz bir şekilde güncellenerek ağ üzerinden uzak noktadaki bir bilgisayara transfer edilmesine dayanan bir yöntemdir. Bu yöntemde mikroskop uzaktan verilen komutlarla kontrol edilebildiği gibi mikroskop başındaki uzman tarafından da kontrol edilebilir. Böylece preparatın her tarafı taranabilir, farklı büyüklükteki objektifler kullanılabilir ve odaklama yapılabilir. Bu sistemle özellikle primer, frozen section tanısı, tele konsültasyon ve on-site yeterlilik (telesitoloji) değerlendirmelerinde başarıyla kullanılır. (19,20,21).

Real-time görüntü transferi ile statik görüntü yöntemindeki hatalar çözümlenebilmiş olsa da bu yöntemin de bazı dezavantajları vardır. Mikroskoptaki görüntü ile bilgisayara transfer edilen görüntü kalitesi arasında farklılıklar olması, netlik ayarlarında yavaşlıklarının bulunması, üç boyutlu preparatların odaklanmasında yaşanan zorluklar sayılabilecek dezavantajlar arasındadır. Ayrıca sitolojik detayları görüntülemeye kullanılan büyütme objektiflerinden elde edilen görüntüler çok yüksek çözünürlüktedir ve ağın transfer kapasitesinin aşılmasına neden olabilir. Bu dezavantajlar yüzünden yöntemin kullanımı sınırlanmıştır. Işık mikroskopuyla kıyaslandığında güvenilirliği daha azdır ve bu yöntem tercih edildiğinde yalancı negatifliklerle sonuçlanan bulgulara rastlanılabilir. Bunlarla birlikte sistemin pahalı olması da göz ardı edilmemesi gereken bir dezavantajdır (19).

2.4.2.3. Tüm Preparatın Dijital Görüntü Transferi

Bu yöntem diğerlerine göre daha yeni bir yöntemdir. Son 10 yılda geliştirilmiştir fakat 125 yıllık patoloji tarihinde çok önemli bir yere sahip olmuştur (19,20). Günümüzde dijital patoloji dendiğinde akla gelen yöntemdir bu sebeple bu yönteme aynı zamanda dijital patoloji sistemi de denmektedir. Tüm preparatın görüntülenmesi aslında statik görüntü transferine benzer fakat statik görüntü transferinde sadece belirli bir alan görüntülenebilirken bu yöntemle tüm biyopsi materyali görüntülenebilmektedir (20,22,23). Bu yöntemin en büyük avantajı preparatların görüntülenmesi ve yorumlanması aşamasında ışık mikroskopuna ihtiyaç duyulmamasıdır. Preparat taranıp sunucuya yüklendikten sonra internet aracılığıyla dünyanın her yerinden görüntülenebilmektedir. Patologlar ışık mikroskopuna ihtiyaç duymadan dijital ortamda

görüntülenen preparatlara sadece laboratuvar ortamında değil dünyanın her hangi bir yerinden internet bağlantısı ile rahatlıkla tanı koyabilmektedirler.

Dijital patoloji sisteminde donanım (hardware) cihazları ve yazılım (software) bulunmaktadır. Donanım cihazları; ışık mikroskobuna benzer objektiflerden oluşan optik bir sistem olan bir tür mikroskoptan ve tarama sırasında bu objektiflerden elde edilen görüntüyü bilgisayara aktaran dijital bir kameradan oluşmaktadır. Donanım cihazlarına aynı zamanda dijital scanner da denilmektedir (Şekil 2.9). Yazılım; görüntü oluşturmak, yönetmek, görüntünün transferini sağlamak ve görüntünün analizi gibi fonksiyonları gerçekleştirmek için oluşturulmuştur (19,20,21).



Şekil 13: Dijital scanner ve preparatların görüntülediği monitör

Dijital scannerlar, preparatları çizgisel eksenlerde çizgisel tarama yaparak ya da küçük kareler halinde alan taraması yaparak yüksek çözünürlüklü çok sayıda görüntü elde edebilmektedir (20,22,23). Tarama sonrasında elde edilen çok sayıdaki kareleri veya küçük çizgileri sisteme entegre olan bilgisayar birleştirip tek bir görüntü halinde yeniden oluşturur. Tarama materyalin özelliğine göre 2X, 10X, 20X, 40X, 60X ve 100X gibi objektiflerle yapılabilmektedir. Genelde dijital patoloji rutinlerinde 20X veya 40X objektifleri kullanılmaktadır. Hatta çok detaylı bir tarama yapılmayacaksa 20X objektifleri yeterli olmaktadır (19,20,22,24,25). Daha büyük büyütme objektifleri ise hücre çekirdeği ile ilgili görüntü analizleri ve FISH gibi uygulamalar için kullanılmaktadır. Son geliştirilen scannerlar hızlı ve doğru otomatik odak yapabilen sensörlerle

donatılmışlardır. Bunun en büyük avantajı ışık mikroskopundaki gibi sürekli mikro vida ile odaklama yapılmasının gereksiniminin ortadan kalkmasıdır. Bu tarayıcılar aynı anda 10-400 preparatı tarayabilirler (20,21,24).

Dijital patolojinin oldukça fazla avantajı vardır. En büyük avantajlarından biri erişim kolaylığının olmasıdır. İnternet aracılığıyla dünyanın her yerinden taranan görüntülere ulaşabilmek mümkündür. Bu durum patoloğlara çok büyük kolaylıklar sağlamaktadır; tanı koymak ve gerektiğinde diğer patoloğların görüşlerini almak oldukça kolay hale gelmiştir. Aynı zamanda bu sayede preparatların taşınması sırasında hasar alma riskleri de ortadan kalkmıştır. Dijital görüntülerle yapılan görüntü analizlerinin kalite ve güvenilirliği yüksektir ve sonuçlanması oldukça hızlıdır. Bazı üreticilerin ekledikleri değişik objektiflerle ve donanımlarla kalite oldukça yükselmiştir. Bunların yanında dijital görüntü üzerinden işaretleme yapabilme, alan seçme, istenilen bölgeden fotoğraf alabilme, bu fotoğrafları raporlamada kullanabilme gibi olanaklar mevcuttur. Belli oranda büyütülmüş görüntülerin daha büyük büyütme objektifler kullanarak daha da büyütme mümkündür. Bu büyütme sayesinde ışık mikroskopunda görülemeyen membran düzensizlikleri ve nükleol gibi bazı özellikler görülebilir hale gelmektedir (20,22,23,24,26).

Dijital patoloji sisteminin birçok avantajı olduğu gibi kullanımını kısıtlayan özellikleri de vardır. Mikrofokuslamanın olmaması, uzun tarama süresi, ışık mikroskopuna göre değerlendirme süresinin artması, görüntü depolanması sitopatolojide kullanımını kısıtlamaktadır. Bununla birlikte bazı durumlarda görüntü kalitesinde bozukluklar oluşabilir ama bu eklenen yazılımlarla çözülebilir. Dijital patoloji sisteminin en büyük ve önemli dezavantajı depolama sorunudur. Preparatın özelliğine göre 5mb-15gb arasında değişen büyüklüklerde yer kaplayabilmektedir. Depolama alanının artması arşivleme esnasında zorluklara neden olmaktadır. Kesit kalınlığı, kesit katlanması, kapama sırasında oluşan hava kabarcıkları, kapama maddesinin miktarı gibi faktörler mikrofokuslamayı ve dijital görüntünün oluşmasını engeller. Yüksek kalitede görüntü elde edebilmek için bu etkenleri ortadan kaldırmak gerekmektedir; bu da optimum kalitede preparat gereksinimini ortaya çıkarır. Kullanılan preparatların lekesiz ve tozsuz olması gerekmektedir. Yazılım firmalarının kullandıkları görüntü depolama formatlarının farklı olması da farklı sistemlere sahip olmayı gerektirdiğinden bu da çözüm bekleyen bir kısıtlamadır. Dijital patoloji sisteminin maliyetinin çok yüksek olması da önemli bir

sorundur. Tüm bu kısıtlamalara ilaveten dijital patoloji sisteminin hala Food and Drug Administration (FDA) onayı alamamış olması da önemli bir kısıtlamadır. FDA onayından sonra kullanımının yaygınlaşacağına inanılmaktadır (22,23,24).

Dijital lamlar kullanıcılar tarafından ihtiyaç duyulduğunda rahatlıkla görüntülenebilmektedir. Preparatın alıcı tarafından alınıp alınmadığı veya preparatın kayıp olup olmadığı gibi problemler söz konusu değildir. Manuel olarak konsültasyon yapıldığında lamın transferi sırasında kırılma, kaybolma, alıcıya teslim edilememe gibi sorunlar oluşabiliyor. Fakat dijital sistemde preparatın alıcıya ulaşip ulaşmadığı, preparatın kayıp olup olmadığı gibi problemler söz konusu değildir. Böylece konsültasyona katılacak olan patologların farklı lokasyonlarda olması nedeniyle gerçekleşecek olan zaman kaybı önlenmiş olur.

Dijital lam görüntüsüne işaretleme, not alma, basit uyarılar eklenebilmektedir. Böylelikle konsültasyonu yapılan senkronize olmuş lamlarda bu işaretlemeler görülebilmektedir. İç kullanım ile senkronize olmaz sistem fakat, dış bağlantıya açıldığında senkronize olur ve paylaşım açılır.

2.5. Patoloji Laboratuvarlarında Dijital Sistemin Bazı Kullanım Yöntemleri

Günümüzde dijital mikroskoplar tanıdan raporlamaya, uzaktan erişimden konsültasyona kadar birçok alanda kullanılmaktadır. Bu araştırmada dijital mikroskopların 2 temel kullanım alanı incelenmiştir. Bunlar Ki-67 (immünohistokimyasal sayma yöntemi) ve Frozen (intraoperatif konsültasyon yöntemi)'dir.

2.5.1. Ki67 (İmmünohistokimyasal boyama yöntemi)

Özellikle meme kanseri hücre oranı immünohistokimyasal değerlendirmesinde nükleer antijen Ki67 boyama yöntemi, tümörlü hücrelerin sayımı ve çoğalma oranlarını belirlemek için en yaygın kullanılan yöntem haline gelmiştir. Ki-67 gelişen ve bölünen hücrelerde bulunan fakat hücre gelişiminin dinlenme fazında bulunmayan bir kanser antijenidir (49,10). Histopatolojik olarak birbirine benzeyen birçok malign ve benign lezyonun ayırıcı tanısında kullanılır. Bir hücresel protein olan Ki-67 hücreler çoğalmak için bölünmeye başladığında yükselmektedir. Bu özelliği sayesinde Ki-67 iyi bir tümör

markeri olarak görülür ve tümör dokusunda gerçekleştirilen bu test ile tedavi safhası tahminleri yürütülebilir (27).

Araştırmacılar yüksek Ki-67 seviyelerinin daha agresif bir tümör tipini işaret ettiği ve nüksetme riskinin ortalardan daha fazla olduğu konusunda hemfikirdirler. Daha fazla pozitif hücreler daha hızlı bölünme ve yeni hücreler anlamına gelmekte ve meme kanseri için % 10 düşük, % 10-20 sınır ve % 20 üzeri ise yüksek sonuç anlamına gelmektedir. Ki-67 ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında, tiroid karsinomları genellikle adenomlara göre daha yüksek proliferatif indekse sahiptir (40,44). Bununla birlikte, onkositik adenomların proliferatif indeksi onkositik olmayanlara göre daha yüksektir. Ki-67 ekspresyonu yaşla birlikte belirgin şekilde artarken, yaşlı olgularda tümör büyümesi daha hızlıdır (17). Ki-67 indeksi %1.85'in üzeri kötü prognostik faktör olarak belirtilirken (15), metastaz yapmış tiroid karsinomlarında yüksek bulunmuştur (31).

Dijital mikroskopların kullanılmadığı patoloji merkezlerinde meme tümörü örneklerinin Ki67'nin boyayarak açığa çıkardığı hücreler patoloğlar tarafından ışık mikroskobu altında göz ile taranmakta ve yüzdelik oranı patoloğun tecrübesiyle belirlenmektedir. Hücre sayılarının gözle sayılması ise çoğu zaman imkansız bir durumdur. Çünkü kanserli hücrenin binli rakamlarla ifade ettiği bir durumda bu hücreleri tek tek saymak söz konusu olamamaktadır. Dijital sistemlerin kullanıldığı patoloji merkezlerinde ise bu işlem dijital mikroskop tarafından yapılmakta ve kanserli hücre sayısı ve yüzde oranı tam olarak alınabilmektedir. Tümör alanı patoloğ tarafından belirlenmiş olan örnekler dijital patoloji sistemindeki yazılım ile ve yine sistemin insan kontrolü altında hesaplanması sağlanabilmektedir. Hesaplanan hücrelerin sayısı, pozitif ve negatif boyanan hücre sayısı, işaretli alandaki boyanma yüzdesi gibi bir çok parametreye kısa sürede ulaşmak mümkündür.

Dijital sisteme geçen patoloji merkezlerinde Ki67 yöntemi her iki şekilde de kullanılmaktadır (ışık mikroskobu altında gözle bakma ve dijital sistemle sayma). Bunun nedeni dijital mikroskop teknolojisinin yeni olması nedeniyle tam bir güven oluşturamaması ve sistemin herhangi bir nedenle (veriyi tanımaması, taramanın optimum olmaması vb) hatalı sayım yapması ihtimalidir (31).

Dijital mikroskop ile yapılan Ki67 sayımı, gözle yapılan sayıma göre daha net değerler vermesinin yanında patoloğlara önemli ölçüde zaman kazandırmaktadır.

2.5.2. Frozen (İntraoperatif Konsültasyon Yöntemi)

Ki67 gibi rutin histopatolojik işlemlerin sağlıklı bir şekilde sonuç verebilmesi için en az 10-15 saat gibi bir süreye (mikrodalgalı yöntemler dışında) ihtiyaç vardır. Bu da, rutin patolojik incelemeye tabi tutulan bir örneğin tanısının en iyi ihtimalle ancak 1 gün sonra alınabileceği anlamına gelmektedir. Ancak bazı durumlarda ameliyat sırasında hastanın ameliyatının gidişatını değiştirebilecek bir durumla karşılaşılabilir. Bu gibi durumlarda dakikalar içinde tanı koyma ihtiyacı doğar. Hastanın anestezi alma süresinin uzamaması ve yeniden ameliyata alınmaması için bu acil tanı büyük önem taşımaktadır. Bu durumda uygulanan bir yöntem olan “frozen section” a (dondurarak kesme) büyük hastanelerde sıkça başvurulmaktadır. Bu yöntem, dokuların istenilen incelikte kesilebilmeleri için dondurulmaları temeline dayanmaktadır. Özel bir aygıt (“cryotome”) yardımıyla dokular -20 C sıcaklıkta kesilir ve hazırlanan kesitler hızlandırılmış yöntemle boyanırlar (32).

Ameliyat sırasında yapılan bu işlem sonrasında patolojik, bu kesitleri inceleyerek vardığı sonucu ameliyatı yapan cerraha bildirir. Bütün bu işlemler, ameliyathaneye yakın bir patoloji laboratuvarında yapıldığı takdirde, 10-15 dakika gibi kısa bir sürede tamamlanır. Bazı patoloji bölümlerinin ameliyathanelerinin içinde bu amaçla çalışan bir birimi bulunmaktadır (32).

Ameliyat esnasında tanı koymayı sağlayan Frozen yöntemi dijital mikroskoplar sayesinde yapılmaktadır. Ameliyat sonrasında örnek işi mikroskobu altında tekrar incelenerek önceki veriler kontrol edilir. Frozen preparatını kısa sürede tecrübeli patologa ulaştırarak tanı koymayı kolaylaştıran dijital patoloji gün geçtikçe yayılmaktadır.

2.5.3. Tiroid İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi

1950’li yıllardan bu yana yapılmaya başlanan iğne biyopsisi, tiroid patolojilerinin incelenmesinde güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmekte ve yaygın olarak uygulanmaktadır (33).

Bu yöntemde 20-27 (sıklıkla 20-22) numara, dış çapı 0.4-0.9 (sıklıkla 0.6-0.7) mm olan ince iğneler kullanılır. Vasküler ya da sklerotik olan nodüllerde 25 numaradan büyük iğneler daha etkilidir. Bu metod tiroidin histolojik incelemesine olanak vermektedir (33). Tiroid hastalıklarının tanısında diğer yöntemler daha çok tiroid bezinin fonksiyonel ve

morfolojik özelliklerini belirlerken, İİAS ile sitolojik tanıya ulaşmak mümkün olmaktadır. Yapılan çalışmalarda İİAS'nin duyarlılığı ortalama %72-100, özgüllüğü %65-98 olarak saptanmıştır (34).

İİAS, baş boyun bölgesinde lokalize şişliklerin tanısında önemli bir yer tutmaktadır. İİAS yapılması gereken durumlar (35); Sert veya fiske bütün tiroid nodülleri, radyasyon alanı içerisindeki her nodül, hızlı büyüme gösteren nodüller, dominant nodüller Mikst 3-4cm'den büyük nodüllerdir.

İİAS, 0,5-1cm çapındaki nodüllere rahatlıkla uygulanabilmektedir. Hastanın anamnezi, klinik muayenesi, laboratuvar bulguları, boyun bölgesi kitleleri ile ilgili bazı bilgiler vermekle birlikte, olguların çoğunda kesin tanı koyabilmek için morfolojik muayene gerekli olmaktadır. Kesin tanı, ayrıca preoperatif değerlendirmede cerrahi tedavinin ve tekniğin belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Böylesi hastalarda insizyonel biyopsi, tümörün çevresindeki avasküler alanlara yayılması riski ve oluşturulacak flepler açısından da yetersizliklere neden olabilmektedir. Baş boyun kitlelerinde pratik, çabuk, güvenilir, cerrahi nitelikte olmayan histopatolojik bir tanı yöntemine olan gereksinim ortaya çıkmış; İİAS bu ihtiyaçlara cevap veren bir teknik olarak kullanılmaya başlamıştır. İİAS bu dezavantajlara sahip olmayan, çevre dokulara zarar vermeyen bir teknik olarak insizyonel biyopsiye üstünlük kazanmıştır. Fried ve Patt, İİAS'nin gebelik, hipertansiyon, kalp yetmezliği gibi riskli durumlarda da rahatlıkla kullanılabilir olmasının, tekniğin bir diğer avantajı olduğunu bildirmişlerdir. İİAS'nin maliyeti çok düşüktür. Yetersiz değerlendirilen ve/veya tedavinin seyrinin sık sık kontrol edilmesi gereken durumlarda İİAS defalarca tekrarlanabilir. Tekniğin kısa, çabuk değerlendirilebilir olması, hasta açısından sonucun çabuk öğrenilebilmesi ve tanı hakkında anksiyetesinin ortadan kalkmasını da sağlamaktadır (36).

2.6. Dijital Patolojinin ve Sitopatolojinin Avantajları

Dijital Patolojinin veya Sitopatolojinin Avantajlarını şu şekilde sıralamak mümkündür;

Patoloğun Konfor ve Verimliliğinde Artış: Patologlar, laboratuvar ortamından ve hatta preparatların bulunduğu ülkeden bile uzakta iken dijital görüntülere dünyanın her noktasından internet ile ulaşabilmektedir. Bu sayede, patolog, özgür bir ortamda, konforlu bir şekilde ve zamandan tasarruf yaparak çalışma fırsatı bulmaktadır (32).

Görüntülerin transferinde akıllı telefon ve tablet bilgisayarların kullanılması, patolojlara büyük kolaylık sağlamaktadır. Yurtdışında yaşayıp, Türkiye'deki patoloji vakalarını takip etmek isteyen patolojlar için de önemli avantajlar sunmaktadır. Uzak lokasyonlu hastanelerde yapılan iğne aspirasyonlarının yeterlilik değerlendirmesini ve frozen kesitlerinin tanısını mobil telefonları veya tablet bilgisayarlarından yapan patolojların sayısı hem dünyada hem de ülkemizde giderek artmaktadır (37).

Primer Tanı ve Konsültasyon: Dijital slaytlar ile ilk patolojik /sitopatolojik tanılarının verildiği merkezler vardır. Bu teknoloji sayesinde zor vakalarda tecrübeli uzmanlardan ikinci bir görüş veya daha fazla görüş almak mümkün olabilmektedir (32).

Preparat Güvenliği ve Zaman Kayıplarının Önlenmesi: Dijital patoloji uygulaması sayesinde, patoloji laboratuvarı bir yerde toplanan çok merkezli hastaneler arasında preparatların taşınması sırasında kaybolması, hasar görmesi, kargo süresince zaman yitirilmesi riskini ortadan kaldırmaktadır. Yine patoloğun bir merkezde bulunma veya merkezler arasında yolculuk etme zorunluluğu ortadan kalkmakta, zaman kayıpları minimize olarak daha fazla iş üretme olanağı doğmaktadır (27).

Akademik Toplantılarda Kolaylık: Akademik toplantılarda simultane olarak dijital imajlara ulaşmak mümkün olabilmektedir. Bu sayede olgular tartışmaya açılarak yanlış tanılardan kaçınmak mümkün olabilmektedir (38).

İmaj Analizlerinde Kalitatif ve Kantitatif Artış: Dijital görüntülerde yapılan imaj analizlerinin kalite ve güvenilirliği yüksek olup daha hızlı sonuçlandırılmaktadır (39). Bazı üreticiler dijital scannerler, immersiyon objektifi, floresan objektif, multispektral görüntüleme gibi donanımlar eklemiştir (38). İmmunofluoresan mikroskobu ve otomatik imaj analizörleri kombine edilmiş cihazlarla immunflorasan preparatlarının değerlendirilmesi, immunhistokimya skorlamaları çok daha kolay ve objektif olarak yapılabilmektedir (12).

Günlük İşlerin Kolaylaşması ve Kalitesinde Artış: Monitörden izlenen dijital preparat üzerinde işaretlemeler yapmak, alan seçmek, istenilen bölgeden fotoğraf almak, fotoğrafları rapora eklemek gibi olanaklar sağlamaktadır. Dokuların, objelerin ve hücrelerin ölçümünü yapacak mikrometre gibi fonksiyonları da kullanma olanağı bulunmaktadır. Maus veya slide driver ile görüntüleri küçültülüp alan seçmek, 20 x objektifle taran görüntüyü 30x-40x boyutlarına, 40x objektifle tarananları ise 60x-70x

boyutlarında büyütme olanaklıdır. Bu büyütme sırasında görüntünün netliği azalabilirken, ışık mikroskopunda göremediğimiz nükleol ve nükleer membran düzensizliği gibi bazı özellikler de görülür hale gelmektedir (38).

Tıp ve Diş Hekimliği Öğrencileri İçin; Dijital mikroskoplar tıp ve diş hekimliği öğrencileri için de büyük avantajlar sağlamaktadır. Öğrencilerin kendi başına öğrenimine büyük imkan ve zaman sağlamayan dijital tarama sistemleri, derslerin saat ve yer ile sınırlanmasını ortadan kaldırmıştır (40). Görüntüler tüm öğrenciler için standardize edilmektedir. Bu sayede öğrenciler, son derece net ileri magnifikasyonlara ulaşabilmektedir. Görüntü üzerinden tartışma ve görüş alışverişi yapabilmekte ve direkt görüntü üzerinden soru sorabilmektedirler. Öğrenciler normal ve anormal doku görüntülerini aynı anda hatta aynı ekranda görüp kıyaslayabilirler. Aynı görüntünün farklı boyamalar ile görüntülenmesi ve bunların ardışık izlenmesi mümkündür (özellikle immünohistokimyasal açıdan) (40).

Daha Kolay Sınav ve Kurs Düzenlenebilmesi: Çeşitli ülkelerde patoloğlar, sitopatoloğlar ve sitoteknikerlere yönelik yapılan yeterli sınavları, patoloji ve sitopatoloji kursları için çok sayıda preparat seti hazırlanmakta, bu setler hasar görebilmekte, bozulabilmekte veya kaybolabilmektedir. Her sınav ve kurs öncesi bu setlerin düzenlenmesi belirli bir zaman almaktadır. Dijital preparatlara online erişim ile yapılan kurs ve sınavlarda bu riskler ve zaman kaybı önlenilmekte, maliyet de azalmaktadır (12).

Arşivleme, Arşive Ulaşım ve Güvenlik: Dijital patolojinin sağladığı bir başka avantaj ise; güvenli, kalıcı ve kolay/hızlı ulaşılabilir dijital arşiv oluşturulmasına olanak sağlamasıdır (38). Bu arşivin çok sayıda kopyaları oluşturularak farklı lokasyonlarda saklanması da mümkün hale gelmektedir.

2.7. Dijital Patolojinin ve Sitopatolojinin Dezavantajları

Dijital tarama sistemlerinin avantajlarının yanında bazı negatif yanları da bulunmaktadır. Bunlar başlıklar altında incelenmek istenirse şu şekildedir (27);

Sitopatolojide Kullanım Kısıtlılığı: Dijital patoloji cihazlarının sitopatolojide kullanımını kısıtlayan, mikrofokuslama olmaması, uzun tarama süresi, preparatın

değerlendirme süresinin ışık mikroskobuna göre 2-3 kat fazla olması, görüntü depolama ve transfer zorlukları gibi problemlerdir (27).

Görüntü Kalitesinde Azalma: Işık mikroskopları ile aynı kalitedeki objektifleri kullanan scannerlerin elde ettiği görüntünün dijitalize edilmesi ve transferi ile kalitesinde az miktarda azalma olmaktadır. Bu sorun, yazılım teknolojisindeki gelişmelerle çözülebilecek bir sorundur (27).

İmaj Depolanması: Bir dijital preparat dokunun veya yaymanın özelliğine göre 5MB - 15GB arasında değişen büyüklüklerde yer kaplayabilmektedir. Dijital patoloji cihazlarının görüntülerin kalitesini bozmadan sıkıştırarak yazılımlarla donatılma çalışmaları sürmektedir (39). Tüm materyalin dijital arşivini yapmak teknik ve fizik olarak olanaksız gibi durmaktadır. Arşiv için gerekli yüksek hacimli depolama aygıtlarının maliyeti dijital patolojinin majör problemlerinden birisidir. Dijital patoloji cihazlarının kalitesini etkilemeden veri ve görüntüleri sıkıştırarak yazılımlarla donatılması gerekmektedir.

Tarama Süresi: 1,5x1,5 cm boyutlu bir doku kesiti preparati 20x lik objektif ile 1 dakika civarında, 40x objektif ile 3-3,5 dakikada taranabilmektedir (38). Büyütme oranı arttıkça süre uzamaktadır. Bilgisayar işleme hızının hızı arttıkça tarama süresi kısalmaktadır.

Optimum Preparat Kalitesi Gerekmesi: Kesit kalınlığı, kesit katlanması, kapama sırasında oluşan hava kabarcıkları, kapama maddesi miktarı gibi faktörler mikrofokuslamayı ve dijital görüntü oluşmasını olumsuz etkilemektedir (41). Bu nedenle yüksek kaliteli dijital görüntü elde edilmesi optimum kalitede preparatlar gerektirmektedir. Taranacak preparatlar lekesiz ve tozsuz olmalıdır. Bu nedenle tarama öncesi preparatların çok iyi temizlenmesi gerekmektedir (41).

Dijital Görüntülerin Ortak Standart Dosyalama Sistemlerinin Olmaması: Bazı üreticiler görüntüleri JPEG2000 formatında dosyalarken bazıları da DICOM formatını kullanmaktadır. Bu sorun farklı dijital patoloji sistemleri ile elde edilen görüntülerin transferinde ve paylaşılmasında sorunlar yaşanmasına neden olmaktadır.

Donanım Farklılıkları: Dijital scanner üreticilerinin ürünleri ortak bir standarda sahip değildir. Bu durum kullanımda sınırlılık yaratmaktadır. Dijital scannerler arasında;

fokuslama, çözünürlük, büyütme oranı, tarama süresi, tek seferde taranacak preparat sayısı gibi özellikler konusunda önemli farklılıklar bulunmaktadır (27).

Yüksek Maliyet: Dijital patoloji sistemleri kurumlar için oldukça maliyetlidir. Ortalama bir dijital patoloji sisteminin maliyeti 100 bin-150 bin doların üzerindedir. Ayrıca cihazların yıllık bakım ve servis hizmetleri, teknisyen eğitimi, imaj analiz yazımları ve imaj analistleri de ek maliyet getirmektedir. Verilerin depolanması için gerekli ekipman da önemli bir maliyettir (27). Ancak özellikle sistemin ilk kurulumundaki yatırım kısa süreli bir maliyet yarattığı için uzun vadede kar/zarar hesabı ayrıca yapılabilir.

FDA Onayı Olmaması: Food and Drug Administration (FDA) onayı alması, dijital patoloji kullanımını yaygınlaştıracaktır. FDA şimdilik WSİ (Whole Slayt İmaging) sistemlerini Class III (yüksek risk) medikal cihazlar kategorisinde değerlendirmektedir. Bu nedenle dijital patoloji sistemlerinin validasyonu için guideline çalışmaları yapılmaktadır (32).

Etik ve Güvenlik Sorunları: Konsültasyon veya eğitim için internet ortamında paylaşılan dijital görüntülerin ve dijital arşivlerin kötü niyetli kişiler tarafından ele geçirilmesini engellemek ve hastaların gizliliğini korumak çok önemli bir konudur (27).

Çözüm bekleyen problemler olmasına karşın; iş yükünü azaltmasındaki tartışmasız yararları, konsültasyon, eğitim, imaj analizi, patoloğların mikroskop ve mekandan bağımsızlaşması gibi birçok nedenden dolayı dijital patoloji ve sitopatoloji giderek daha çok merkezde rutinin bir parçası haline gelmektedir (27).

Işık mikroskopunun yerini tümü ile dijital patolojinin alabilmesi için maliyetlerin düşmesi, var olan donanım ve yazılımların daha da geliştirilmesi gerekmektedir.

2.8. Dijital Patoloji ve Sitopatolojinin Geleceğine Yönelik Projeksiyonlar

İnce ve Şahin (2016) dijital patoloji ve sitopatolojinin gelecekteki yeri için şunları söylemişlerdir (27);

- Gelecekte dijital patoloji cihazlarının fiyatları düşecek, yazılımları basitleşecek ve kullanımı yaygınlaşacaktır.

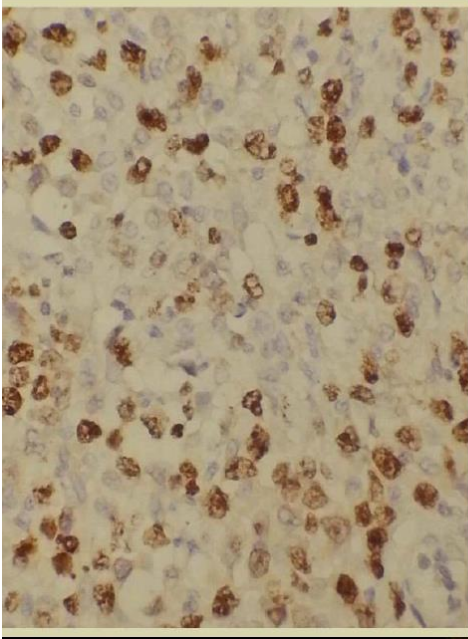
- Dijital patoloji cihazlarının sitopatoloji alanındaki kullanımını sınırlayan mikrofoküsleme zorlukları, uzun tarama süresi, görüntü depolama ve transferi gibi problemler zamanla teknolojik gelişmelerle birlikte ortadan kalacaktır.
- Dijital görüntüleri oluştururken kan ve mukus gibi zemin kaplayıcıları göstermeyen, 3 boyutlu hücre gurupları ile karşılaştığında Z-Stack fonksiyonuna otomatik seçen sitoscanerler üretilecektir.
- Dijital sitopatolojiye paralel olarak yeni sitopreperasyon teknikleri geliştirilecektir.
- Dijital tarama sistemlerinin kullanıldığı merkezi büyük patoloji laboratuvarları açılacak, lokal ve küçük patoloji laboratuvarları kapanacak, birçok hastanede patolog bulunmayacaktır.
- Ulusal ve uluslararası boyutlarda çalışmalar yürüten patoloji laboratuvarları kurulacaktır. Örneğin Hollanda'daki bir patoloji merkezi ile Türkiye'deki bir patoloji merkezi birlikte konsültasyon yapma imkanı bulabileceklerdir.
- Dijital patoloji cihazları daha hızlı ve güvenilir imaj analizleri yapabilecek, atipik ve malign hücreleri belirleyip işaretleyebilecek, belki de dijital görüntünün yorumunu otomatik olarak yaparak tanı koyacaktır.
- Dijital tarama sistemleri sayesinde patologların, sitopatologların ve sitoteknikerlerin iş yükünde önemli bir azalma olacaktır.
- Dijital patoloji cihazlarının yaygınlaşmasıyla, ışık mikroskobu olmayan patoloji laboratuvarları ya da mikroskoba hiç eli değmemiş yeni jenerasyon patologlar görmek olası olacaktır.
- Tıp fakültelerinde bulunan mikroskopi salonları gereksiz görülerek kaldırılacaktır.
- Işık mikroskobunun yerini almaya başlayan tablet bilgisayarlar ve akıllı mobil telefonlar aracılığıyla patologlar daha da özgür hale gelecek, mikroskop başında olmadan ve hastaneden uzak bir yerde imajları yorumlayıp tanılarını yazabilecekler.
 - Tüm bu gelişmeler sonucunda, hem laboratuvar hem de patolog sayısı azalacak, az sayıda patologla daha hızlı ve çok iş üretilmesi sağlanacaktır.

2.9. Akıllı Cep Telefonları İle Hücre Sayımı

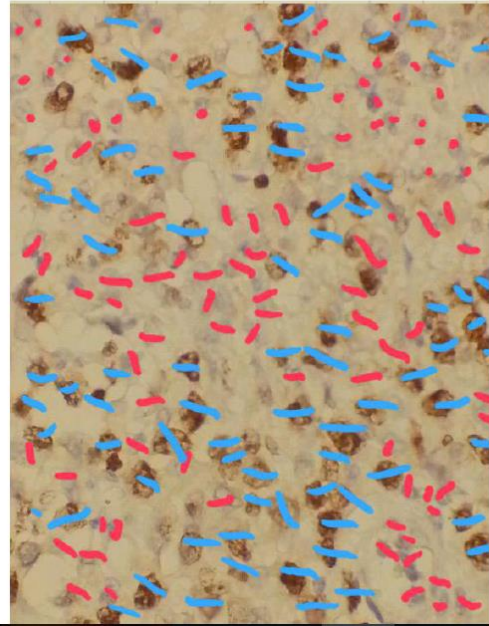
Işık mikroskobu ve dijital mikroskop ile yapılan hücre sayımlarının farklılığı ile ilgili literatürde çalışmaya rastlamak pek mümkün olmamaktadır. Dijital mikroskobun patoloji laboratuvarına girişinin yeni olması ve yaygınlığının henüz yeterli sebepte olmaması bu alandaki çalışmaları kısıtlamaktadır.

Umudun (2013) manuel sayım (ışık mikroskobu ile) ile dijital sayım arasında fark olup olmadığını araştırmıştır. Araştırmasını akıllı cep telefonları üzerinden yapan Umudun, “cep telefonu ile sayım pratik bir yöntem midir?” sorusuna cevap aramıştır. Araştırma için arşivde bulunan Ki-67 boyalı lamları kullanan Umudun ayrıca, normal mikroskop, android işlemleri 2 telefon, hesap makinesi ve zamanı ölçmek içinse kronometre kullanmıştır (50).

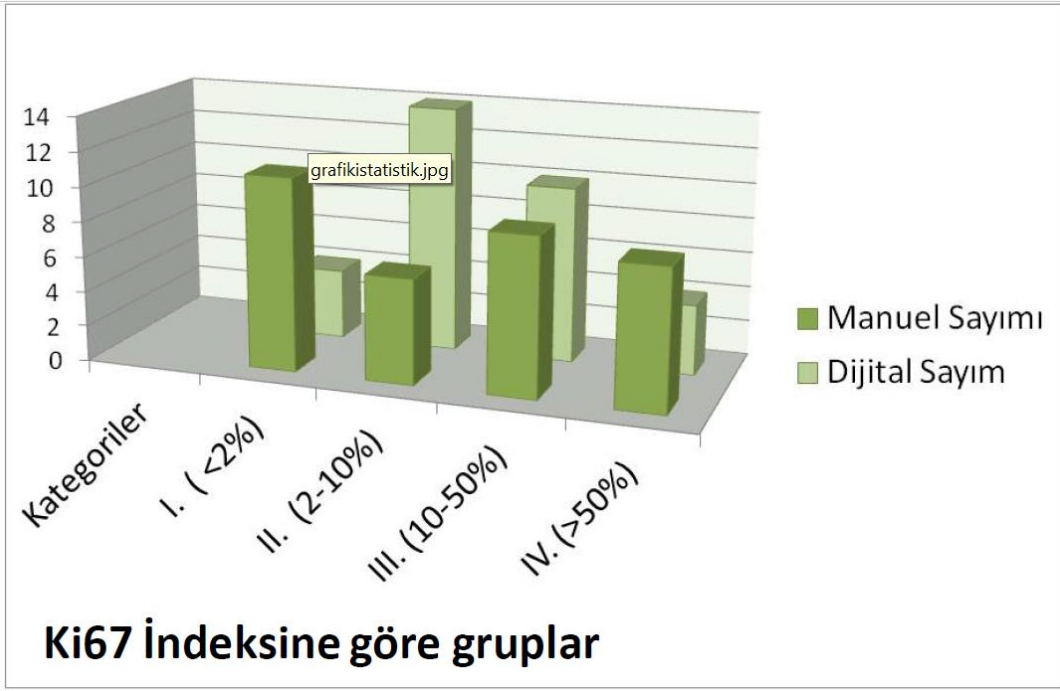
Rapor Edilen Ki 67= %80
Civarı



Dijital Ölçüm Ki 67= %45
Toplam 192 Hücre



Şekil 14: Rapor edilen Ki-67 sayımları ile cep telefonu uygulamasının saydığı hücreler (42)



Şekil 15: Rapor edilen Ki-67 sayımları ile cep telefonu uygulamasının saydığı hücrelerin Ki-67 indeksine göre gruplanması (42).

- Ki67 indeksi çok düşük (<2%) ve çok yüksek (>50%) gruplarında, manuel sayım ile dijital sayım belirgin olarak farklı ($p=0.03$ ve $p=0.003$).
- Orta gruplarda belirgin fark yok.

Umudun çıkan sonuçları şu şekilde yorumlamıştır.

- Bu farkın nedeni patoloğların istemsiz yanlılığı olabilir (bias).
- Atipik demeyeceğiniz bir olguda Ki67 sayımını yüksek beklemezsiniz.
- Benzer şekilde Yüksek dereceli bir lenfomada da Ki67 indeksini düşük beklemezsiniz.

2.10. Türkiye’de Dijital Patoloji Kullanımı

Yeni gelişmekte olan dijital patoloji sistemleri dünya da olduğu gibi Türkiye’de de az sayıda kurum ve kişi tarafından kullanılmaktadır.

İnce (2014) Türkiye’de çok kurumlu bir sağlık grubunda dijital patoloji sistemi kurarak, ışık mikroskobu ve dijital mikroskop ile verilen patoloji tanımlarını karşılatırmıştır. Çalışmasını iki uzman patologun vakalarını önce dijital patoloji sistemi ile tanı koymalarını daha sonra ışık mikroskobunda bakarak tanımları karşılaştırılmıştır. Dijital görüntü ile ışık mikroskobu arasında fark olup olmadığı, patologun performansını etkileyip etkilemediği araştırılmıştır.

Birinci Patolog değişik dokulardan toplan 475 vaka incelemiş ve 450 vaka için aynı tanıyı vermiştir. 25 vaka için değişiklik yapmıştır. %5.2 uyumsuzluk tespit edilmiştir.

İkinci Patolog çoğunlukla beyin vakaları içeren 140 çeşitli doku incelemiştir. 137 vaka için tanımları uyumlu iken 3 tanesinde ışık mikroskobu incelemesi sonrası tanı değişikliği olmuştur. %2.1 uyumsuzluk tespit edilmiştir. (43)

İnce çıkan sonuçları şu şekilde yorumlamıştır.

- Preparasyon basamağı çok önemlidir. Optimal preparasyon ve uygun tarama seçenekleri ile dijital sisteme aktarım yapılmalıdır.
- Dijital tarama yetkin kişiler tarafından yapılmalıdır, aksi takdirde görüntü kalitesi olması gerekenden kötü olabilmektedir, bu yanıltıcıdır.
- Dijital sistem mutlaka yetkin kişiler ve patologlar tarafından kontrol edilmelidir. Sistem kendi kendine çalışmamaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMANIN AMACI

Dijital tarama sistemleri son yıllarda patoloji laboratuvarlarında diğer mikroskopların (özellikle patoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan ışık mikroskopların) yerini almış durumdadır. Yüksek maliyet ve yazılımsal eksiklikler gibi bazı sorunları olsa da dijital tarama sistemleri özellikle tanı ve raporlamada patoloji laboratuvarlarında önemli bir işleve sahiptir. Bu çalışmanın amacı patoloji laboratuvarlarında kullanılan dijital tarama sistemlerinin hekim kullanımına ve hasta rapor kalitesine etkisini incelemektir. Araştırma, dijital tarama sistemlerinin, patoloji laboratuvarlarında tanıya olan etkisini incelemeyi amaçlamaktadır.

3.2. ÇALIŞMANIN EVRENİ

Bu çalışmanın evrenini, kesitsel bir dönem olarak 2014-2016 yılları arasında İstanbul'da bulunan bir zincir hastanenin patoloji laboratuvarları'na gelen 536 örnek oluşturmaktadır. Örneklem oluşturulmamış, evrenin tamamına ulaşılmıştır. Bu örneklerin 50'si 2015 – 2016 yılları arasında Ki-67 çalışılmış hastalardan alınan örneklerdir. 348'i 2014 – 2016 yıllarında hastalardan operasyon sırasında Frozen yöntemiyle alınan örneklerdir. 138'i ise, 2014 – 2016 yıllarında (Hastane A: 61; Hastane B: 21; Hastane C: 6; Hastane D: 50) Tiroid İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi yöntemi ile hastalardan alınan örneklerdir.

3.3. ÇALIŞMANIN SINIRLILIKLARI

Bu çalışma İstanbul'da bulunan bir zincir hastanenin patoloji laboratuvarları'na gelen örneklerle sınırlıdır. Farklı hastane ve sağlık gruplarındaki örnekler bu araştırmanın kapsamı dışındadır. Ayrıca araştırmada kullanılan örnek sayısı 536 ile sınırlıdır İstanbul'da bulunan bir zincir hastanenin patoloji laboratuvarları'na gelen diğer örnekler bu çalışmanın kapsamı dışındadır.

3.4. ÇALIŞMANIN HİPOTEZLERİ

Çalışmanın hipotezleri şu şekilde belirlenmiştir.

Hipotez 1:

H₀: Dijital Tarama Sistemi Ki 67 tanı kalitesini süre yönüyle olumlu yönde etkilememektedir.

H₁: Dijital Tarama Sistemi Ki 67 tanı kalitesini süre yönüyle olumlu yönde etkilemektedir.

Hipotez 2:

H₀: Dijital Tarama Sistemi Frozen tanı kalitesini olumlu yönde etkilememektedir.

H₁: Dijital Tarama Sistemi Frozen tanı kalitesini olumlu yönde etkilemektedir.

Hipotez 3:

H₀: Dijital Tarama Sistemi Tiroid İİAS tanı kalitesini olumlu yönde etkilememektedir.

H₁: Dijital Tarama Sistemi Tiroid İİAS tanı kalitesini olumlu yönde etkilemektedir.

3.5. ÇALIŞMANIN YÖNTEMİ

Çalışma için dijital patolojide kullanılan 3 yöntem incelenmiştir. Bunlar Ki-67 (immünohistokimyasal sayma yöntemi), Frozen (intraoperatif konsültasyon yöntemi) ve İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi'dir. Ki67 yöntemi için 2015-2017 yılları arasında İstanbul'da bulunan bir zincir hastanenin patoloji laboratuvarları'na gelen 50 meme tümörü örneği incelenmiştir. Bu örnekler, ışık mikroskobu altında incelenerek hesaplanan Ki67 değerleri hesaplama süresi ve aynı örnekler dijital sistemde tekrar taranarak dijital yazılımlar ile hesaplanma süresi ile elde edilen sonuçlar ve hesaplanma süreleri karşılaştırılmıştır. Ki67 için 50 örneklem kullanılmıştır.

Meme tümörü hücrelerinin Ki67 belirteci ile boyandıktan sonra hesaplanması ile elde edilen değerlerin anlamlı sınır değeri %20'dir. Patoloji raporundaki değer ve dijital patoloji ile hesaplanan değerler 'uyumlu', 'uyumsuz' olarak değerlendirilmiştir.

Çalışma için ikinci olarak Frozen yöntemi sırasında dijital mikroskopla incelenen örnekler daha sonra ışık mikroskobu altında tekrar incelenerek sonuçlar karşılaştırılmıştır. Frozen yöntemi için 348 örneklem kullanılmıştır. Frozen tanısı ile örneklerin tümü

incelendikten sonraki parafin sonuçların karşılaştırması ile raporlanan sonuçlardan alınmıştır.

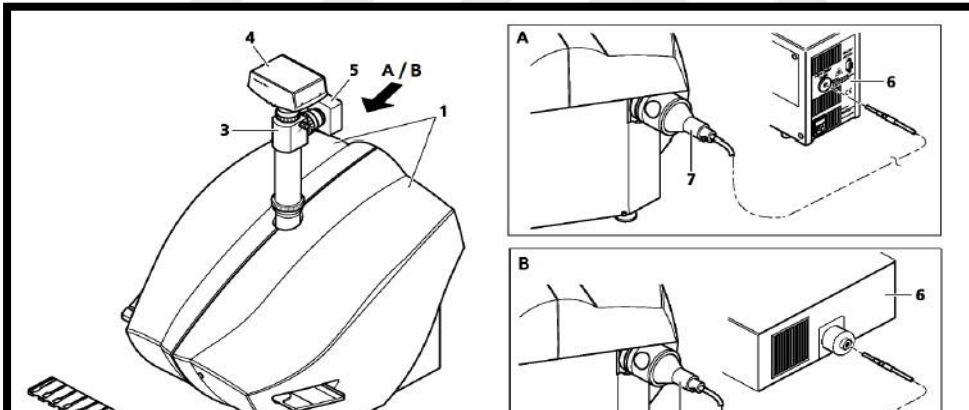
Çalışma için ayrıca (Hastane A: 61; Hastane B: 21; Hastane C: 6; Hastane D: 50) Tiroid'den İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi yöntemi ile digital patoloji kullanılarak yapılan hasta başı değerlendirmelerini kapsayan toplam 138 örnek incelenmiştir.

Bu tez kapsamında 3D HisTech firmasının dijital görüntüleme alanında ürettiği cihazlar ve yazılım programları ele alınmıştır.

3.5.1. Pannoramic Scanner

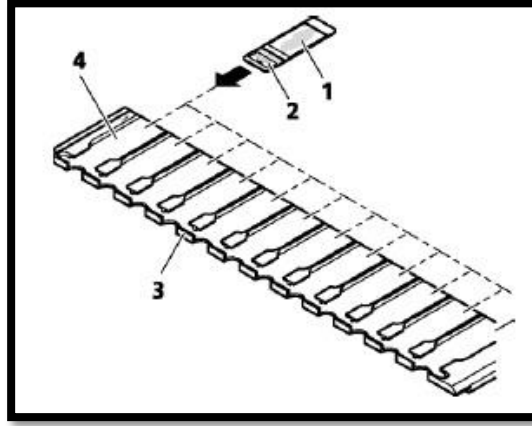
Pannoramic Scanner, iletilmiş ışığı ve yansıyan ışık floresanını kullanarak biyolojik örnekleri dijitalize hale getirmesi için tasarlanmıştır.

Pannoramic scanner birkaç temel parçadan oluşur. Şekil 16'da bu temel parçalar görülmektedir; bunlar bir bilgisayar sistemine bağlanarak pannoramic scanner kullanılabilir hale gelir.



Şekil 16: Pannoramic scanner'in temel parçaları

Pannoramic scanner'da slaytı slayt tablasına yerleştirmek için slayt istenen sıraya barkodlu tarafı öncelikli olacak şekilde itilir (Şekil 17). Tek seferde en fazla 12 slayt yerleştirilebilir.



Şekil 17: Slayt tablasına slaytin yerleştirilmesi

1) Slayt 2) Barkod 3) Slayt tablası 4) Sıra

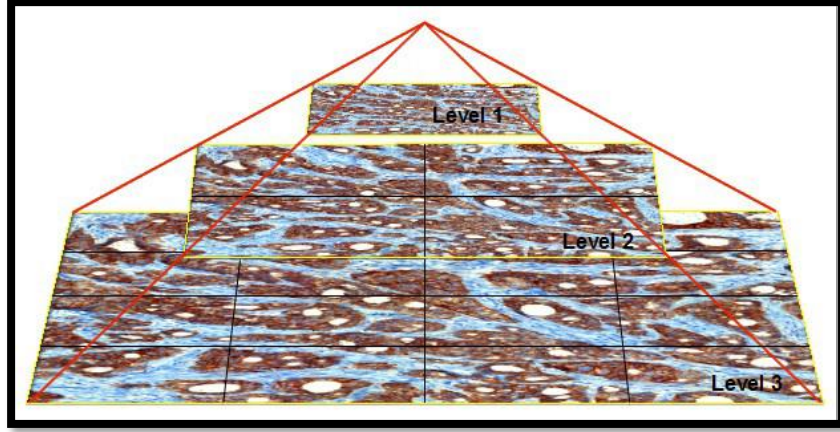
Pannoromic scanner kullanılırken, kullanıcı otomatik ayarların dışında manuel olarak da yaptığı çalışmaya, uyguladığı protokole göre ayarlamalar yapabilir. Örneğin objektifin tipi, büyütme oranı, kamera tipi, filtreler isteğe göre ayarlanabilirler

3.5.2. Pannoramic Viewer

Pannoramic viewer, pannoramic mikroskop scanner ile birlikte dijitalize edilmiş slaytların denetlenmesini ve üzerine notlar alınmasını sağlar. Pannoramic scanner mikroskop, scannera bağlı olan yerel bir bilgisayarda saklanmak üzere dijitalize edilmiş slaytları oluşturur. Böylece slaytlar scanner software veritabanına yüklenebilir ve slaytların incelenmesi, paylaşılması ve konsültasyon sırasında patologların tartışabilmesi için ulaşılabilirliği sağlanmış olur.

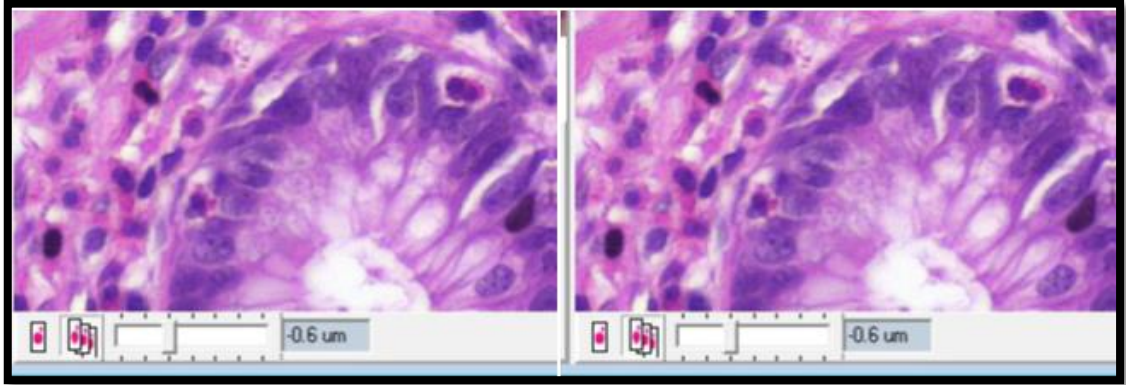
Pannoramic viewer'ın uygulamalarından olan HistoQuant, MembraneQuant, NuclearQuant, FISHQuant, ve DensitoQuant gibi Quant uygulamalarıyla slaytlar üzerindeki çeşitli parametrelerde algoritmalar tanımlanır ve ölçümleri gerçekleştirilir. Ölçümler istenirse tek bir slaytla yapılabilirken istenildiği takdirde seri halindeki slaytlarla da gerçekleştirilebilir.

Pannoramic viewer'da slayt görüntüleri görüntü piramidi halindedir (Şekil 18). Görüntü piramidi n sayıdaki seviyede aynı görüntünün farklı çözünürlüklerinin hiyerarşik bir yapıda sıralanmasından oluşur. Bu durum dijital slayt görüntülerinin belli noktalarının görüntülenebilmesine fırsat verir.



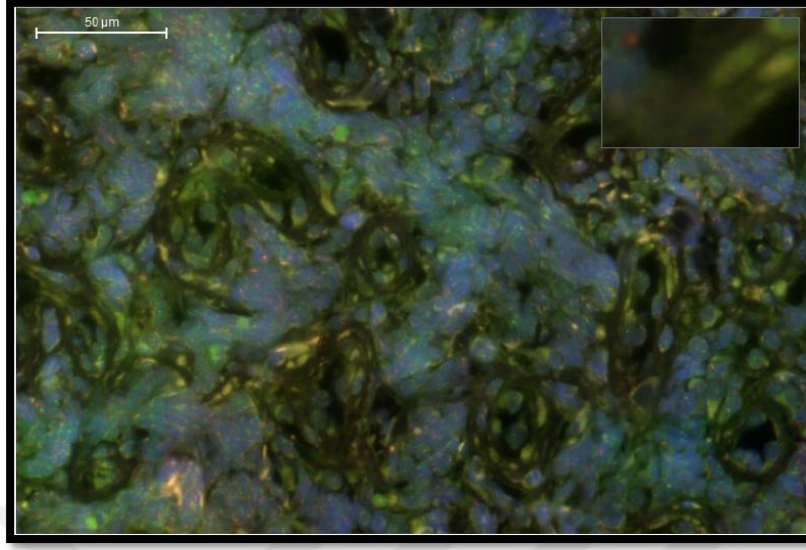
Şekil 18. Piramit görüntüsü örneği

Tüm slayt üzerinde örneğin farklı fokal düzlemler halinde çok tabakalı taranması panoramic scannerlar sayesinde mümkündür. 3 boyutlu sonuç slaydı Z-stack slayt olarak adlandırılır. Panoramic viewer, örneğin fokal düzlemde Z- eksenini boyunca aşağı ve yukarı yapılarak görüntülenebilmesine olanak sağlar. Bu durum özellikle kalın örneklerin görüntülenebilmesinde oldukça kullanışlıdır. Şekil 19'da 0 düzleminde bir basamak yukarısı ve bir basamak aşağısı gösterilmektedir.



Şekil 19: Z-stack örneği

Ayrıca panoramic viewer, dijitalize slaytların floresan olarak görüntülenmesine olanak sağlar. Bu uygulama en fazla 9 kanalda floresan çalıştırılmasını destekler. Şekil 20'de 3 kanalda dijitalize slayt gösterilmektedir. Bunlarla birlikte panoramic viewer, parlaklık, kontrast, gamma değeri, renk eşleşmesi gibi görüntü özelliklerinin her bir dijital slayt için değiştirilmesine olanak sağlar.



Şekil 20. Floresan modda DAPI, Alexa 488 ve Cy3 boyalarının seçildiği dijitalize görüntü

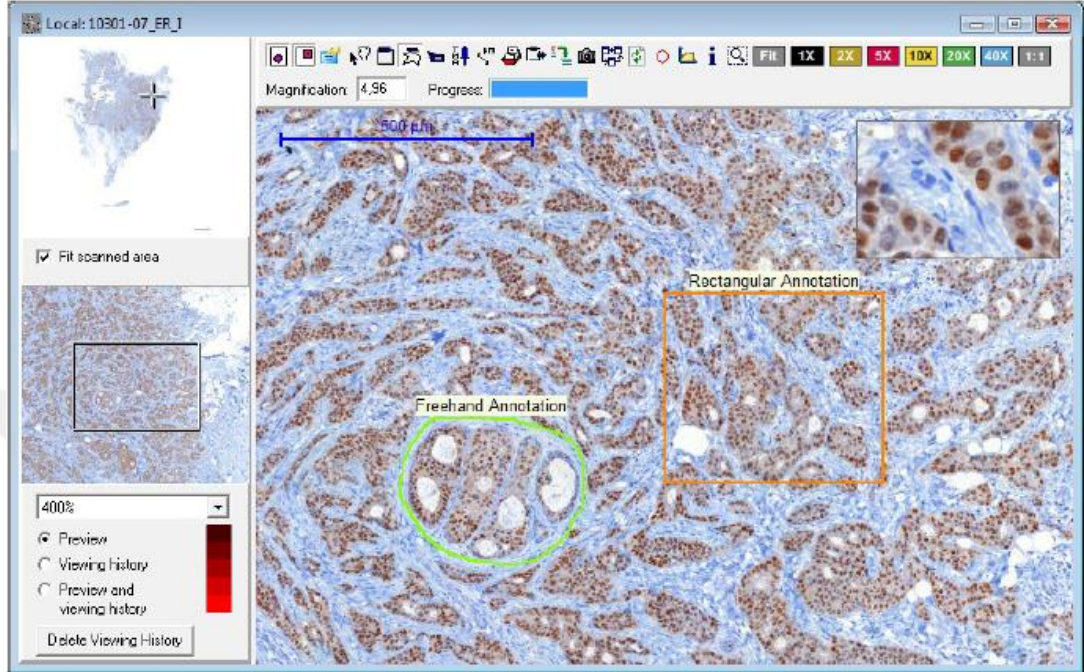
3.5.3. Nuclearquant

NuclearQuant; panoramic viewer'ın bir modülüdür. NuclearQuant; panoramic scanner mikroskop ile dijitalize edilen slaytlarda, immünohistokimyasal boyalar ile işaretlenmiş hücre nükleuslarının saptanmasını ve ayrılmasını sağlar. Bunu; immünohistokimyasal boyamalarla (ER, PR, Ki67, P53, vb.) otomatik bir değerlendirme yaparak gerçekleştirir. Görüntü eşik değeri kullanarak hücre nükleuslarını saptar ve kromojen kanallarındaki boyama yoğunluklarına göre ölçümünü gerçekleştirir. Böylece patoloji laboratuvarlarında kullanılan güncel boyama protokolleriyle kalibresi sağlanabilir.

Ayrıca nuclearquant ile bir algoritma oluşturulup, bu algoritmayı tek bir slayt için ya da bir grup slayt için çalıştırmak mümkündür. Algoritma sayesinde saptanan nükleuslar negatif, zayıf pozitif, orta pozitif ve güçlü pozitif olmak üzere 4 kategoriye ayrılabilirler. Bununla birlikte ölçüm sonuçları görüntülenebilir ve kaydedilebilir. Kaydedilen bu ölçüm sonuçlarıyla bir rapor hazırlamak mümkündür.

NuclearQuant programında istenen bölgeye açıklama eklenebilir. Açıklamalar dikdörtgen şeklinde ya da rastgele oluşturulan bir çember şeklinde oluşturulabilir (Şekil 20). Ayrıca açıklamaya başlık eklenebilmesi, yorum girilebilmesi ve başlığın ve oluşturulan açıklamanın renginin belirlenebilmesi mümkündür. Bununla birlikte önceden

belirlenen renklerden seçim yapılabilirdi gibi kullanıcı tarafından da yeni renkler oluşturulabilir. Fakat sadece başlıklar çıktı dosyasına aktarılabilir, girilen yorumlar sadece pannoramic viewer'da görülebilir.



Şekil 21. Dikdörtgen şekilli ve rastgele çember şekilli açıklamalar

NuclearQuant analizinde parametreler saptanmadan önce görüntü eşik değeri profili oluşturulmalıdır. Görüntü eşik değeri parametreleri, otomatik slayt boyamasına ya da laboratuvar protokolüne göre ayarlanabilmektedir. Manuel ayarlamalar yapılırken, kromojendeki en yoğun bölgenin önizleme ekranından rastgele yoğunluk örnekleri alınmalıdır. Kromojen önzilemesinden istenen sonuç elde edilebilir ve parametreler doğru olarak ayarlanabilirse karşıt boyanın renk ayarlamaları değiştirebilmiş olur. Karşıt boyama örnekleme esnasında kromojen işaretleme yapıldığında çok güçlü bir arka plan rengi oluşabilir. Bu durumda örneklerin görüntünün arka plan bölgesinden alınması gerekmektedir. Bununla birlikte yazılım; yapılan ayarlamalar sonucunda otomatik olarak görüntülenen kromojeni ve karşıt boyamanın önizleme görüntüsünü yenileyebilir. Ayrıca örnekleme her iki önizleme görüntüsünden de etkilenebilir.

Tanımlama parametrelerini ayarlamak için algoritma parametrelerini tanımlamak gerekmektedir. Algoritma sonuçları NuclearQuant analizinde görüntülenebilmektedir. Tanımlama sonuçlarına göre tanımlanamayan hücre membranları ve nukleusları kapanır

ya da gri bir çizgiyle çevrelenir. NuclearQuant'taki tüm bu analiz süreci tam otomatik işlemektedir.

NuclearQuant; otomatik olarak ölçüm sonuçlarını slayda kaydeder. Slayda tanımlama sonuçlarının çıktısı, tanımlama sonuçlarının morfolojik ya da renkölçümsel verileri ve bilgeye spesifik parametreler kaydedilir.

4. BULGULAR

4.1. Ki67 (İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi)

Bu bölümde 2015-2017 yılları arasında İstanbul'da bulunan bir zincir hastanenin patoloji laboratuvarları'na tanı amaçlı gelen 50 hastadan alınan meme tümör örneklerinin Ki67 yöntemi ile incelenen örnekler karşılaştırılmıştır. Işık mikroskobu ile manuel hesaplanan örnekler, dijital sistem yazılımları ile tekrar hesaplanarak, hesaplanan hücre sayıları, hesaplama süreleri ve ki67 indeks sonuçları karşılaştırılmıştır. Patolog her bir vaka için ışık mikroskobu ile yaptığı hesaplanması sırasında kronometre ile hesaplama süresi tutulmuştur. Dijital patoloji sisteminde ise hesaplamalar patolog tarafından tümör alanının belirlenmesi sonrasında, dijital yazılımı kullanmaya yetkin kişiler tarafından yapılmıştır. Hesaplama süresi yine yazılımın çalışması süresince kronometre ile belirlenmiştir. Her iki sonuç tablo 1'de incelenmiştir.

Tablo 1: Meme Tümörlerinde Ki67 Hesaplanmasının Işık Mikroskobu İle Klasik Hesaplanması ve Dijital Sistem Yazılımı ile Hesaplanması Sonucu Karşılaştırması

SIRA NO	KLASİK YONTEM İLE SAYILAN TOPLAM HÜCRE SAYISI	DIGITAL İLE TOPLAM HC SAYISI	KLASİK TOPLAM SÜRE	DIGITAL TOPLAM SÜRE	KLASİK Ki67 İndeks	DIGITAL Ki67 İndeks
HASTA 1	3060	5179	0:16:07	0:01:10	17.2	15.2
HASTA 2	2030	3799	0:19:27	0:00:33	26.1	20.58
HASTA 3	1367	4199	0:13:27	0:01:15	32.7	30.1

HASTA 4	1092	5042	0:03:58	0:02:43	20.1	16.6
HASTA 5	1476	5260	0:11:01	0:01:00	14.0	15.3
HASTA 6	987	5055	0:05:54	0:00:34	24.3	21.4
HASTA 7	1685	4352	0:10:24	0:01:46	51.6	52.32
HASTA 8	2592	5055	0:08:16	0:01:11	12.4	13.57
HASTA 9	1572	3078	0:02:31	0:00:42	6.9	7.76
HASTA 10	1448	3804	0:06:54	0:01:04	17.1	16.01
HASTA 11	1768	4206	0:07:53	0:00:54	26.9	28.06
HASTA 12	1210	5130	0:05:22	0:00:53	8.3	10.96
HASTA 13	716	2451	0:04:22	0:01:28	24.6	16.56
HASTA 14	1082	4141	0:05:21	0:01:02	33.9	31.85
HASTA 15	1224	4182	0:05:32	0:01:14	33.5	30.85
HASTA 16	2257	4144	0:06:09	0:00:54	10.9	10.57
HASTA 17	1063	3264	0:05:19	0:01:14	10.2	6.25
HASTA 18	689	1650	0:04:31	0:00:35	15.5	12.18
HASTA 19	662	4778	0:05:06	0:01:02	22.1	19.13
HASTA 20	1063	4750	0:07:27	0:01:16	42.0	49.85
HASTA 21	858	3084	0:04:15	0:01:58	12.4	12.39
HASTA 22	2865	5854	0:14:06	0:01:14	7.0	9.4

HASTA 23	1053	5612	0:06:44	0:01:08	17.1	18.3
HASTA 24	1251	5106	0:08:11	0:01:12	68.0	63.4
HASTA 25	872	5560	0:03:02	0:02:19	8.3	4.7
HASTA 26	479	3675	0:02:23	0:00:35	2.3	1.2
HASTA 27	1713	4115	0:03:01	0:00:54	10.5	7.0
HASTA 28	1558	5138	0:08:02	0:00:49	21.3	25.8
HASTA 29	2130	4393	0:05:17	0:00:55	15.0	13.1
HASTA 30	958	3289	0:03:25	0:02:23	24.8	26.9
HASTA 31	319	2410	0:01:55	0:00:48	20.4	19.8
HASTA 32	715	4516	0:04:31	0:01:00	39.7	43.2
HASTA 33	1232	4199	0:04:39	0:01:15	33.4	30.1
HASTA 34	650	4597	0:04:15	0:01:14	56.6	59.2
HASTA 35	1021	4439	0:07:05	0:00:46	14.3	13.5
HASTA 36	1918	6467	0:05:09	0:01:09	20.5	23.3
HASTA 37	1101	4694	0:09:53	0:01:19	57.3	45.5
HASTA 38	906	3930	0:03:57	0:01:00	22.0	23.2
HASTA 39	802	3646	0:03:13	0:01:13	4.0	2.36
HASTA 40	717	2994	0:02:07	0:00:31	2.4	0.97
HASTA 41	549	2770	0:01:32	0:00:34	6.2	6.2

HASTA 42	750	3341	0:02:48	0:00:25	65.3	61.9
HASTA 43	1138	5141	0:03:23	0:00:46	79.8	76.8
HASTA 44	893	3560	0:02:41	0:00:58	21.8	21.6
HASTA 45	1208	4685	0:02:04	0:00:27	18.0	15.47
HASTA 46	686	3767	0:02:44	0:00:32	18.4	16.62
HASTA 47	787	3238	0:05:54	0:01:55	17.8	15.2
HASTA 48	409	2461	0:02:23	0:00:45	5.1	4.3
HASTA 49	1505	4172	0:07:53	0:00:56	31.6	29.6
HASTA 50	2095	4838	0:08:17	0:01:00	13.6	13.7

- Hastaların kimlikleri gizli tutulmak istendiği için hastaların raporlardaki kimlik bilgileri ve rapor numaraları bu çalışmada yer almamıştır. Bunun yerine hastalara numara verilmiştir.

Çalışmanın yapıldığı patoloji laboratuvarında, patolog hesaplamayı Ki67 boyanmasının en fazla olduğu tümör alanında 20x objektif alanına denk gelen hücreleri tek tek sayarak yapmıştır. Sayma işlemi yapılırken kronometre ile süre tutulmuş ve sayılan hücre sayıları not edilmiştir. Klasik yöntem ile hesaplanan alan, preparatın üzerinde silinmez kalem ile işaretlenmiştir. İşaretli alan dijital tarama sistemi ile tarandıktan sonra dijital olarak 20x alan işaretlenip, yazılım ile hesaplama yapılmıştır. Tarama süresi ve hesaplama süresi not edilmiştir. Yazılım sonuç ile birlikte sayılan hücre hakkında da bilgi vermektedir.

Buna göre Tablo 1’de herbir hasta için patologun saymış olduğu hücre sayısı ve harcamış olduğu zaman, dijital sistemde hesaplanan gücre ve harcanan süre gösterilmiştir.

Tablo 2: Meme Tümörlerinde Ki67 Hesaplanması sırasında Işık Mikroskobu İle Klasik Hesaplanması ve Dijital Sistem Yazılımı ile Hesaplanması Sonucu harcanan süre

Toplam Hasta Sayısı	Klasik yöntem ile harcanan toplam süre	Dijital yöntem ile harcanan toplam süre	Dijital yöntem ile kazanılan süre	Zamandan kazanç%
50	4:59:50	0:54:30	4:05:30	80%

Tablo 2’de de görüleceği üzere, klasik yöntem ile 50 hasta için yaklaşık 5 saat harcanırken ve dijital sistem ile yapılan hücre sayımı sonucunda 50 hasta için yaklaşık 1 saat yeterli olmuştur.

Sonuç olarak Tablo 2’de görülen değerler bize rutinde kullanılan Ki67 boyama yönteminin hesaplanmasında dijital patoloji sisteminin %80 zamandan kazanç sağladığını göstermektedir.

Tablo 3’de ışık mikroskobu ve dijital sistemle hesaplanan hücre sayıları ve Ki67 indeks sonuçları verilmiştir.

Tablo 3: Meme Tümörlerinde Ki67 Hesaplanması sırasında Işık Mikroskobu İle Klasik Hesaplanması ve Dijital Sistem Yazılımı ile Hesaplanması Sonuçların karşılaştırılması

SIRA NO	Klasik yöntem ile sayılan toplam hücre sayısı	Dijital sistem ile toplam hc sayısı	Klasik ki67 indeks %	Dijital ki67 indeks %
HASTA 1	3060	5179	17.2	15.2
HASTA 2	2030	3799	26.1	20.58
HASTA 3	1307	4199	32.7	30.1
HASTA 4	902	5042	20.1	16.6
HASTA 5	1476	5260	14.0	15.3
HASTA 6	987	5055	24.3	21.4
HASTA 7	1685	4352	51.6	52.32
HASTA 8	2592	5055	12.4	13.57
HASTA 9	1572	3078	6.9	7.76

HASTA 10	1448	3804	17.1	16.01
HASTA 11	1768	4206	26.9	28.06
HASTA 12	1210	5130	8.3	10.96
HASTA 13	716	2451	24.6	16.56
HASTA 14	1082	4141	33.9	31.85
HASTA 15	1224	4182	33.5	30.85
HASTA 16	2257	4144	10.9	10.57
HASTA 17	1063	3264	10.2	6.25
HASTA 18	689	1650	15.5	12.18
HASTA 19	662	4778	22.1	19.13
HASTA 20	1063	4750	42.0	49.85
HASTA 21	858	3084	12.4	12.39
HASTA 22	2865	5854	7.0	9.46
HASTA 23	1053	5612	17.1	18.36
HASTA 24	1251	5106	68.0	63.49
HASTA 25	872	5560	8.3	4.78
HASTA 26	479	3675	2.3	1.2
HASTA 27	1713	4115	10.5	7.07
HASTA 28	1558	5138	21.3	25.8
HASTA 29	2130	4393	15.0	13.11
HASTA 30	958	3289	24.8	26.94
HASTA 31	319	2410	20.4	19.88
HASTA 32	715	4516	39.7	43.24
HASTA 33	1232	4199	33.4	30.1
HASTA 34	650	4597	56.6	59.26
HASTA 35	1021	4439	14.3	13.56
HASTA 36	1918	6467	20.5	23.30
HASTA 37	1101	4694	57.3	45.55
HASTA 38	906	3930	22.0	23.23
HASTA 39	802	3646	4.0	2.36
HASTA 40	717	2994	2.4	0.97
HASTA 41	549	2770	6.2	6.21
HASTA 42	750	3341	65.3	61.98

HASTA 43	1138	5141	79.8	76.87
HASTA 44	893	3560	21.8	21.60
HASTA 45	1208	4685	18.0	15.47
HASTA 46	536	3767	32.8	16.62
HASTA 47	787	3238	17.8	15.2
HASTA 48	409	2461	5.1	4.3
HASTA 49	1505	4172	31.6	29.6
HASTA 50	2095	4838	13.6	13.7

Tablo 3'deki sonuçlara göre patologun en fazla hücre saydığı hasta da (Hasta 1) sayılan hücre sayısı 3060 ve harcanan süre 16 dakika 7 saniye iken , aynı hasta için dijital sistemde 5179 hücre sayılmış ve harcanan süre 1 dakika 10 saniyedir. Dijital sistemin en fazla hücre saydığı hasta da (Hasta 36) sayılan hücre sayısı 6467 ve harcanan süre 1 dakika 9 saniye iken patolog bu hasta için 1918 hücreyi harcanan 5 dakika 9 saniyede saymıştır.

4.2.Frozen (İntraoperatif Konsültasyon Yöntemi)

Bu bölümde 2014 yılında arasında İstanbul'da bulunan bir zincir hastanenin patoloji laboratuvarları'na farklı illerde dijital patoloji yöntemi ile ve patologların klasik frozen yöntemi ile konulan tanıların uyumları incelenmiştir. Bu örnekler sonrasında ışık mikroskobu ile yapılan incelemelerinin sonuçları Tablo 4'de karşılaştırılmıştır.

Tablo 4: Patoloji Raporuna Göre Frozen (intraoperatif konsültasyon yöntemi) Sonuçlarının Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırması

	Tam Uyum	Parafine Bırakıldı. Uygundur	Minör Tanı Farkı	Majör Tanı Farkı. Etkisi Yok	Majör Tanı Farkı. Etkisi Var	Minör Tanı Farkı. Etkisi Yok	Minör Tanı Farkı. Dokunun Örneklenmesinde Hata Etkisi Yok	Parafine Bırakıldı. Uygundur. Ekspertis Hastası. Etkisi Yok	Minör Tanı farkı. Klinik ya da patolojik bilgi eksikliği. Etkisi Yok	Minör Tanı Farkı. Minör Etkisi Var	Sonuç Yazılmış
DİJİTAL PATOLOJİ	151	4		1					1		1
PATOLOG	181	3	1		1	1	1	1		1	

Tablo 5. Patoloji Raporuna Göre Frozen (intraoperatif konsültasyon yöntemi) Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Sonuçlarının Uyum Tablosu

	Tam Uyumlu Vaka Sayısı	Uyumsuz Vaka Sayısı	Tam Uyumlu Vaka %	Uyumsuz Vaka %	Toplam
DİJİTAL PATOLOJİ	151	7	96%	4%	158
IŞIK MİKROSKOBU	181	9	95%	5%	190

Dijital patoloji toplam 158 vakadan 151'i tam uyumlu 7'si ise uyumsuz bulunmuştur. Uyumsuz tanı oranı %4'tür. Patoloğun toplam 190 ölçümünden ise 181'i tam uyumlu, 9'u uyumsuz bulunmuştur. Uyumsuz tanı oranı %5'dir.

4.3. Tiroid İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi (İİAS)

Bu bölümde 2014-2016 yılları arasında İstanbul'da bulunan bir zincir hastanenin patoloji laboratuvarları'na farklı illerde yapılan Tiroid İİAS örneklerinin, dijital patoloji sistemi ile hastabaşında verilen yeterlilik ile patoloğun preparatı ışık mikroskobu ile inceledikten sonra ki rapor sonuçları incelenmiştir. Bu örneklerin sonrasında ışık mikroskobu ile yapılan incelemelerinin sonuçları Tablo 2'de karşılaştırılmıştır.

Tablo 6: İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırılması (Hastane D)

Hastane D	ORGAN	DİJİTAL	RAPOR	SONUÇ
1. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	--
2. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Malign
3. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yetersiz	Önemi Belirsiz Foliküler Lezyon

4. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
5. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
6. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
7. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	--
8. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Foliküler Lezyon
9. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
10. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yeterli	Kistik Dejenere Benign Foliküler Nodül.
11. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
12. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Benign Foliküler Nodül
13. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Malignite Kuskusu
14. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
15. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
16. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Foliküler Neoplazi Kuskusu
17. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.
18. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Foliküler Lezyon
19. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Foliküler Neoplazm, Hurthle Hücreli Tip İçin Süpheli

20. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign
21. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Non-Diagnostic
22. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign
23. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yeterli	Foliküler Neoplazm için Süpheli
24. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Önemi Belirsiz Foliküler Lezyon
25. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign
26. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
27. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	---
28. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Tanısal Olma
29. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
30. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Malignite Süphesi
31. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
32. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
33. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
34. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
35. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül

36. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Benign Foliküler Nodül
37. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yetersiz	Önemi Belirsiz Atipi
38. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
39. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
40. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Non-Diagnostic
41. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
42. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Malignite Süphesi
43. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
44. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
45. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
46. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Benign Epitelyal Tiroid Bezi Neoplazisi İle Uyumlu Bulgular
47. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Tanısal Olmayan (Non-Diagnostic)
48. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Foliküler Lezyon
49. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.
50. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Polimorfik Lenfoid Hücre Popülasyonu.

Araştırma için Hastane D’den 50 Tiroid İİAS örneği değerlendirilmiştir. Bu örneklerin 35 tanesinde dijital sistem ile hasta başı değerlendirme ve rapor arasında uyum gözlenmiştir, 10’unda hücre sayısı her ikisinde de yetersiz bulunmuştur. 5 örnek ise dijital sistem ile hasta başı değerlendirmede suboptimal (olması gerekenden az hücre) bulunurken, bu örneklerin 3’ünde raporlama için hücre sayısı yeterli olduğu görülmüştür. Ancak örneklerin 2’sinde raporlama için hücre sayısı yetersiz olduğu görülmüştür.

Tablo 7: Tiroid İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırılması (Hastane C)

Hastane C				
	ORGAN	DİJİTAL	RAPOR	SONUÇ
1. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
2. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
3. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Kistik Dejenerasyon Gösteren Benign Foliküler Nodül
5. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.
6. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.

Araştırma için Bursa İlinden 6 Tiroid İİAS örneği değerlendirilmiştir. Bu örneklerin 6 tanesinde dijital sistem ile hasta başı değerlendirme ve rapor arasında uyum gözlenmiştir. Örneklerin 1’inde ise dijital sistem ile hasta başı değerlendirmede suboptimal (olması gerekenden az hücre) sonucu verirken, raporda hücre sayısı yeterli bulunmuştur.

Tablo 8: Tiroid İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırılması (Hastane B)

Hastane B	ORGAN	DİĞİTAL	RAPOR	SONUÇ
1. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Tanısal Olmayan
2. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.
3. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.
4. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.
5. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Lenfositik Tiroidit
6. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
7. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Malignite Şüphesi
8. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Foliküler Neoplazm İçin Şüpheli
9. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Suboptimal	Önemi Belirsiz Atipi
10. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
11. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
12. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Benign
13. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.

14. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yeterli	Nondiagnostik
15. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign
16. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Benign Foliküler Nodül.
17. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
18. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Lenfositik Tiroidit
19. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Lenfositik Tiroidit
20. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Lenfositik Tiroidit
21. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Non-Diagnostic

Araştırma için Hastane B'den 21 Tiroid örneği, değerlendirilmiştir. Bu örneklerin 15 tanesinde hem dijital sistem ile hasta başı değerlendirmede hem de doktor raporunda yeterli düzeyde hücre bulunurken, 3'ünde yetersiz hücre tanısı söz konusudur. 3 örnek ise dijital sistem ile hasta başı değerlendirmede suboptimal (olması gerekenden az hücre) bulunmuştur. Doktor raporlarına bakıldığında bu örneklerden 1'i dijital sistem ile örtüşürken 2'sinde yeterli düzeyde hücre bulunarak tanı koyulmuştur.

Tablo 9: Tiroid İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskop Karşılaştırılması (Hastane A)

Hastane A	ORGAN	DİJİTAL	RAPOR	SONUÇ
1. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Foliküler
2. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
3. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Suboptimal	Önemi Belirsiz Atipi
4. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Nondiagnostik Materyal
5. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Lenfositik Tiroidit
6. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Papiller Tiroid Karsinomu
7. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Papiller Tiroid Karsinomu.
8. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.
9. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.
10. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Kistik Degenere Benign Foliküler Nodül
11. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yeterli	Foliküler Neoplazm, Hurthle Hücreli Tip İçin Süpheli
12. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Hiperplastik Nodül.
13. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi

14. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Hiperplastik Nodül
15. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
16. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Foliküler Neoplazm
17. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Tanısal Olmayan
18. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Non-Diagnostic)
19. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Papiller Tiroid Karsinomu.
20. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Foliküler Neoplazm
21. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
22. Hasta	Tiroid	Yetersiz	Yetersiz	Tanısal Olmayan
23. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
24. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Foliküler Neoplazm
25. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yeterli	Kolloidal Kistik Nodül
26. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Kolloidden Zengin Benign Foliküler Nodül
27. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Hiperplastik Nodül
28. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Lenfoid Aspirat.
29. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül

30. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
31. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Papiller Tiroid Karsinomu.
32. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Papiller Tiroid Karsinomu
33. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Folliküler Nodül
34. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Folliküler Nodül
35. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Folliküler Nodül
36. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
37. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Lenfositik Tiroidit
38. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Lenfositik Tiroidit
39. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Lenfositik Tiroidit
40. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül.
41. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Lenfositik Tiroidit
42. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
43. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Kistik Dejenerasyon
44. Hasta	Tiroid	Suboptimal	Yeterli	Benign Foliküler Nodül
45. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül

46. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Kistik Dejenerasyon
47. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
48. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Hiperplastik Nodül
49. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Foliküler Lezyon
50. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
51. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Kistik Dejenerasyon Gösteren Benign Folliküler Nodül.
52. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
53. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Malignite Süphesi
54. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
55. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Lenfositik Tiroidit
56. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
57. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Foliküler Neoplazm İçin Süpheli
58. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
59. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Önemi Belirsiz Atipi
60. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Non-Diagnostic
61. Hasta	Tiroid	Yeterli	Yeterli	Benign Foliküler Nodül

Araştırma için hastane A'dan 61 Trioid İİAS örneği, değerlendirilmiştir. Bu örneklerin 52 tanesinde hem dijital sistem ile hasta başı değerlendirmede hem de doktor raporunda yeterli düzeyde hücre bulunmuştur. 6 örnekte ise hücre sayısı yetersiz bulunmuştur. 4 örnek ise dijital sistem ile hasta başı değerlendirmede suboptimal (olması gerekenden az hücre) olarak değerlendirilmiştir. Bu 4 örnekten 3'ü doktor raporuyla uyumluyken 1'inde yeterli düzeyde hücre olduğu bulunarak tanı konulmuştur.

Tablo 10: Tiroid İİAS Işık Mikroskobu ve Dijital Mikroskobun Genel Karşılaştırılması

Tanı Sayısı	Uyumlu	Uyumsuz	Uyum %	Uyumsuz %
138	102	2	98,5	1,5

Yukarıdaki tabloya bakıldığında, Tiroid İİAS yönteminde dijital sistem ile hasta başı değerlendirme ve doktor raporu arasında yaklaşık %98,5 oranında bir uyum gözlenirken %1,5 oranında ise bir uyumsuzluk gözlenmektedir.

4.4. Hipotezlerin Değerlendirilmesi

Bu çalışmadaki hipotezler, ışık mikroskoplarıyla yapılan incelemelerde hata payı olabileceği düşünülerek ve dijital sistem baz alınarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızın ilk hipotezi; „H₀ Dijital Tarama Sistemi Ki 67 tanı kalitesini süre yönü olumlu yönde etkilemektedir; H₁: Dijital Tarama Sistemi Ki 67 tanı kalitesini süre yönü ile olumlu yönde etkilememektedir” şeklinde belirlenmiştir. Ki67 yöntemiyle uygulanmış raporlara bakıldığında dijital sistem hesaplaması ile patoloğların hesaplaması sonucundaki harcanan sürede kıyaslandığında dijital sistemde yapılan hesaplama arasında %80 zaman kazancı olduğu gözlenmektedir. Buna göre H₀ hipotezi doğrulanmıştır. Dijital Tarama Sistemi Ki 67 tanı kalitesini süre yönü ile olumlu yönde etkilemektedir.

Çalışmamızın ikinci hipotezi, H_0 : Dijital Tarama Sistemi Frozen tanı kalitesini olumlu yönde etkilemektedir; H_1 : Dijital Tarama Sistemi Frozen tanı kalitesini olumlu yönde etkilememektedir” şeklinde belirlenmiştir. Çalışmanın bulgularına bakıldığında, Frozen yönetimiyle incelenen hücreler ile doktor raporları arasında %5’lik bir uyumsuzluk söz konusudur. Bu nedenle ikinci hipotezimizin H_0 hipotezinin de doğrulandığı görülmektedir. Dijital Tarama Sistemi Frozen tanı kalitesini olumlu yönde etkilemektedir.

Çalışmamızın üçüncü hipotezi, H_0 : Dijital Tarama Sistemi Tiroid İİAS tanı kalitesini olumlu yönde etkilemektedir; H_1 : Dijital Tarama Sistemi Tiroid İİAS tanı kalitesini olumlu yönde etkilememektedir” şeklindedir. Çalışmanın bulgularına bakıldığında, Tiroid İİAS yöntemiyle yapılan tanılarda dijital sistem ile hasta başı değerlendirme ve doktor raporları arasında %1,5 oranında bir uyumsuzluk bulunmuştur. Bu da bize üçüncü hipotezimizin de H_0 hipotezinin de doğrulandığını göstermektedir. Dijital Tarama Sistemi Tiroid İİAS hasta başı değerlendirme kalitesini olumlu yönde etkilemektedir.

5. TARTIŞMA

Teknolojinin hızlı gelişimi sanayiden hizmet sektörüne, eğitimden sağlığa her alanda insan hayatını etkilemiştir ve etkilemeye devam etmektedir. Teknolojik gelişimler sonucunda insan gücü kullanımını her geçen gün azalmaktadır. Bu durumun istihdam açısından olumsuz yönleri olduğu gibi hem hizmete verenler hem de hizmeti alanlar açısından önemli faydaları bulunmaktadır. Bu faydaların en başında hizmet hızı ve kalitesi gelmektedir. İnsan hatasını minimuma indiren teknolojik ürünler, zaman ve mesafe kavramlarını insanların lehine çevirmekte önemli bir rol üstlenmektedirler.

Hayatın tüm alanında yararlanan teknolojiden sağlık alanında da mümkün olduğunca yararlanılmaktadır. Çalışmamızın konusunu oluşturan dijital mikroskoplar, patoloji laboratuvarlarında çalışan patoloğlara birçok imkan sunmaktadır. Bu imkanların başında sınırsız çalışma alanı bulunmaktadır. Patoloğlar, dijital mikroskoplar sayesinde bilgisayarlardan veya internet üzerinden, evlerinden veya istedikleri yerden preparatlara ulaşma imkanı bulabilmektedirler. Bu sayede patoloğun başka bir şehide hatta ülkede olması veya hastanın patoloğa göre uzakta bir yerde olmasının bir önemi kalmamıştır.

Dijital mikroskopların patoloğlara sunduğu ikinci en büyük imkan ise, ışık mikroskopları altında göz ile yaptıkları taramalarda oluşabilecek olası hataların ortadan kalkmasıdır. Patoloğlar, her ne kadar uzman kimliğine sahip olsalar da insan faktörünün unutulmaması gerekmektedir. Yorgunluk ve stres altında çalışan patoloğların ışık mikroskopları ile gözle sayım yaparken hata yapmaları olası bir durumdur. Nitekim bu çalışmada dijital mikroskoplarla yapılan incelemeler de bunu göstermektedir. Dijital ortamda bilgisayar sisteminin yapmış olduğu hücre sayımı hücreleri tek tek saymaktan daha güvenilir kabul edilmektedir. Bu da tanı kalitesini oldukça etkilemektedir. İnsan sağlığı söz konusu olduğu için bir tanının bile öneminin çok büyük olduğu tartışılmaz bir gerçektir. Bu nedenle çalışmamızda hata payları yüzde oranda düşük görünse de söz konusu insan sağlığı olduğu için oldukça önemsenmesi gereken oranlardır.

Dijital mikroskopların patoloğlara sunduğu üçüncü büyük imkan zamandır. Boyanmış lenf düğümü kesitlerinin mikroskop altında patoloğlar tarafından manuel olarak değerlendirilmesi, hem konunun uzmanlarınca dikkatli inceleme gerektirmekte

hem de zaman almaktadır. Özellikle hastalar için büyük önem taşıyan zaman kavramı, tanının koyulması aşamasında daha da önem kazanmaktadır. Dijital mikroskoplar gerek Ki67 yöntemiyle yapılan hesaplamalar gerekse Frozen yöntemiyle operasyon sırasında alınan örneklerin kısa süre içinde incelemesini yaparak tanı hızını arttırmaktadır, raporlama süresini kısaltmaktadır.

Dijital mikroskopların sunduğu bir diğer imkan da erişilebilir olmasıdır. Dijital ortamda raporlanan her türlü veriye her noktadan erişim imkanı sunmaları, sonuçların farklı ülkelerde farklı doktorlarla paylaşılmasına imkan sunmaktadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dijital patolojinin medikal görüntüleme yeni ve hızla büyüyen bir alandır. Kanserin belirlenmesinde yardımcı olacak başarılı otomatik çözümlerin üretilmesi, patoloğların iş yükünü azaltmanın yanı sıra, tanıda objektif değerlendirmeye de katkıda bulunacaktır. Uzun bir çalışma isteyen bu teknolojiler ile yakın gelecekte dijital patolojinin kanser teşhisinde patoloğlara yardımcı olmak üzere çok daha etkin kullanılması öngörülmektedir. Dijital mikroskoplar, gün geçtikçe gelişmeye devam etmekte ve daha fazla patoloji laboratuvarında yer almaktadır.

Dijital tarama sisteminin düzgün görüntülemesi için preparasyonun optimal standartta olması gerekmektedir. Patoloji laboratuvarında preparasyon kalitesi çok basamaklı kalite kontrol sistemi ve laboratuvar yönetim ile sağlamak mümkündür.

İnce'nin çalışmasına göre dijital tarama sistemleri tek başına çalışmaya uygun değildir. Her zaman patolog veya patoloji teknik konularına hakim yetkin kişiler tarafından kontrollü olarak kullanılmalıdır. Daha etkin kullanım için dijital patoloji için geliştirilmiş yazılımlar uzman patoloğlar tarafından öğretilebilir olmalı. Çok fazla sayıda ve çeşitte örnek preparat taratılarak, dijital yazılımlara tanıya yardımcı hücreler tanımlanabilir. Dijital patoloji sistemlerin tanı vermesi, hücreler yazılıma öğretildikten sonra sağlanabilir. Fakat böyle bir durumda da yine dijital sistemler patoloğların kontrolünde kullanılmalıdır. Tıpkı hesaplama yazılımlarında olduğu gibi, patolog tarafından belirlenen örnek için ve patoloğun belirlediği hesaplama kriterlerine göre hesaplama yapılabilmektedir (43).

Bu çalışma, dijital mikroskopların hata payı bilinmediği için kesin doğruluğu iddia edilemeyeceğinden ışık mikroskobu ile dijital mikroskoptaki değer farklılıklarına yer vermiştir. Dijital mikroskopların kesin doğruluğunu inceleyen çalışmaların da yapılması gerekmektedir. Food and Drug Administration (FDA) onayı alınmalıdır.

İnce ve Şahin (2016) değindiği gibi ortalama 100 – 150 bin dolar üzerinde yüksek maliyete sahip olan dijital patoloji sistemler teknolojinin gelişmesi ile daha ekonomik olmalıdır. Kurumsal alt yapının yokluğunda dijital sistemin olumlu bir sonuç vermesi beklenemez.

Eğitim amaçlı kullanılabilen dijital sistem tıp fakültlerinde ve diş hekimliği fakültelerinde çok sayıda mikroskop yerine geçmektedir. Çok sayıda mikroskop ve bakım ücretleri aynı zamanda eğitim amaçlı kullanılan preparatların maliyetleri hesap edildiğinde belki de yüksek maliyet gibi gözükken dijital sistemlerde avantaja dönüşebilmektedir. Özellikle kan ve kemik iliği gibi preparatların incelenmesinde yüksek büyütmesi olan 60x objektifler ve üstü tercih edilmektedir. Öğrenci mikroskopları için objektifler maliyeti arttırmaktadır. Fakat dijital sistemlerde tarama cihazları tarama seçeneklerine göre 100x den daha fazla büyütme sağlamaktadır.

Son olarak teknolojik gelişmelere paralel olarak , Dijital Patoloji sistemlerinin de veri depolama, veri transferi gibi konulara çözüm getirileceğine ve hatta ekonomik olarak daha uygun hale geleceğine inanıyorum. Böylelikle tıpkı radyoloji departmanlarında olduğu gibi patoloji laboratuvarlarında da sadece görüntü transferi olacak ve klasik ışık mikroskobu yerine yüksek çözünürlüklü ekranlardan patologlar tanı koyabileceklerine inanıyorum.

Dijital Patoloji Sistemler ne kadar gelişirse gelişsin en önemli rol her zaman patologların olacaktır.

7. KAYNAKLAR

- [1] Milli Eğitim Bakanlığı, (2011), *Biyomedikal Cihazteknolojileri Mikroskoplar*, Ankara, Türkiye,
- [2] Web_1, (2011) <http://www.pce-cihazlari.com.tr/oelcuem-teknolojisi/oelcuem-cihazlari/mikroskoplar.htm> Erişim: 09.10.2016
- [3] Baş, Ü. A. (2013), *Mikroskop Kullanımında Ortaöğretim Öğrencilerinin Öz Yeterlik İnançlarının İncelenmesi*. Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Fen Ve Matematik Alanları Eğitimi Ana Bilim Dalı Biyoloji Öğretmenliği Bilim Dalı, Ankara, Türkiye, 20-30
- [4] WEB_2, Deveci, Engin (2000), <http://www.dicle.edu.tr/Contents/83856373-a53c-4873-8b2c-1be14f10e59c.pdf> Erişim: 02.10.2016
- [5] Keskin, İ., Özbek, H., Ulaş, N, (2015), *Geleneksel Mikroskop Eğitiminden Dijital Mikroskop Eğitime Geçiş* Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, İstanbul, Türkiye, 55-76
- [6] Yeşilbağ, O, (2011), *Tekstil Liflerinin Polarize Işık Mikroskobu İle Analizi* İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 123-211
- [7] WEB_3, Erdoğan, Halis., Seki, Yasemin (2013), <http://kisi.deu.edu.tr/umit.erdogan/Fluoresans.pdf> Erişim: 02.15.2017
- [8] WEB_4, <http://www.biyologlar.com/index.php/component/content/article/173-sanal-laboratuvar/histoloji-laboratuvar/1892-hstolojde-kullanilan-mkroskop-tuerler-ve-mkroskop-yoentemler> Erişim: 09.10.2016
- [9] WEB_5, Şen, Sait (2010). Mikroskop Ansiklopedisi Patoloji Laboratuvarını kurduk (Daha) İyi bir kesit ve yayma için ne yapmalıyız?

<http://docplayer.biz.tr/2124267-Mikroskop-ansiklopedisi-patoloji-laboratuvarini-kurduk.html> Erişim: 15.01.2017

[10] WEB_6, <http://www.supereyes.cc/support/show/query/17.html> Erişim: 12.12.2016

[11] Wong G, Greenhalgh T, Pawson R, (2010), *Internet-Based Medical Education: A Realist Review Of What Works, For Whom And In What Circumstances*. BMC Medical Education. Canada, 10:12

[12] Ghaznavi F, Evans A, Madabhushi A, Feldman M. (2013), *Digital İmaging In Pathology: Whole-Slide İmaging And Beyond*. Annu Rev Pathol. Toronto, Kanada, 59-331.

[13] WEB_7, Celasun, B. (2015). Patoloji Nedir? www.patoloji.gen.tr. Erişim: 01.03.2016

[14] Demir, R, (2007), *Temel Histolojik Teknikler* Palme Yayıncılık, İstanbul, Türkiye, 11-36

[15] Farahani, N., Parwani, A., Pantanowitz, L (2015), *Whole Slide İmaging In Pathology: Advantages, Limitations, And Emerging Perspectives*. Dove Press Journal, PA. USA, 15-86

[16] WEB_8, Yapıcıer, Ö. (2000), Tanı Koymada Uygulanan Yöntemler, <http://www.medikalteknik.com.tr/tani-koymada-uygulanan-yontemler/> Erişim: 10.12.2016

[17] Hedvat, C.V (2010). *Digital Microscopy Past, Present, And Future, Archives Of Pathology And Laboratory Medicine*, Vol. 134, no. 11, pp. 1666–1670, View at Google Scholar

- [18] Carson, F.L., Hadik, C, (2009), *Histotechnology A Self-Instructional Text*, 3rd Edition, American Society for Clinical Pathology Press, USA, 29-45
- [19] Davidson, M. W., Abramowitz, M, (2002), *Optical Microscopy*, Encyclopedia of Imaging Science and Technology, USA, 123-176
- [20] Lichtman, W . J., Conchello, J, (2005), *Fluorescence Microscopy*, Nature Methods, Vol:2No12, 2005.
- [21] A. Khmaladze, A, Mann C.J., Kim, M.K, (2007), *Phase Contrast Movies of Cell Migration by Multi-Wavelength Digital Holography*, Optical Society of USA, 255-313
- [22] Cibas, E. S., Ducatman, B. S, (2009), *Cytology: Diagnostic Principles and Clinical*, Corralates, 3th Edition, Philadelphia: Saunders Elsevier, USA, 121-167
- [23] Wilbur, D. C, (2011). *Digital Cytology: Current State Of The Art And Prospects For The Future*, Acta Cytol., USA, 227-38.
- [24] Webster, J. D., Dunstan, R. W, (2014), *Whole-Slide Imaging And Automated Image Analysis: Considerations And Opportunities In The Practice Of Pathology*, Vet Pathol., USA, 211-23
- [25] Evans, A. J., Chetty R., Clarke B. A., Croul, S., Ghazarian D. M., Kiehl T. R ., Ordonez B. P., Ilaalagan, S., Asa S. L. (2009), *Primary Frozen Section Diagnosis By Robotic Microscopy And Virtual Slide Telepathology: The University Health Network Experience*, Semin Diagn Pathol., USA, 26(4):165-76.
- [26] P. W. Hamilton, P.W., Bankhead, P., Wang, Y., Hutchinson, R., Kieran, D., Mcart, D.G., James, J., Salto-Tellez, M, (2014), *Digital Pathology And Image Analysis In Tissue Biomarker Research*, Methods USA, 70(1):59-73.
- [27] İnce, Ü., Şahin D. (2016). *Dijital Sitopatoloji*, Ankara Üni. Yayınları, Ankara, Türkiye, 11-56

[28] Ludvikova M, Holubec L, Ryska A, Topolcan O. (2005), *Proliferative Markers In Diagnosis Of Thyroid Tumors: A Comparative Study Of MIB-1 And Topoisomerase II-Aimmunostaining*. Anticancer Res May-Jun; 25(3A):1835-40.

[

29] Saiz AD, Olvera M, Rezk S, Florentine BA, Mccourty A, Brynes RK, (2002), *Immunohistochemical Expression Cyclin D1, E2F-1 And Ki-67 In Benign And Malignant Thyroid Lesions*. J Pathol Oct; 198(2):157-62.

[30] Kjelman P, Wallin G, Hoog A, Auer G, Larsson C, Zedenius J. (2003), *MIB-1 Index In Thyroid Tumors: A Predictor Of The Clinical Course In Papillary Thyroid Carcinoma*, Thyroid Apr; 13(4): 371-80.

[31] İto Y, Uruno T, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, Kuma K, Miyauchi A. (2005), *Papillary Microcarcinomas Of The Thyroid With Preoperatively Detectable Lymph Node Metastasis Show Significantly Higher Aggressive Characteristics On Immunohistochemical Examination*, Oncology 68(2-3):87-96. Epub 2005 May 9.

[32] Pantanowitz L, Sinar JH, Henricks WH, Fatheree LA, Carter AB, Contis L, Beckwith BA, Evans AJ, Lal A, Parwani AV, (2013), *College Of American Pathologists Pathology And Laboratory Quality Center. Validating Whole Slide Imaging For Diagnostic Purposes In Pathology: Guideline From The College Of American Pathologists Pathology And Laboratory Quality Center*. Arch Pathol Lab, Med. Dec;137(12):1710-22.

[33] Taşkara B, (2006), *Hipoaktif Tiroid Nodüllerinde İnce İğne Aspirasyon Biyopsisinin Tanısal Değeri*. Uzmanlık Tezi, İstanbul, Türkiye, 5-20.

[34] Karakan Hİ, (2008), *İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi ve Frozen Section Yöntemlerinin Tiroid Kitlelerindeki Cerrahi Yaklaşım Üzerine Etkileri*. Uzmanlık Tezi, İstanbul, Türkiye, 3-6.

- [35] Güney E. (2008), *Tiroid ve Paratiroid Bez Cerrahi Hastalıkları*, İyışler Matbaacılık, İstanbul, Türkiye, 2- 9.
- [36] Suen KC. (2002), *Fine-Needle Aspiration Biopsy of The Thyroid*, CMAJ. 167(5):491- 495.
- [37] Tawfik O, Davis M, Dillon S, Tawfik L, Diaz FJ, Amin K, Fan F. (2015), *Whole-Slide İmaging of Pap Cellblock Preparations İs a Potentially Valid Screening Method*. Acta Cytol. 59(2):187-200. doi: 10.1159/000430082.
- [38] Webster JD, Dunstan RW, (2014), *Whole-Slide İmaging And Automated Image Analysis: Considerations And Opportunities İn The Practice Of Pathology*. Vet Pathol. Jan;51(1):211-23.
- [39] Hamilton PW, Bankhead P, Wang Y, Hutchinson R, Kieran D, McArt DG, James J, Salto-Tellez M, (2014), *Digital Pathology And Image Analysis İn Tissue Biomarker Research*. Methods. Nov;70(1):59-73.
- [40] Husmann PR, O'Loughlin VD, Braun MW (2009), *Quantitative And Qualitative Changes İn Teaching Histology By Means Of Virtual Microscopy İn An Introductory Course İn Human Anatomy*. Anat Sci Educ. 2:218-26.
- [41] Wilbur DC, (2011), *Digital Cytology: Current State Of The Art And Prospects For The Future*. Acta Cytol. 55(3):227-38.
- [42] Umudun, H, (2013). *Cebinizdeki Görüntü Analizi. Ki67 Proliferasyon İndeksini Belirlemek İçin Pratik Ve Basit Uygulama*, Ufuk Üniversitesi. Ankara, Türkiye, 28-111
- [43] İnce U., Sav M., Aydın, D., Beyhan, D., Algan M, (2011), *Interhospital Digital Pathology/ Telepathology Practice in Multi-institutional Health Group in Turkey*, Türkiye, 26-77

[44] Krippendorf BB, Lough J. (2005), *Complete And Rapid Switch From Light Microscopy To Virtual Microscopy For Teaching Medical Histology*. Anat Rec B New Anat. 285:19-25

[45] WEB_9, http://www.ebilge.com/272419/Mikroskopun_bolumleri_nelerdir.html, Erişim: 01.03.2016

[46] Siironen P, Nordling S, Louhimo J, Haapiainen R, Haglund C. (2005), Immunohistochemical Expression Of Bcl-2, Ki-67 And P 21 İn Patients With Papillary Thyroid Cancer. Tumor Biol Jan-Feb; 26(1):50-6. Epub 2005 Mar 8.

[47] Ashok R. Shaha, MD, (2007), *FACS. TNM Classification Of Thyroid Carcinoma*. World J Surg USA, 37-99

[48] Vollmer RT, (2004), *Use Of Bayes Rule And MİB-1 Proliferation İndex To Discriminate Spitz Nevus From Malignant Melanoma*. Am J Clin Pathol. 122:499-505.

[48] WEB_10, <https://Digitalpathologyassociation.Org/Healthcare-Faqs> Erişim: 17.02.2017

[50] Pantanowitz L, Szymas J, Yagi Y, Wilbur D. (2012), *Whole Slide İmaging For Educational Purposes*. J Pathol Inform, USA, 3:46.

[50] WEB_11, <http://www.history-of-the-microscope.org/robert-hooke-microscope-history-micrographia.php> Erişim: 01.03.2016

[51] WEB_12 <http://www.clinisciencences.com/lire/sondes-pour-hybridation-in-situ-9.html> Erişim: 01.03.2016

[52] WEB_13 <http://www.glogster.com/kuzelac/anton-van-leeuwenhoek/g-6mgda23hv786m9tekfo2ma0> Erişim: 01.03.2016