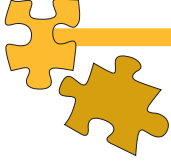




KARACİĞERİN BİYOKİMYASAL ve HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ



Koagülopati ve yüksek aminotransferaz düzeylerine yaklaşım

Dr. Ayşe Selimoğlu

Transaminaz Yüksekliği

Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve laktik asit dehidrogenaz (LDH) hücre hasarını gösteren testlerdir. Oysa sadece ülkemizde değil, tüm dünyada serum aminotransferazları karaciğer fonksiyon testleri olarak anılmaktadır. Bu yanlış kullanılan terminoloji kısmen bu testlerin en yaygın kullanılan karaciğer testleri olmasından, kısmen de transaminaz yükselmesinin altında yatan patofizyolojinin hekimler tarafından göz ardı edilmesinden kaynaklanmaktadır.

Üzerinde tam uzlaşma olmasa da aminotransferaz yüksekliği hafif (<5 x üst referans sınırı), orta ($5-10$ x üst referans sınırı) ve belirgin (>10 x üst referans sınırı) olarak sınıflandırılabilir. AST ve ALT düzeyleri ciddi egzersiz sonrası normalin birkaç katı yükselebilir. Kronik hepatitler ve yağlı karaciğer hastalığında ayrıca, kas hastalıklarında (polimiyozit, müküler distrofi) ve hipotroidizmde de enzimler hafif veya orta derecede artabilir. Alkolik olmayan steatohepatitler, otoimmün hepatit ve Wilson sirozunda orta derecede yükseklik, ilaç toksisitesi, özellikle parasetamol intoksikasyonu, akut viral hepatitler ve iskemik karaciğerde belirgin yükseklik gözlenir.

Serum aminotransferazları genellikle birlikte yükselip ve düşerler. Yükselen AST/ALT oranı (DeRitis) kötü prognozu, alçalan AST/ALT iyi prognozu işaret edebilir. Terminal siroz ve fulminan karaciğer yetmezliğinde düşük transaminaz değerleri gözlenebilir. INR ve PT uzamasına ve bilirubin yükselmesine eşlik eden transaminaz düşmesi karaciğerde hepatosit rezervinin hızla azaldığının göstergesidir. Biliyer obstrüksiyonda transaminaz değerleri nadiren 1000 IU üzerine çıkar. Oysa iskemik veya toksik hasarda değerler en yüksek düzeylerde seyredebilir, bunu akut hepatit izler.

ALT sadece hücre sitoplazmasında, AST ise hem sitoplazmada hem de mitokondride bulunan enzimlerdir. Akut hepatit, toksik hepatit veya iskemik hasar gibi durumlarda dolaşıma sızarlar ve serum düzeylerini yükseltirler. Hepatik asinusun 3. zonunda AST daha yüksek konsantrasyonda bulunduğundan, bu zondaki iskemik veya toksik hasar AST düzeylerinde daha fazla yükselmeye neden olacaktır. AST/ALT oranının ikiden büyük olması erişkinlerde alkolik hepatiti, bu oranın birden küçük olması ise kronik hepatiti düşündürmelidir. Kronik hepatitli bir olguda bu oranın giderek yükselmesi ise siroz gelişimini haber verebilir.

Karaciğer patolojileri için ALT, AST'den daha spesifik bir enzimdir. Zira AST yüksekliği kalp kası, iskelet kası, böbrek, pankreas veya eritosit kaynaklı olabilir. ALT düşük konsantrasyonlarda böbrek ve iskelet kasında da bulunur. Tek başına AST yüksekliği çocuklarda zor venöz girişimlerde, sistemik viral hastalıklar, kas hastalıkları ve MakroAST nedeni ile görülebilir. MakroAST, AST'nin IgG ile kompleks yaparak dolaşımdan temizlenmesini yavaşlatan nadir bir durumdur.

Yüksek transaminaz değerleri olan bir olguyu değerlendirirken önemli bir karaciğer hastalığının tek bulgusunun bu olabileceğini akılda tutmak çok önemlidir. Bazen de karaciğer sanık değil sadece sistemik hastalıkların bir tanığıdır. Bu bağlamda öykü ve fizik muayene önemlidir. Öyküde viral hastalıklar açısından çevrede benzer hastalık, kan transfüzyonu, operasyon, sünnet, hemodiyaliz, ailede taşıyıcılık, dövme, piercing, IV ilaç kullanımı ve seksüel temas sorgulanmalıdır. Metabolik hastalıklar açısından aile öyküsü, anne baba akrabalığı, kardeş ölüm öyküsü önem taşır. İlaç kullanım öyküsü sorgulanmalıdır. Yaş, karaciğer hastalığının ayırıcı tanısı yönünden çok önemli bir faktördür. Örneğin Wilson sirozu büyük çocuk hastalığı olarak bilinirken birçok diğer metabolik hastalık bebeklik döneminde bulgu verir. KC hastalığının semptomları nonspesifik olabileceği gibi sarılık, kaşıntı ve kanama gibi daha spesifik öyküler alınabilir. Fizik muayenede hepatomegali varlığı ve özellikleri kaydedilmeli, assit, splenomegali, koagülopati bulguları, hepatik ansefalopati ve cilt bulgularına dikkat edilmelidir. Kayser-flescher halkası, katarakt gibi bazı özel bulguların tanı için ipucu oluşturduğu da unutulmamalıdır. Transaminaz yüksekliği olan hastanın diğer karaciğer fonksiyon ve durumunu gösteren testlerle değerlendirilerek olayın kolestatik mi parankimal mi olduğunu ayırt etmek bir ileriki adımdır.

Tesadüfen saptanan asemptomatik transaminaz yüksekliği olan çocuklarda düşünülmesi gereken muhtemel tanılar ve yapılması gereken temel tetkikler Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu arada tesadüfen saptanan transaminaz yüksekliklerinin büyük bir kısmının tetkikler henüz bitirilmeden düzeldiğini de unutmamak gerekir.

Tablo 1: Transaminaz yüksekliği nedenleri ve yapılması gereken tarama testleri

| Muhtemel tanılar | Tarama testleri |
|---|--|
| Kronik hepatitler | A, B, C ve TORCH serolojileri |
| Otoimmün hepatit | Otoantikörler, Ig düzeyleri |
| Metabolik hastalıklar (Wilson sirozu, alfa-1-antitripsin eksikliği, hemokromatozis) | Seruloplazmin, alfa-1-antitripsin düzeyi ve fenotipi, transferin saturasyonu |
| Çölyak hastalığı | Çölyak serolojisi |
| Kas hastalığı | CK düzeyi |
| Yağlı karaciğer hastalığı | USG |
| İlaçlar-alkol | |

LDH, hücre hasarını göstermede ALT ve AST'den daha az spesifiktir. Hemoliz ve iskemik hasarda orantısız şekilde artar.

Koagülopatiyeye Yaklaşım

Karaciğer, hem Von Willebrand faktör (VWF) dışındaki tüm pıhtılaşma faktörlerini hem de bazı fibrinolitik proteinleri sentezlemesi nedeniyle hemostazda merkezi bir rol üstlenir. Hepatik retiküloendotelial sistem de pıhtılaşma faktörlerini ve fibrin ve fibrinojen yıkım ürünlerini temizler. Karaciğer hasarı ciddi ise hemostaz bozulur. Karaciğer hasarında görülen hemostaz bozukluğu, faktör sentezinin azalması, aşırı fibrinolizis, yaygın damar içi pıhtılaşması (DIC), trombositopeni veya trombosit fonksiyon bozukluğuna bağlı olabilir.

Karaciğer hastalıklı kişide hemostatik durumu değerlendirmek için standart testler kullanılır. İlk testler PT (protrombin zamanı), INR (International normalized ratio), PTT (parsiyel tromboplastin zamanı), trombosit sayısı ve fibrinojen düzeyi olmalıdır. Bu testler hastalığın ağırlığını ve tedavi gereksinimini gösterir.

PT, K vitaminine bağımlı faktörleri ölçer ve karaciğer hasarının geçerli bir ölçütüdür. Karaciğer yetmezliğinde K vitamini eksikliği de olabilir. Nedenleri beslenme bozukluğu, yağda eriyen vitamin malabsorpsiyonu veya biliyer obstrüksiyondur. K vitamini eksikliği dışında görülen pıhtılaşma faktör eksikliği, hepatik sentez fonksiyonunun azaldığının bir göstergesidir. Eksilen pıhtılaşma faktörlerinin sayısı ve eksilme derecesi karaciğer hasarının ağırlığına paraleldir. Faktör 5 ve 7 hepatik protein sentezinin hassas göstergeleridir ve hastalığın ciddiyetini değerlendirmek için kullanılır. Yaklaşık altı saatlik yarı ömrü nedeniyle, karaciğer hasarından en erken etkilenen faktör, faktör 7'dir. Faktör 5, 10 ve protrombin, hastalığın progresyonuna paralel olarak düşer. Aksine, faktör 8 ve fibrinojen düzeyleri çoğu kompanse sirozlu olguda normal veya yüksektir. Normal PTT ile birlikte uzamış PT/INR erken evre karaciğer hastalığında görülür ve izole faktör 7 düzeyinin göstergesidir. Hastalık ilerledikçe PT/INR ve PTT birlikte uzar; bu durum birden fazla pıhtılaşma faktörünün eksikliğini gösterir. Ancak PTT uzaması kompanse sirozlarda sık olan yüksek faktör 8 düzeyi ile gölgelenebilir. PT ve PTT'nin uzama nedenleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2: PT ve PTT'de uzama nedenleri

| PT | PTT | |
|--------|--------|---|
| Uzun | Normal | Antikoagulan tedavinin, K vitamini eksikliğinin ve karaciğer hasarının erken evresi |
| Normal | Uzun | vWF, F8, F9, F12 eksikliği, heparin kullanımı |
| Uzun | Uzun | DIC, karaciğer hastalığının, K vitamini eksikliğinin ileri evresi, antikoagulan tedavi, hiperfibrinolizis |

PT, Child-Pugh ve Mayo End-Stage Liver Disease (MELD) skorlarında yer alan bir parametredir. Karaciğer hastalığının ciddiyetini gösterse de, PT ve PTT değerleri kanama riskini doğrudan gösteremez çünkü karaciğer hastalarında hemostaz, endotel, trombositler, fibrinolizis, prokoagulanlar ve inhibitörler arasındaki kompleks ilişkiye bağlıdır. PT ve PTT'nin sirozda koagulasyonu tam olarak yansıtmamasının nedeni, sirozda hem protein C ve antitrombin gibi antikoagulanların hem de prokoagulanların birlikte azalmasıdır. Oysa PT ve PTT değerleri sadece prokoagulan faktörlerden etkilenir. Karaciğer hastalığında plazma protein C konsantrasyonunun azalması ek bir prokoagulan etki oluşturur. PT ve PTT sadece trombinden fibrin oluşumunu ölçer ve fibrinolitik faktörlerin etkisini değerlendirmez. Bu nedenle de sadece PT ve PTT'yi koagulasyon fonksiyonlarını araştırmak için kullanmak kanama riskini ortaya koymaz.

International Normalized Ratio (INR) uluslararası sensitivite indeksine (ISI) göre uyarlanmış PT oranı (hasta PT/kontrol PT) ile hesaplanır. Birçok merkezde PT yerine kullanılmaya başlanmıştır. Ancak ISI değeri K vitamini antagonisti alan hasta verilerinden çıkarılmıştır. Oysa karaciğer hastalığındaki pıhtılaşma faktör eksikliği bu durumdan farklıdır. Özel bir INR düzeyi warfarin alan hastalardaki aynı derecedeki otokoagulan veya kanama riskini göstermez. Pıhtılaşma faktörleri normalin % 30-40'ına ininceye kadar pıhtılaşma zamanı bozulmaz.

Fibrinojen trombin tarafından fibrine dönüştürülür. Fibrinojen bir akut faz reaktanıdır ve stabil karaciğer hastalığında sentezi normalken son dönem karaciğer hastalığında düzeyi azalır. Düzeyin düşmesi, azalan sentez, intravasküler alana kayıp (asit), artan katabolizma ve masif kanama nedeniyle olabilir. Disfibrinojenemi ise, kronik karaciğer hastalığında görülen erken bir pıhtılaşma bozukluğudur ve fibrinojen fonksiyonunun bozulmasını ifade eder. Disfibrinojenemi, artmış fibrin yıkım ürünleri veya D-dimer düzeyinde artış olmaksızın trombin zamanının uzaması ile anlaşılır.

Ciddi hipofibrinojenemi (<100 mg/dL) nadirdir ve dekompanse siroz veya DIC'de görülür. Fibrinojen düzeyinin 80 mg/dL altına inmesi PT ve PTT'yi belirgin olarak uzatır.

Karaciğer hasarının derecesi ile birlikte fibrinolitik aktivite de artar. Fibrinolizisin artışı, doku plazminojen aktivatör ve diğer fibrinolitik enzimlerin bozulan klerensi yani düzeylerinin artması ancak buna karşın plazminojen aktivatör inhibitörlerinin artmaması nedeniyle olur.

Dekompanse sirozlu hastaların yaklaşık % 30'unda kanama olmaksızın artan fibrinolize ait laboratuvar bulgusu vardır. Ancak karaciğer hastalıklı olgular sıklıkla fizyolojik ve iatrojenik strese, özellikle cerrahiye karşı aşırı fibrinolitik yanıt gösterirler. Büyük cerrahiler, hasarlı dokudan büyük miktarlarda doku plazminojen aktivatörün salınmasını stimüle ederek ciddi kanamaya neden olabilir. Trombosit ve faktör tedavisine rağmen ısrarcı kanamaları olan hastalarda sistemik fibrinolizis düşünülmelidir. Tanı kısalmış euglobulin pıhtı lizis zamanı ile konulur.

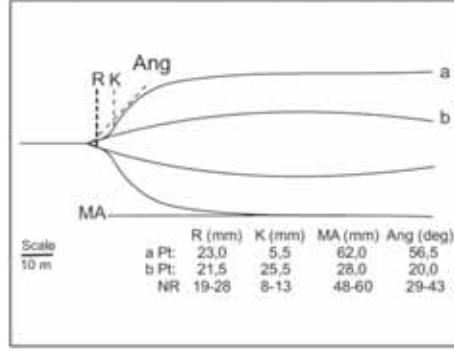
Sirozlu olgular sıklıkla düşük dereceli DİK bulguları gösterirler. Fibrinojen yaşamı kısalır ve çeşitli koagulasyon aktivasyon göstergelerinin plazma düzeyleri yükselir. DİK sıklığı ve derecesi karaciğer hastalığının evresi ile ilişkilidir. Sirozda DİK mekanizması karmaşıktır ve hasarlı hepatositlerden prokoagulanların salınımı, aktive pıhtılaşma faktörlerinin bozuk klerensi, koagulasyon inhibitörlerinin azalmış sentezi ve endotoksinlerin portal dolaşıma katılması olarak sayılabilir. Karaciğer hastalığında DİK varlığını saptamak güçtür. DİKdaha çok sepsis ve travma gibi eşlik eden durumlarda görülür. D-dimer ve fibrin yıkım ürünleri, DİK'de çok yüksektir.

Giderek düşen faktör 8 ve fibrinojen düzeyine karşılık artan D-dimer güçlü bir DİK göstergesidir. Prokoagulan ve antikoagulan proteinler arasındaki denge kanama ve tromboz riskini belirler. Kanama daha sık görülse de sirozdaki hemostatik dengesizlik daha çok hiperkoagulopati yönündedir, bu da tromboza yatkınlık oluşturur. Antikoagulan protein eksikliği sıktır ve hastalığın ciddiyeti ile koreledir. Antitrombin, protein C ve protein S düzeyi normalin % 30-65'i arasında seyrederek, bu değerler kalıtsal eksiklikteki gibidir. Bazı prokoagulanların (faktör 8, vWF ve fibrinojen) sirozda artmış olması hiperkoagulabiliteye katkıda bulunur. Uzamış protrombin zamanı (PT) olan sirotik hasta trombozdan korunmaz.

Trombositopeni sirozlu olgularda sık görülse de trombosit sayısı nadiren 30-40.000'in altına düşer; spontan kanama da nadirdir. Karaciğer hastalığında trombositopeni birkaç nedenle ortaya çıkar: trombositler büyümüş dalaktan geçerken parçalanır, trombosit yapımı bozulur, immün ve immün olmayan trombosit yıkımı olur. Diğer nedenler arasında folat eksikliği, alkol, sepsis, DİK ve ilaçlar sayılabilir. Trombosit yapımında temel fizyolojik düzenleyici olan trombopoietin (TPO) karaciğerde sentezlenir. Sirozlu ve trombositopenili hastalarda TPO düşük düzeydedir ve fibroz skoru, Child-Pugh skoru ve diğer karaciğer fonksiyon testleri ile ters koreledir. Eğer trombositopeni karaciğer hastalığı ile uyumsuz oranda ciddi ise ITP düşünülmelidir. Trombositopeni ile uyumsuz kanama zamanı uzaması ise trombosit fonksiyon bozukluğunu düşündürmelidir. Sirozlu olgularda uzamış kanama zamanı ve bozulmuş agregasyon yanıtı ile kendini gösteren kalitatif trombosit anormallikleri görülür. Anormal fonksiyon bozukluğu, dolaşan trombosit inhibitörlerine (fibrin yıkım ürünleri ve D dimer), trombosit reseptörlerinin plazmin yıkımına, disfibrinojenemiye ve aşırı nitrik oksit (NO) sentezine bağlanmıştır. Sirozda kanama riskini gösterebilecek en aday test trombomodulin varlığında gerçekleştirilecek trombin jenerasyon testidir. Trombin jenerasyon testi, in vivo gerçekleşen koagulasyonu en yakın şekilde temsil eder.

Tromboelastografi pıhtı oluşumu ve çözülmesine neden olan tüm hemostatik fonksiyonları devamlı şekilde gözleyip izleyen bir tekniktir. Son yıllarda tekniğindeki gelişmelerle bu tetkik özellikle yatak başı bir araç olarak, karaciğer nakli ve kardiyovasküler cerrahi gibi büyük girişimler öncesi kullanılan bir kanama testi olmuştur. (Şekil 1)

Şekil 1: Trombo eğrisi



Kombine edilmiş iki tromboelastografi
a: Hiperkoagülasyonlu parametreleri içerir, b: Şiddetli fibrinolitik aktiviteyi gösterir
MA: Maksimum genişlik, Pt: Hasta, NR: Normal olan

Hastalarda kanama riskini düşünürken, hematolojik olmayan faktörler de göz önüne alınmalıdır. Portal hipertansiyon, renal yetmezlik ve bakteriyel enfeksiyonlar kanama riskini artıran durumlardır.

Aktif olarak kanayan, cerrahi veya diğer invazif girişimler gereken hastalarda hemostatik durum düzeltilmeye çalışılmalıdır. Tedavi anormal laboratuvar değerlerini tamamen düzeltmekten ziyade hemostatik yeterliliği sağlamak şeklinde olmalıdır.

Koagülasyon testleri K vitamini eksikliği ile karaciğerin pıhtılaşma faktör sentez eksikliğini birbirinden ayıramaz. Bu nedenle K vitamini denemesi, özellikle kolestatik hastalarda doğru bir yaklaşımdır. Üç gün süre ile 5-10 mg/gün K vitamini ile düzelen PT zamanı K vitamini eksikliğini gösterir.

Taze donmuş plazma vWF dışındaki tüm koagülasyon proteinlerini ve inhibitörleri içerir. İnvazif girişimler öncesi ve aktif kanama durumunda TDP koagülasyonu düzeltmek için kullanılır.

Kriyopresipitat fibrinojen, F8, vWF ve F13'den zengin plazma fraksiyonudur. Ciddi koagülopati ve hipofibrinojenemili (<100 mg/dL) hastalarda gerekli olabilir.

Rekombinant F7a vasküler hasar bölgesinde doku faktörü ile bağlandıktan sonra aktifleşir. Bu kompleks F9 ve 10'u aktive eder. Yüksek konsantrasyonlarda F7a doğrudan F10'u aktive eder. Plazma transfüzyonuna dirençli koagülopatili dekompanse sirozlarda etkilidir, ancak etkisi çok kısa sürelidir. Karaciğer biyopsisi, intrakranyal basınç monitorü yerleştirme gibi invazif girişimlerde kanamayı önleme ve nakil esnasında kan kaybını azaltmak için kullanılabilir. Trombosit sayısı 50.000-75.000 arasında olup aktif kanayan hastalarda trombosit transfüzyonu endikasyonu vardır. İnvazif girişimler öncesi trombosit 50.000 altında ise profilaktik trombosit verilir. Stabil hastada trombosit sayısı 10,000'in altında ise transfüzyon yapılır. Ancak kanama için risk faktörü varsa daha yüksek değerlerde de trombosit verilebilir.

Trombosit fonksiyon bozukluğunu düzeltmek için spesifik tedavi endikasyonları kesin değildir. Ciddi anemi de trombosit fonksiyon bozukluğu yaptığından Hct 30'un altında olduğunda eritrosit transfüzyonu yapılabilir. Desmopresin sentetik bir antidiüretik hormon analogudur ve endotelial hücrelerden vWF salınımını stimüle eder ve trombosit adezyonunu artırır. Özellikle dirençli kanamaları olan trombosit fonksiyon bozukluğu olan hastalarda kullanılabilir.

Düşük dereceli DİK laboratuvar bulguları sık olsa da spesifik tedavi nadiren gerekli olur. DİK'den şüphelenildiğinde tedavi stratejisi enfeksiyon gibi presipite edici faktörlerin saptanıp ortadan kaldırılması şeklinde olmalıdır. Aktif kanayan hastalarda laboratuvar testlerinin rehberliğinde pıhtılaşma faktörlerinin, koagülasyon inhibitörlerinin ve trombositlerin desteklenmesi yapılabilir. Heparin kanama riski nedeni ile önerilmez. Antitrombin konsantrisi sirotik hastalarda fibrinojen yarı ömrünü uzatsa da etkinliği ile ilgili yeterli çalışma yoktur.

Ciddi fibrinolizisi olup kanayan olgularda tedavi gereklidir. TDP ve kriyopresipitat verilebilir. Antifibrinolitik ajanlar (epsilon aminokaproik asit ve traneksamik asit) plazmin oluşumunu inhibe eder ve diffüz kanamayı kontrol edebilirler. Ancak trombotik komplikasyon riski de ortaya çıkabilir. Bu nedenle DİK ekarte edildikten sonra, TDP ve trombosit transfüzyonuna yanıt vermeyen hastalarda kullanılabilirler.

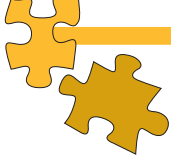
Karaciğer biyopsisi sonrası kanamayı tahmin eden bir laboratuvar testi yoktur. Tromboelastogram gibi global hemostazı gösteren yeni testler kardiyak cerrahi ve yoğun bakım ünitelerinde kanama riskini tahmin etmede kullanılmaktadır. Eritrosit ve trombositlerin, pıhtılaşma faktörlerinin etkilerini de analiz eden bu sistem PT ve PTT'den daha tanımlayıcıdır. Nakil öncesi ne kadar kan gerektiğini tahminde kullanılmaya başlanmıştır ancak çalışmalara gereksinim vardır.

Hemostatik parametreler için uzlaşılabilir sınır değerler yoktur. Hafif uzamış PT (4 saniye) ve hafif trombositopeni (50,000-100,000) kanama riskini artırmazken, 50,000 altındaki değerler bazı çalışmalarda kanama oluşturmuştur. Uzamış kanama zamanı (>12 dakika) kanama riskini 5 kat artırmaktadır. En az 50,000-80,000 trombosit sayısı ve PT'nin en fazla 3-4 uzun olması kabul edilir. INR 1.4'ün üstünde ise TDP, trombosit düşükse trombosit infüzyonu ile destek verilir. F7a profilaktik olarak etkindir.

Santral venöz kateter için profilaksiye gerek yoktur, yeterli tampon hematomu önleyecektir. Sadece DİK veya fibrinolizisi olan hastalarda parasentez kontrendikedir, diğer durumlarda profilaksiye gerek yoktur. Torasentez için koagülopati düzeltilmelidir.

Kaynaklar

1. Collier J, Bassendine M. How to respond to abnormal liver function tests. *Clin Med* 2002; 2: 406-9.
2. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ* 2005; 172: 367-79.
3. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician* 2005;71:1105-10.
4. Knight JA. Liver function tests: their role in the diagnosis of hepatobiliary diseases. *J Infus Nurs* 2005; 28: 108-17.
5. Limdi JK, Hyde GM. Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgrad Med J* 2003; 79: 307-12.
6. Tarantino G. From bed to bench: which attitude towards the laboratory liver tests should health care practitioners strike? *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4917-23.
7. Johnston DE. Special considerations in interpreting liver function tests. *Am Fam Physician* 1999; 59: 2223-30.
8. Kujovich JL. Hemostatic defects in end stage liver disease. *Crit Care Clin* 2005; 21: 563-87.
9. Warnaar N, Lisman T, Porte RJ. The two tales of coagulation in liver transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2008; 13: 298-303.
10. Lisman T, Leebeek FW. Hemostatic alterations in liver disease: a review on pathophysiology, clinical consequences, and treatment. *Dig Surg* 2007; 24: 250-8.
11. Thachil J. Relevance of clotting tests in liver disease. *Postgrad Med J* 2008; 84: 177-81.
12. Tripodi A. Tests of coagulation in liver disease. *Clin Liver Dis* 2009; 13: 55-61.
13. Monroe DM, Hoffman M. The coagulation cascade in cirrhosis. *Clin Liver Dis* 2009; 13: 1-9.
14. Tripodi A. Hemostasis abnormalities in liver cirrhosis: myth or reality? *Pol Arch Med Wewn* 2008; 118: 445-8.



Patolog gözüyle karaciğer ve klinisyenle diyalog

Dr. Funda Yılmaz

Karaciğer Biyopsisi

Karaciğer biyopsisi, perkutan, interkostal yolla, laparoskopi ile, açık cerrahi ile veya transvenöz (en çok transjuguler) yolla alınabilir. Kullanılan iğne tipi aspirasyon iğnesi (ör: Menghini tipi) veya kesici iğne tipinde (Vim-silverman iğnesi veya "tru-cut" iğnesi) olabilir. Karaciğer biyopsisi yapılacak bir hastada tekniğin ve kullanılacak olan iğnenin tipi kuşkuyla lezyonun fokal yada diffüz oluşuna ve klasik perkutan yolun uygulanması için kontrendikasyon olup olmamasına göre değişir. Transjuguler veya diğer transvenöz yollarla alınan biyopsiler, biyopsiyi yapan merkezin deneyimine de büyük oranda bağlı olmakla birlikte genellikle daha az parankimal doku örneklenmesi ile sonuçlanır.

Cerrahi insizyonel biyopsiler bir kitlenin örneklenmesi amacı ile yapılıyorsa, hem kitleyi hem de kitle dışı karaciğer dokusunu içerecek şekilde örnek alınması idealdir. Yine cerrahi insizyonel biyopsiler eğer karaciğeri diffüz olarak tutan bir hastalığın ortaya konulması amacı ile yapılıyorsa, sadece kapsül altı bölgeden alınan örnek yeterli olmayabilir: Kapsül altı bölge, tüm karaciğer dokusundaki değişiklikleri doğru yansıtmayabilir, örneğin karaciğerin daha derin kısımlarında minimal değişiklikler bulunurken, daha yüzeyde kapsül altında fibroz (subkapsüler fibroz) bulunabilir. Bu nedenle, örneğin portal hipertansiyon nedeniyle şant operasyonu sırasında karaciğer biyopsisi yapıldığında subkapsüler bölgeden bir kama biyopsinin yanı sıra daha derinden bir iğne biyopsisi karaciğerdeki patoloji konusunda daha çok bilgi verecektir. Cerrahi biyopsilerin alınması sırasında koterizasyon dokuda yaklaşık 2-3 mm'lik bir alanda artefakt oluşturacağı için özellikle fokal lezyonlar çıkarılırken artefaktın lezyonu deforme etmemesine dikkat edilmelidir.

Karaciğer Biyopsisinin Patoloji Laboratuvarına Gönderilmesi

Karaciğer ve kemik iliği transplantasyonu hariç tutulduğunda, pediatrik yaş grubu için karaciğer biyopsisinin temel endikasyonları doğumdan sonraki birkaç haftada konjuge hiperbilirübinemi, daha sonraki dönemde tümör tanısı ve daha büyük çocuklarda da karaciğer zedelenmesi, inflamasyon ve fibrozun değerlendirilmesidir. Çocukluk, özellikle erken bebeklik çağında kolestazla karakterli hastalıklar Tablo 1'de de görülebileceği gibi çok çeşitlidir.

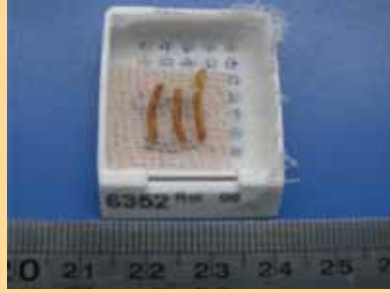
Tablo 1: Çocukluk, özellikle erken bebeklik çağında kolestazla karakterli hastalıklar

| |
|--|
| Safra kanallarının yapısal bozuklukları |
| Safra kanalı striktürleri |
| Ekstrahepatik biliyer atrezi (EHBA) |
| Koledok kisti |
| Caroli sendromu |
| Alagille sendromu |
| Neonatal enfeksiyonlar |
| Karbonhidrat metabolizma bozuklukları (Glikojen depo hastalığı, Tip IV, Galaktozemi, Fruktozemi) |
| Aminoasit metabolizma bozuklukları (Tirozinemi) |
| Glikolipid ve lipid metabolizma bozuklukları |
| (Niemann-Pick hastalığı, Tip A ve C, Hunter hastalığı, Hurler hastalığı, Wolman hastalığı) |
| Glikoprotein metabolizma bozuklukları (Gaucher hastalığı) |
| Metal depo hastalıkları (Neonatal hemokromatoz) |
| Peroksizomal bozukluklar (Zellweger sendromu) |
| Mitokondriyal sitopatiler |
| Herediter bilirübin metabolizma bozuklukları |
| Crigler-Najjar sendromu |
| Gilbert sendromu |
| Dubin-Johnson sendromu |
| Herediter safra oluşumu bozuklukları |
| Progressif familiyal intrahepatik kolestaz |
| Safra asit biyosentezi bozuklukları |
| Protein biyosentezi bozuklukları |
| α_1 -Antitripsin eksikliği |
| Kistik fibroz |
| Çeşitli tümörler |

Böylesi geniş bir tanı spektrumuna yönelik ayırıcı tanı yapılması gerektiğinden karaciğer biyopsisi yapılması planlandığında alınacak materyalin daha sonraki tüm işlemler için uygun bir biçimde patoloji laboratuvarına gönderilmesi gereklidir. Eğer moleküler çalışmalar yapılacaksa ve özellikle mRNA'nın korunması gerekiyorsa biyopsi alınır alınmaz hasta yatağı başında yeterli miktarda bir parçanın (2 cm uzunluğunda) kapalı bir tüpe konularak sıvı nitrojende hızla dondurulması gerekir. Eğer sitogenetik inceleme yapılması planlanıyorsa yaklaşık 5 mm'lik bir parçanın steril koşullarda kültür ortamına aktarılması önerilir. Elektron mikroskopik inceleme yapılabilmesi için yine 3 mm uzunluğunda bir parçanın biyopsi yapılır yapılmaz, glutaraldehid veya paraformaldehid içeren bir solüsyona konulması gerekmektedir. Dokuda lipidleri göstermek için (ör: mitokondriyal fonksiyon bozuklukları, lipid depo hastalıkları) alınan karaciğer biyopsi materyalinden yaklaşık 1 cm'lik bir parça serum fizyolojik veya doku tamponu ile ıslatılmış gazlı bez içinde hızla patoloji laboratuvarına gönderilmelidir. Bu 1 cm'lik parçanın 5 mm'si patoloji laboratuvarında hızla dondurulduktan sonra, dondurulmuş kesit elde edilerek yağ boyaları yapılmalı, kalan 5 mm ise, dokudaki glikojeni korumak amacı ile ve sistinozis gibi olguları

atlamamak için doku takibine % 100 alkolden başlatılarak işlemden geçirilmelidir. Bunların dışında dokunun ışık mikroskobunda incelenebilmesi için ideal tespit solüsyonu olan % 10'luk tamponlu formaline de en az 1 cm uzunluğunda bir parçanın konulması gerekmektedir. Genel kural olarak tüm materyallerde iyi bir doku tespiti elde etmek için materyalin doku hacminin 10-20 katı hacimde tespit solüsyonu içinde gönderilmesi gereklidir. Bu rutin uygulamanın dışında nadir metabolik hastalıklarda farklı tespit solüsyonları gerekebilir. Örneğin mukopolisakkaridozlarda Lindsay'in dioksan pikrat solüsyonu tercih edilir. Tüm bu işlemler sırasında unutulmaması gereken parçaların hiçbiri havada kurutulmamalıdır, kuru gazlı bez içinde gönderilmemelidir. Bazı laboratuvarlarda bulunan biyopsi süngerleri dokuda artefakt yarattığı için kullanılmamalıdır.

Patoloji laboratuvarına gönderilen karaciğer iğne biyopsi materyalinin boyutları ve parça sayısı kaydedildikten sonra tamamı doku takip kasetine alınır (Resim 1). Doku takip cihazında işlemden geçen biyopsi materyalleri parafin içine bloklanarak kesit elde edebilir hale getirilir (Resim 2). Bu sözü edilen doku takibi ve ardından yapılan bloklamada amaç dokudaki suyu çekip yerini parafinle doldurup (bir çeşit mumyalaştırma işlemi) sert bir ortama (parafin kalıba) gömmektir. Bu şekilde parafin kalıba gömülen iğne biyopsisi materyallerinden maksimum verimde değerlendirme yapmak için, ilk kesit işlemi sırasında hematoxilen-eozin (H-E), özel histokimyasal ve immunohistokimyasal incelemeler için yeterli sayıda seri kesit alınmalıdır (Resim 3). Kesitlerin bir kısmı boyanmadan saklanarak, ilk mikroskopik değerlendirmeden sonra gerekirse uygun boyalar ile boyanmalıdır. Özellikle granülom, safra duktusu hasarı gibi fokal lezyonların gözden kaçması bu seviyeli kesit alma işlemi ile büyük oranda önlenmektedir.



Resim 1: Karaciğer biyopsi materyali patoloji laboratuvarında boyutları ölçülüp özel numara verildikten sonra rutin doku takibine alınır.



Resim 2: Doku takip cihazında işlemden geçtikten sonra parafin içine gömülerek bloklanmış olan karaciğer biyopsi materyali.

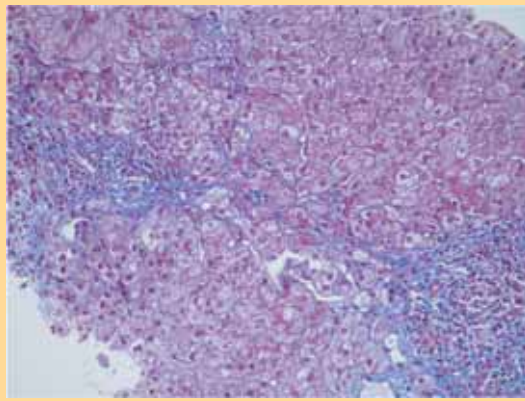


Resim 3: Parafin bloktan hazırlanan numaralı seri kesitler. Bu kesitlerden 1-5 ve 7 numaralılar hematoxilen ve eozin, 2,3 ve 4 numaralar histokimyasal boyalar, 6,7,8 ve 9 numaralar da immunohistokimyasal boyalar için ve yedek olarak kullanılır.

Karaciğer Biyopsi Materyallerinin Rutin İncelenmesinde H-E Yanı Sıra Uygulanan Boyalar

En Sık Uygulanan Histokimyasal Boyalar

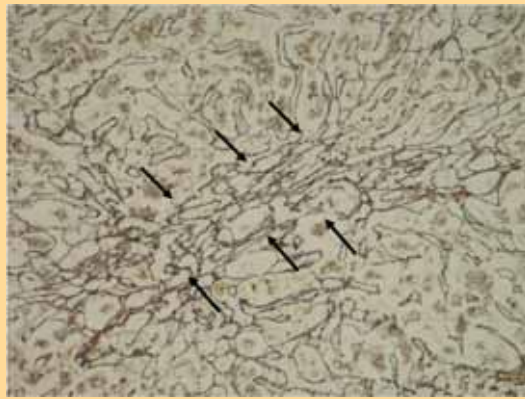
Masson Trikrom (en çok tercih edilen), *Van Giesson*, *Picro sirius red* boya ları: Kollagen lifleri boyayarak fibroz doku artımının değerlendirilmesini sağlar. *Masson Trikrom* boyası Tip 1 kollajeni boyar (Resim 4).



Resim 4: *Masson Trikrom* boyası ile mavi renkte boyanan Tip 1 kollajen (*Masson trikrom*, x 20)

Orcein ve *Viktoria mavisi* boya ları: Elastik lifleri ve bakıra eşlik eden proteini (metallothionein) gösterir. *Orcein* boyası ile boyanan elastik lifler fibroz alanlarında görülür ve bazen retikulum boyası ve *Masson trikrom*da pozitif boyanma verebilen post-nekrotik kollapstan ayırt etmede çok yardımcı olur.

Retikulum boyası: Karaciğer kordonlarının çevresindeki retikulum çatısını (Tip III kollajen) ortaya koyarak nekroz ve kollaps alanlarını, karaciğer hücre kordonlarındaki kalınlaşmanın ve rejenerasyon nodüllerinin ortaya konulmasına yardımcı olur (Resim 5).

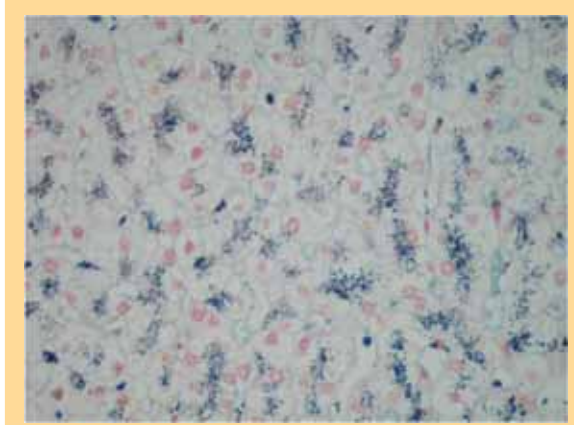


Resim 5: *Retikulum boyası* ile boyanan karaciğer kordonlarının çevresindeki retikulum çatısı (Tip III kollajen) ve okla işaretli nekroz ve kollaps alanı (*Gomori retikulum*, x10)

Periyodik asit Schiff (PAS): Kompleks karbonhidratları (glikojen dahil) ve safra duktuslarının bazal membranlarını, fibrini, Ekinokokların kütiküler membranını, amip ve patojen mantarları boyar.

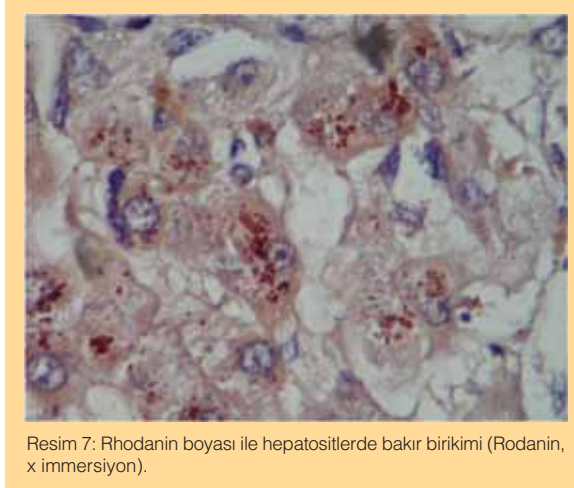
Diastazlı PAS boyası (dPAS): Glikojen dışındaki karbonhidratları (alfa-1 antitripsin globülleri dahil), lipofüsin pigmentini, Tip IV glikojenez, Lafora hastalığı ve siyanamide bağlı buzlu cam benzeri inklüzyonları parlak pembe renkte boyar.

Prusya mavisi: Demir birikimini gösterir (Resim 6).



Resim 6: Hepatosit sitoplazmalarında Prusya mavisi boyası ile mavi renkte izlenen demir birikimi (Prusya mavisi, x 40).

Rhodanin ve Rubenik asit: Bakır birikimini gösterir (Resim 7).



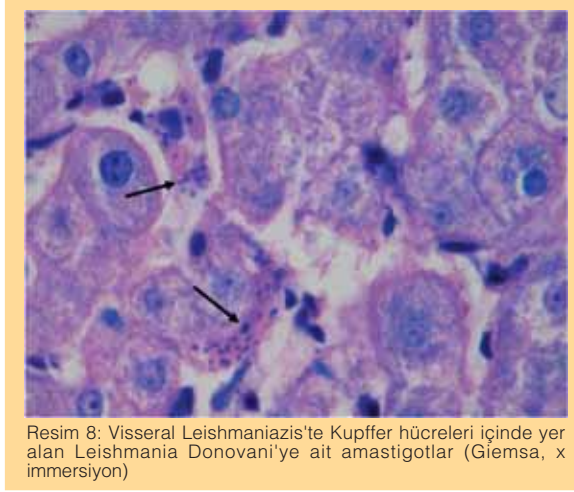
Resim 7: Rhodanin boyası ile hepatositlerde bakır birikimi (Rodanin, x immersiyon).

Fontana boyası: Lipofüsin ve Dubin-Johnson pigmentini boyar.

Erlıch Ziel Nielsen boyası: Mikobakterileri, Şistozoma yumurtalarını boyar.

Warthin-Starry boyası: Spiroket, leptospira ve kedi tırnağı hastalığı ve basile bağlı anjiyomatozisteki bartonellaları boyar.

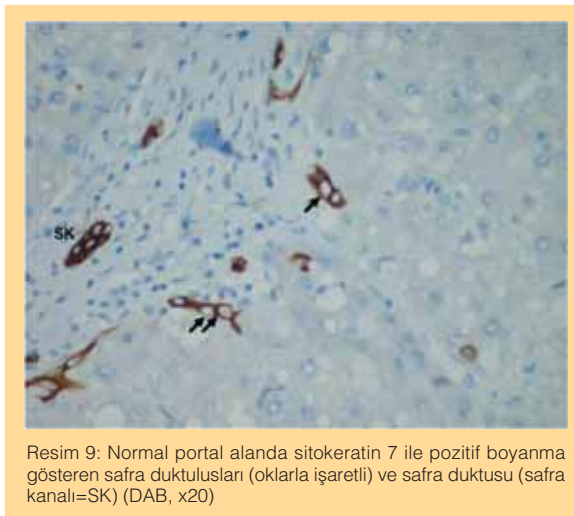
Giemsa boyası: Visseral Leishmaniazis'te Kupffer hücreleri ve bazen de hepatositler içinde yer alan Leishmania Donovanii'ye ait amastigotları, ayrıca kryptosporidiaları gösterir (Resim 8).



En Sık Uygulanan İmmunohistokimyasal Boyalar

Hepatosit belirleyicileri: Sitokeratin 8 ve sitokeratin 18 hem normal ve tümöral hepatositleri boyar. Hepatosit antikor (Hep Par 1): Hepatositlerde var olan fakat yapısı çok iyi tanımlanmamış bir antijeni belirler. Normal hepatositleri, benign ve malign hepatositleri boyar.

Biliyer hücreleri boyayan belirleyiciler: Sitokeratin 7 ve 19 safra duktuslarını ve duktuler metaplazi gösteren hepatositleri belirler (Resim 9). Safra duktus ve duktuluslarını döşeyen hücreler ayrıca sitokeratin 7, 8, 18 ve 19 ile poliklonal ve monoklonal karsinoembryonik antijen (CEA) ile ve Epitelyal Membran Antijeni (EMA) ile pozitif boyanma gösterirler.



Safra kanaliküllerini işaretleyen antikolar: CD10 ve poliklonal karsinoembryonik antijen antikoları, hepatositler arasındaki safra kanaliküllerinde bulunan, biliyer glikoprotein I ile çapraz reaksiyon verirler ve normal kanaliküller ile hepatosit kökenli tümörlerde oluşan kanalikülleri ortaya çıkarırlar.

Kupffer hücreleri CD68 ile pozitif boyanırlar. Normal sinüzoid endotelini döşeyen hücreler CD31 ile pozitif, CD34 ile negatif boyanırlar.

Bağ dokusunun immunohistokimyasal olarak gösterilmesi: Portal alanlardaki normal bağ dokusunun içinde ağırlıklı olarak Tip I ve V kollajen bulunur. Portal alanlarda Tip IV kollajen sadece safra duktuslarının bazal membranında ve damar duvarlarında bulunur. Santral ven (terminal hepatik venül) duvarları Tip I ve V kollajen ile boyanırken, Disse aralığındaki kollajen (retikulum lifleri) Tip III kollajen ile boyanma özelliği gösterir.

Mallory-Denk cisimleri ubiquitin (filamentöz liflerin yüzeyini kaplayan bir hücresel stres proteini) ve sitokeratinler ile pozitif boyanırlar.

Viral antijenlerin dokuda gösterilmesi: İmmünohistokimyasal olarak dokuda Hepatit B Virusü'nün (HBV), HBsAg, HBcAg, HBeAg, PreS1 ve HBxAg antijenlerinin gösterilmesi için gerekli antikolar bulunmaktadır. Delta hepatiti de dokuda immunohistokimyasal olarak gösterilebilir. Aktif enfeksiyonun tanısında önemlidir. Hepatit C Virusü'nün (HCV) dokuda gösterilebilmesi için birçok antijen tanımlanmıştır fakat bunlar yeterli sensitiviteye sahip değildir. Yakın zamanda HCV'nun zarfının E2 bölgesine karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikorun % 96.2 duyarlılık ve % 89.5 özgünlük ile dokuda virusun gösterilmesini sağladığı bildirilmektedir.

Dokuda immunohistokimyasal olarak gösterilebilen diğer viruslar; Hepatit A Virusü, Epstein Barr virusu, Sitomegalovirus, Adenovirus, Herpes Viruslarıdır.

Rutin Pratikte Karaciğer Biyopsisinin Pediatrik Olgularda Katkısı

- Neonatal dönemde konjuge hiperbilirübinemi nedenleri arasında ayırıcı tanıya tek başına veya diğer yöntemlerle yardımcı olmak.
- Tümör tanısını koymak
- Viral ve otoimmün hepatit, alkol dışı yağlı karaciğer hastalığında tanı, ayırıcı tanı ve hastalığının aktivite ve yaygınlığının belirlenmesi.

Neonatal Karaciğerin Özellikleri

Karaciğer ve portal sistem doğumdan sonra da büyümeye devam eder. Bu nedenle ilk yaşlarda karaciğerin periferinden alınan biyopsilerde fetal karaciğere ait görünüm bulunabilir. Karaciğer kordonları da 4 yaşına dek iki hepatosit kalınlığındadır, daha sonra tek hepatosit kalınlığına düşerler. Bu nedenle 4 yaş altında kordon kalınlığı ile siroz tanısı konulmaması gerekir. Yine ilk aylarda alınan biyopsilerde, hematopoietik hücreler ve hematopoez bulunur. Doğum sonrası 3 yaşa kadar karaciğer dokusunda, özellikle periportal hepatositlerde bakir ve bakıra eşlik eden protein ve hemosiderin granülleri bulunabilir. Bu durum fizyolojik kabul edilir ve zamanla kaybolur. Bu durum neonatal dönemde, kolanjiyopati veya demir depo hastalığı olarak yorumlanmamalıdır. Doğumda kendini karaciğer yetmezliği ile gösteren neonatal hemosideroziste ise hepatositlerde belirgin demir birikimi ve fibroz ile karakterlidir.

Neonatal dönemin bir diğer özelliği ise, ayrıca depo hastalıklarına bağlı bulguların (örneğin alfa-1 antitripsin globülleri) bu dönemde belirgin olmayışıdır, ilerleyen zamanla belirginleşir. Neonatal dönemde hepatositler değişik zedelenmelere multinükleer dev hücre oluşumu ile yanıt verirler. Bu nedenle nonspesifik reaktif bir değişiklik olarak kabul edilir. Neonatal kolestazla karakterli bir çocuğun karaciğerinde görülen histolojik neonatal spektrumunda lobül içi kolestaz, hepatosit nekrozu, intrahepatik hematopoez ve çok sayıda dev hücreler bulunur. Bu nonspesifik tablo, dev hücreli hepatit olarak kabul edilmemelidir, ekstrahepatik biliyer atrezi, alfa-1 antitripsin eksikliği gibi bir çok farklı durumda görülebilir.

Viral Hepatitlerde Hastalık Aktivite Derecesi ve Fibroz Evresinin Değerlendirilmesi

Akut hepatit normalde, karaciğer biyopsisi için bir endikasyon oluşturmaz fakat değişik nedenlerle akut hepatit geçiren hastalarda da karaciğer biyopsisi yapılmaktadır. Eğer yapılırsa karaciğer biyopsisi akut hepatitlerde tanı koyma veya tanıyı doğrulamayı, periportal nekroz veya köprüleşme nekrozu ile karakterli akut hepatit gibi kötü prognoz işaretlerini yani hastalığın şiddetinin belirlenmesini sağlar. En önemli işlevlerinden biri de akut hepatitin, akut alevlenme gösteren kronik hepatitten ayırt edilmesini sağlamasıdır. Biyopsi raporlarında morfolojik tanı (ör: akut hepatit, köprüleşme nekrozu ile karakterli akut hepatit vb.) ve eğer belirlenebilmişse etiyolojik tanı yazılır.

Kronik Viral Hepatitlerde ise Karaciğer Biyopsisi Şunları Sağlar:

- Kronik hepatitin tanısı ve etiyolojinin tanımlanması
- Eşlik eden diğer lezyonların tanımlanması (ör: steatoz, steatohepatit)
- Özellikle viral ve otoimmün hepatitlerde tedavi ve izlem sırasında ortaya çıkan akut alevlenmelerin belirlenmesi
- Hastalık aktivitesinin derecesinin (GRADE) belirlenmesi
- Fibrozun yaygınlığı, yapısal düzensizlik ve nodüleritenin (STAGE) evrelendirilmesi
- Bugün için patoloji raporlarında tanı (Kronik Hepatit), belirlenebilirse etiyolojisi (ör: Kronik Hepatit B), eşlik eden patoloji (ör: Kronik Hepatit B+Makrovesiküler steatoz) belirtilir.

Hastalık aktivitesinin derecesi (grade), portal inflamasyon, "interface" hepatit, lobül içi hasar ve inflamasyon ve bazen de konfluent nekrozun derecesi belirlenerek sayısal bir değer olarak yazılır. Fibrozun yaygınlığı, yapısal düzensizlik ve nodüleritenin evrelendirilmesi (stage) ise, hafif fibroz doku artımından siroza doğru ilerlemesi beklenen süreçte hastanın hangi noktada bulunduğu saptanması amacıyla yapılmaktadır. Bu prognostik önemi olan ve tedavinin düzenlenmesinde belirleyici olan bir bilgidir.

Kronik hepatitte hastalığın özellikle fibrozun (evre) belirlenmesinde, karaciğer biyopsisi bugün için mükemmel olmamakla birlikte en iyi yol olarak kabul edilmektedir. Son çalışmalara göre, kronik hepatitin derece ve evresinin, olduğundan düşük skorlamadan sağlıklı olarak değerlendirilebilmesi için toplam 2 cm uzunluğunda, 11 ile 15 portal alan içeren karaciğer dokusu alınması gerekmektedir. Kronik hepatitin aktivite derecesi ve evresinin belirlenmesi için geliştirilmiş çeşitli skorlama sistemleri vardır. Tüm dünyada en sık kullanılan skorların değerlendirdikleri parametreler ve verilen sayısal değerler Tablo 2'de verilmiştir. Temelde benzer parametreleri değerlendiren bu skorlar bunların gruplandırılmalarında ya da sayısal değerlere dönüştürülmesinde bir takım farklılıklar göstermektedir.

Tablo 2: Knodell, Metavir ve Ishak skorlarının değerlendirdikleri parametreler ve sayısal değerleri.

| KNODELL SKORU | ISHAK SKORU | METAVIR SKORU |
|---|--|--|
| Periportal +/- Köprüleşme nekrozu Yok = 0 Hafif = 1 Orta = 3 (portal alanların çevresinin %50'sinden azı) Belirgin = 4 (portal alanların çevresinin % 50'sinden fazlası) Orta derece = 5 (piecemeal + köprüleşme nekrozu) Belirgin = 6 (piecemeal+ köprüleşme nekrozu) Multilobüler nekroz = 10 | Periportal veya periseptal interface hepatit Yok = 0 Hafif = 1 (fokal, az sayıda portal alan) Hafif/orta = 2 (fokal, çoğu portal alanda) Orta = 3 (portal alan veya septaların % 50'den azı) Şiddetli = 4 (portal alan veya septaların % 50'den çoğu) | Piecemeal nekrozu Yok = 0 Hafif = 1 Orta = 2 Ağır = 3 |
| | Konfluent nekroz Yok = 0 Fokal konfluent nekroz = 1 Bazı alanlarda zon 3 nekroz = 2 Çoğu alanlarda zon 3 nekroz = 3 Zon 3 nekroz + nadir P-S köprüleşme = 4 Zon 3 nekroz + multipl P-S köprüleşme = 5 Panasiner veya multiasiner nekroz = 6 | |
| Lobül içi dejenerasyon ve fokal nekroz Yok = 0 Hafif = 1 (asidofil cisimler, balon dejeneresans ve/veya lobül yada nodüllerin 1/3'ünden azında dağınıkhepatosellüler nekroz) Orta = 3 (1/3-2/3) Belirgin = 4 (2/3'ten fazla) | Fokal nekroz, apoptoz ve fokal inflamasyon Yok = 0 10xBB'de 1 veya daha az = 1 10xBB'de 2-4 = 2 10xBB'de 5-10 = 3 10xBB'de 10'dan fazla = 4 | Lobüler nekroz Yok/hafif = 0 Orta = 1 Ağır = 2 |
| Portal yangı Yok = 0, Hafif = 1 (portal alanların 1/3'ünden azında serpilmiş yangısal hücreler) Orta = 3 (1/3-2/3 artmış yangısal infiltrasyon) Belirgin = 4 (2/3'ten fazlasında yoğun yangı hücreleri) | Portal inflamasyon Yok = 0 Hafif, bazı veya tüm portal alanlarda = 1 Orta, bazı veya tüm portal alanlarda = 2 Orta/belirgin, tüm portal alanlarda = 3 Belirgin, tüm portal alanlarda = 4 | |
| Fibrozis Yok = 0 Fibröz portal genişleme = 1 Köprüleşme fibroz = 3 Siroz = 4 | Yapısal değişiklik, fibroz ve siroz Yok = 0 Bazı portal alanlarda fibroz genişleme = 1 (kısa fibröz septa var veya yok) Çoğu portal alanlarda fibroz genişleme = 2 (kısa fibröz septa var veya yok) Çoğu portal alanlarda fibroz genişleme+ nadir portal-portal köprüleşme = 3 Portal fibröz ekspansiyon+ belirgin P-P veya P-S köprüleşme=4 Belirgin köprüleşme (P-P ve P-S) nadir nodül = 5 (inkomplet siroz) Siroz = 6 (muhtemelen veya kısmen) | Fibroz Yok = 0 Yıldızimsı genişleme septa yok = 1 Portal alan genişlemesi+ seyrek septa = 2 Çok septa, siroz yok = 3 Siroz = 4 |

Rutin pratikte kullanılacak olan skor sisteminin seçiminde klinisyen ve patoloğun birlikte benimsediği bir sistem seçilmeli ve kullanılan sistemdeki sayı ve terimlerin anlamını ilgili klinisyen de bilmeli ve doğru yorumlamalıdır. Rutin pratikte skorlar en çok aynı hastaya ait tedavi öncesi ve sonrası biyopsilerin değerlendirilmesinde yardımcı olmaktadır. Klinik çalışmalarda kullanılacak skor seçiminde ise ölçülen parametrelerin çalışmaya uygunluğu göz önüne alınmalı ve genel olarak tüm skorlar için önerilen "daha iyi uygulama kurallarına" klinik çalışmalara başlanmadan dikkat edilmelidir.

- Klinisyen ve patoloğun arasında bir anlaşmaya varılarak, yetersiz büyüklük ve kalitedeki biyopsilerin çalışmaya alınmaması,
- Histopatolojik değerlendirmeyi yapacak en az iki patoloğun çalışmada bulunması,
- Çalışmaya başlamadan önce histopatolojik değerlendirmeyi yapacak patoloğların kriterlerin tanımlanmasında fikir birliğine varması,
- Çalışmadaki tüm biyopsilerin fazla zaman aralığına yaymadan kısa sürede değerlendirilmesi (gözlemci içi değişkenliği azaltmak için),
- Gözlemci içi ve gözlemciler arası değişkenliğin mutlaka araştırılması.

Otoimmün Hepatitte Karaciğer Biyopsisi

Otoimmün hepatit (OİH), tanısı sadece histopatolojik verilere dayanılarak değilde karakteristik histopatolojik bulguların Uluslararası Otoimmün Hepatit Grubunun önerdiği uygun klinik ve laboratuvar kriterleri ile birlikte bulunması durumunda konur. Bu uluslararası panel otoimmün hepatitte tanı koymayı kolaylaştırıcı klinik ve histopatolojik parametreleri içeren bir skor sistemini 1993'te geliştirmiş, 1999'da gözden geçirmiştir.

Histolojik bulgular, Uluslararası Otoimmün Hepatit Grubu skorunun önemli komponentleridir. Bu skordaki OİH lehine olan bulgular (+) puan almakta, diğer karaciğer hastalıklarında görülen histopatolojik bulgular varsa bunlar da skorlanmakta fakat (-) puan verilmektedir. Bu bulgular ve aldıkları puanlar Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3: Uluslararası Otoimmün Hepatit Grubu skorundaki histopatolojik parametreler

| | |
|---|-----|
| İnterface hepatit | + 3 |
| Ağırlıklı olarak lenfoplazmositer infiltrat | + 1 |
| Hepatosit rozetleri oluşumu | + 1 |
| Yukarıdakilerin hiçbirinin olmaması | - 5 |
| Biliyer değişiklikler* | - 3 |
| Diğer değişiklikler** | - 3 |

*Biliyer değişiklikler: Primer Biliyer Siroz veya Primer Sklerozan Kolanjitte görülen safra duktusu hasarı (ör: granülatöz kolanjit, konsantrik periduktal fibroz, duktopeni, ve/veya biliyer "interface" aktivite: periportal duktuler reaksiyon + periportal hepatositlerde kolat stazı bulguları)

** Diğer değişiklikler: granülom, steatoz, bakır veya demir birikimi

Uluslararası Otoimmün Hepatit Grubu 2008 yılında OİH için tanı kriterlerinin daha basit bir skor tablosunda değerlendirilmesini önermişlerdir. Bu yeni skora göre histopatolojik bulgular Tablo 4'te verildiği şekilde OİH için tipik, OİH ile uyumlu ve OİH için atipik şeklinde kategorize edilmektedir. Yeni skora göre OİH için tipik histolojik bulguları olan olgulara 2 puan, OİH ile uyumlu bulguları olan olgulara 1 puan verilmektedir. Bu nedenle bu yeni skor sisteminin uygulanmasını isteyen merkezlerde patoloji raporlarında bu özelliklerin vurgulanması gerekmektedir.

Tablo 4: Basitleştirilmiş Uluslararası Otoimmün Hepatit Grubu Skorunda histopatolojik parametrelerin kategorizasyonu-2008

OIH için tipik histoloji (aşağıdaki tipik özelliklerin tümünün olması gerekir)

- Interface hepatit
- Portal alanlarda parankime uzanan lenfositler / lenfoplazmositer infiltrat
- Hepatosit rozetleri oluşumu
- Emperipolezis*

OİH ile uyumlu histoloji

- Lenfosit infiltrasyonu ile karakterli kronik hepatit
- Tipik OİH bulguları yok

OİH için atipik histoloji

- Yukarıdakilerin hiçbirinin olmaması farklı morfolojik özellikler (ör: steatohepatit)

*Interface hepatitte yangı hücrelerinin hepatositler ile yakın temasta olması (peripolezis) içlerinde olması (emperipolezis) olarak isimlendirilir. Emperipolezis kelime anlamı olarak da bir hücrenin daha büyük bir hücre içine penetrasyonu olarak kabul edilmektedir.

Alkol Dışı Yağlı Karaciğer Hastalığında Karaciğer Biyopsisi

Karaciğer biyopsisi basit yağlanma ve steatohepatiti ayırt etmek ve hastalığın skorlanması için bu hastaların izleminde gereklidir. Bulgular alkolik karaciğer hastalığındaki gibi zone 3'te başlar.

Alkol dışı steatohepatitte bulgular şu şekilde sınıflandırılmıştır:

- Steatohepatit tanısı koymak için mutlak bulunması gerekenler: steatoz, lökositlerin eşlik ettiği hafif mikst lobüler inflamasyon, zone 3'teki hepatositlerde balonlaşma,
- Genellikle görülebilen ama tanı için şart olmayanlar: zone 3'te perisinüzoidal fibroz, zone 1'de glikojenize nukleuslar, küçük lipogranülomlar, seyrek asidofilik cisimcikler,
- Bazen görülebilen ama tanı için şart olmayanlar: zone 3 hepatositlerde Mallory cisimleri, zone 1 hepatositlerde hafif Fe birikimi ve megamitokondri.

Hastalığın aktivite derecesini ve fibrozun evresini belirlemek için önerilmiş bir skor sistemi (Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı aktivite skoru) vardır ve Tablo 5'te verilmiştir. Buna göre steatoz (0-3), lobuler inflamasyon (0-3) ve hepatosit balonlaşması (0-2) toplam 8 puan üzerinden değerlendirilmektedir. Toplam skoru 5 veya 5'in üzerinde olan olguların NASH olarak kabul edilebileceği yazarlar tarafından vurgulanmıştır. Aynı makalede fibroz skoru için verilen sistem Tablo 6'da verilmiştir. Fibroz skoru adı geçen çalışmada genel skordan ayrı değerlendirilmektedir.

Tablo 5: Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı aktivite skoru

| Histolojik Bulgu | Skor | Grade: |
|---|------------------|--|
| Steatoz (küçük ve orta büyütmeye değerlendirilecek) | 0 1 2 3 | <%5 % 5-% 33 % 33-% 66 >% 66 |
| Lobüler inflamasyon Tüm inflamatuvar odakların global değerlendirilmesi | 0 1 2 3 | Yok <2 odak/200 x alan 2-4 odak/200 x alan >4 odak/200 x alan |
| Hepatosit balonlaşması | 0 1 2 | Yok Az balonlaşmış hücre Çok hücre/belirgin balonlaşma |

Tablo 6: Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı fibroz skoru

| | | |
|----------------|---|---|
| Fibroz (Stage) | 0 1 1A 1B 1C 2 3 4 | Yok 0 Perisinüzoidal veya periportal Hafif, zone 3, perisinüzoidal Orta, zone 3, perisinüzoidal Portal/periportal Perisinüzoidal ve portal/periportal Köprüleşme fibrozu Siroz |
|----------------|---|---|

Wilson Hastalığı

Wilson hastalığının karaciğerdeki morfolojik bulguları birikimin derecesine bağlı olarak, hafif derecede yağlı değişiklikten akut hepatite, kronik hepatitten siroza kadar değişkenlik gösterir; nadiren masif karaciğer nekrozu (fulminan hepatit) da görülür. Bu bulgular patognomonik olmadığı ve diğer hastalıklarda da görüldüğü için karaciğer biyopsisi genellikle Wilson hastalığı tanısını tek başına koydurmaz ama tanıyı destekleyebilir. Dokudaki bakır birikimi belirgin olduğunda, karaciğer biyopsilerinde "rhodanine" veya "rubeanic asit" yöntemleri ile bakırın boyanması mümkündür. Ayrıca orcein boyası ile bakır bağlayan protein (metallothionein) boyanır. Kesin tanı için karaciğer dokusunda bakır miktarı tayini veya genetik defektin gösterilmesi gerekir.

Demir Aşırı Birikimi (Hemosideroz ve Hemokromatoz)

Hemosideroz dokularda gösterilebilen demir birikimi demektir. Demir parankimal dokularda (karaciğer, pankreas, miyokard, endokrin bezler) ve sinoviyal eklemleri döşeyen dokularda,

ferritin ve hemosiderin olarak birikir. Normal koşullarda, hepatosit ve makrofajlar 0.5-1 gr demir depolarlar. En önemli depo mekanizması ferritindir. Hepatosit ve makrofajlarda depo edilmiş demirin mobilize edilmesi ihtiyaca ve depo ve eritroid düzenleyicilere yanıt olarak gerçekleşir. Hücre içinde fazla demir birikimi, özellikle oksijen ile solüsyon halinde olduğunda serbest radikal hasarı yoluyla DNA, protein ve membran zedelenmesine neden olur.

İnsanda aşırı demir birikiminin klasik örneği HFE geni ile ilişkili herediter hemokromatozistir, fakat bugün birçok farklı durumun da patolojik demir birikimine yol açtığı gösterilmiştir. Karaciğerde demir birikimi görülen durumlar Tablo 7'de verilmiştir.

Dokuda demir birikimini göstermede en sık kullanılan yol *Perls boyası*dır. Potasyum ferrosiyaniit ve hidroklorik asit, ferik bileşikler ferritin ve hemosiderin ile *Prusya mavisini reaksiyonu* verir. Bu yöntem ferröz formunu göstermez. Hücre sitoplazmasına dağılmış halde bulunan ferritin sitoplazmaya toz halinde diffüz mavimsi bir renk verirken, yoğun *parlak mavi* renkte mavi granüller ise, demir yüklü lizozomlarda birlikte sıkıca paketlenmiş halde olan ferritin ve hemosiderini gösterir. Perls boyası değerlendirilirken hem demir birikiminin yaygınlığı (derecesi veya miktarı), hem de karaciğer içindeki farklı hücre tiplerinde dağılımı (hepatositler, Kupffer hücreleri, portal makrofajlar, safra duktusu hücreleri, portal ven endotel hücreleri) değerlendirilmelidir. Tirmann Schmeltzer boyası ise hem ferrik hem de ferröz formlarını gösterir. Karaciğerin demir içeriği biyokimyasal olarak da saptanabilir; normal düzey karaciğerin kuru ağırlığı için 1800 µg/gramdır.

Tablo 7: Karaciğerde demir birikimi görülen durumlar *

Primer/herediter hemokromatoz

Hemokromatoz Tip 1

HFE-ile birlikte olan (hemokromatoz geni) (hepatositte perikanaliküler)

- C282Y homozigot
- C282Y heterozigot

Juvenil hemakromatoz (hemakomatoz Tip 2)

TFR geni-ile birlikte olan (hemakomatoz Tip 3)

Ferroportin hastalığı (hemakomatoz tip 4) (Kupffer hücreleri ve makrofajlarda) (hepatositlerde)

Neonatal hemokromatoz (hepatositler)

Non-HFE hemokromatoz (hemakomatoz Tip 5)

Afrika/Amerika demir aşırı birikimi (Kupffer hücreleri ve makrofajlarda) (hepatositlerde)

Primer/Kalıtısal demir denge/dağılım bozuklukları

Atransferrinemi

Aserüloplazminemi

Sekonder/kazanılmış demir aşırı birikimi (sinusoid endoteli, Kupffer hücreleri, makrofajlar)

Anemiler

Talassemi major

Sideroblastik anemi

Profiria kutanea tarda

Parenteral demir aşırı yüklemesi

İnflamasyon anemisi

Hemosiderozis ve Hemokromatoziste Karaciğer Biyopsisinin Yeri

- Tanının konulması ve karaciğerde demir birikiminin gösterilmesi,
- Boyanabilen demir miktarının derecesinin belirlenmesi,
- Parankimde farklı hücre tiplerindeki demir birikiminin gösterilerek etiyojijiyi belirlemede yardımcı olması,
- Eşlik eden başka bir hastalığın varlığını ortaya konması,
- Fibrozun evrelemesi.

HFE geni ile ilişkili herediter hemokromatoz ve diğer genotip tayinlerinin olanaklı olması, serum demir düzeylerinin aşırı demir birikimi ile iyi korelasyon göstermesi, manyetik rezonans temelli görüntülemenin aşırı demir birikiminin değerlendirilmesinde yardımcı olması, hemokromatozda karaciğer biyopsisinin değerinin sorgulanmasına neden olmuştur. Bugün için yine de, genotip tayini yapılamayan veya klinik bulguları tam oturmamış olgularda karaciğer biyopsisi tanıyı doğrulamada yardımcıdır, fibrozun evrelenmesinde ise hala daha altın standarttır. Bugün için demir boyasının rutin olarak, tüm karaciğer biyopsilerinde yapılması genel kabul görmüştür. Bu, hemokromatoz veya hemosideroz düşünülmeyen diğer kronik karaciğer hastalıklarında da demir birikiminin gösterilmesi açısından önemlidir. Karaciğerde boyanabilen demir miktarının derecelendirilmesi için çeşitli sistemler önerilmiştir.

Kaynaklar

1. Goodman ZG, Ishak KG. Medical diseases of the Liver. In: Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology. Silverberg SG, Delellis RA, Frable WJ, LiVolsi VA, Wick MR. Eds. Churchill Livingstone Elsevier, China, 4th edition, 2006: 1467- 1526.
2. Scheuer PJ, Maggi G. Hepatic fibrosis and collapse: histological distinction by orcein staining. Histopathology 1980; 4: 487-90.
3. Cellular and molecular diagnostic techniques. Geller SA, Pitman MB, Nichols WS. In. Burt AD, Portmann BC, Ferrel LD. editörler. MacSween's Pathology of the liver. 5. Baskı , China: Churchill Livingstone-Elsevier; 2007, s:119-46.
4. Van Eyken P, Sciot R, Van Damme B, *et al.* Keratin immunohistochemistry in normal human liver. Cytokeratin pattern of hepatocytes, bile ducts and acinar gradient. Virchows Archiv A, Pathological Anatomy & Histopathology. 1987; 412: 63-72.
5. Wennenberg AE, Nalesnik MA, Coleman WB. Hepatocyte parafin 1: a monoclonal antibody that reacts with hepatocytes and can be used for differential diagnosis of hepatic tumors. Am J Pathol 1993; 143: 1050-54.
6. Vyberg M, Leth P. Ubiquitin: an immunohistochemical marker of Mallory bodies and alcoholic liver disease. APMIS Suppl 1991; 23: 46-52.
7. Gerber MA, Thung SN. The diagnostic value of immunohistochemical demonstration of hepatitis viral antigens in liver. Human Pathol 1987; 18: 771-74.
8. Wang WL, London WT, Lega L *et al.* HBxAg in the liver from carrier patients with chronic hepatitis and cirrhosis. Hepatology 1991; 14: 29-37.
9. Duclos-Valée JC, Emile JF, Rifai K, *et al.* Intense isolated expression with preS1 (large protein) antibodies in the liver graft associated with severe acute hepatitis B reactivation. J Hepatol 2001; 34: 962.
10. Verslype C, Nevens F, Depla E, *et al.* Validation of immunohistochemical staining with the monoclonal antibody 17H10 in liver biopsies for the diagnosis of chronic hepatitis C. Hepatology 2000; 32: 213.
11. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, *et al.* Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. J Hepatol 2003;39:239-44.
12. Rousselet MC, Michalak S, Dupré F, *et al.* Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. Hepatology 2005;41:257-64.
13. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, *et al.* Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. Hepatology 1981; 1: 431-35.
14. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, *et al.* Histologic grading and staging of chronic hepatitis. J Hepatol 1995; 22: 696-99.

-
15. Bedossa P, Poynard T and The French METAVIR Cooperative study group. An algorithm for grading activity in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996; 24: 289-93.
 16. Scheuer PJ. Scoring of liver biopsies: are we doing right? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 1141-43.
 17. Bedossa P, Bioulac-Sage P, Callard P, *et al.* Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994; 20: 15-20.
 18. Johnson PJ, McFarlane IG, Alvarez F, *et al.* Meeting report. International Autoimmune Hepatitis Group: *Hepatology* 1993; 18: 998-1005.
 19. Alvarez F, Berg PA, Bianchin FB, *et al.* International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-38.
 20. Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, *et al.* Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2008; 48(1):169-76.
 21. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: Definition and pathology. *Semin Liv Dis* 2001; 21: 3-16.
 22. Brunt EM, Neuschwander BA, Oliver D. *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: Histologic features and clinical correlations with 30 blinded biopsy specimens. *Human Pathol* 2004; 35: 1070-82.
 23. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, *et al.* Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41: 1313-21.
 24. Richter GW. The iron loaded cell- the cytopathology of iron storage. *Am J Pathol* 1978; 91: 362-404.
 25. Turlin B, Deugnier Y. Evaluation and interpretation of iron in the liver. *Semin Diagn Pathol* 1998; 15: 237-45.
 26. Nuttal KL, Palaty J, Lockitch G. Reference limits for copper and iron in liver biopsies. *Ann Clin Lab Sci* 2003; 33: 443-50.
 27. Portmann BC, Thompson RJ, Roberts EA, Paterson AC. Genetic and Metabolic Liver Disease. In: Burt AD, Portmann BC, Ferrel LD, editors. *MacSween's Pathology of the Liver*. 5th ed. China: Churchill Livingstone Elsevier; 2007. p.198-326.
 28. Pietrangelo A. Non invasive assesment of hepatic iron overload: are we finally there? *J Hepatol* 2005; 42: 153-4.
 29. Searle I, Legget BA, Crawford DHG, *et al.* Iron Storage Diseases. In: MacSween RNM, Burt AD, Portmann BC, Ihsak KG, Scheuer PJ, Anthony PP, editors. *Pathology of the liver*. 4th ed. London: Churchill Livingstone; 2002. p. 257-72.)