

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİROZ VAKALARININ LAENNEC SKORLAMA SİSTEMİNE
GÖRE YENİDEN SINIFLANDIRILMASI, HİSTOLOJİK
PROGRESYON BELİRTEÇLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE
SİROZ ZEMİNİNDE GELİŞEN PREKANSERÖZ
LEZYONLARIN VE HEPATOSELLÜLER KARSİNOMUN
GLUTAMİN SENTETAZ VE HSP 70 BELİRTEÇLERİ İLE
KÖKENİNİN VE GELİŞİM PATERNİNİN ORTAYA KONMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. AYŞE ARMUTLU**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. GÜLEN AKYOL**

**ANKARA
NİSAN 2014**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİROZ VAKALARININ LAENNEC SKORLAMA SİSTEMİNE
GÖRE YENİDEN SINIFLANDIRILMASI, HİSTOLOJİK
PROGRESYON BELİRTEÇLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE
SİROZ ZEMİNİNDE GELİŞEN PREKANSERÖZ
LEZYONLARIN VE HEPATOSELLÜLER KARSİNOMUN
GLUTAMİN SENTETAZ VE HSP 70 BELİRTEÇLERİ İLE
KÖKENİNİN VE GELİŞİM PATERNİNİN ORTAYA
KONMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. AYŞE ARMUTLU**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. GÜLEN AKYOL**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
01/2012-52 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
NİSAN 2014**

Babama...

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi, deneyim ve destekleri ile eğitimimde büyük katkıları olan, tez danışmanım Prof. Dr. Gülen Akyol'a; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Aylar Poyraz'a ve çok değerli hocalarım Prof. Dr. Ömer Uluoğlu, Prof Dr. Leyla Memiş, Prof Dr. Ayşe Dursun, Prof Dr. Nalan Akyürek, Prof Dr. Özlem Erdem, Doç. Dr. İpek Işık Gönül, Doç Dr. Güldal Yılmaz, Yrd. Doç. Dr. Özgür Ekinici ve Yrd. Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün'e; tezimin hazırlanmasında emeği geçen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı teknisyenlerinden Ülker Kaplan, İlknur Gündüz ve tüm laboratuvar personeline; asistanlığım süresince kendileri ile birlikte çalışmaktan son derece keyif aldığım sevgili araştırma görevlisi arkadaşlarıma; ve bana her konuda destek olan, beni anlayan annem ve babam Fatma-Mehmet Ali Helvacı'ya, ablam Sevda Helvacı'ya ve eşim Hakan Armutlu'ya sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ayşe (Helvacı) ARMUTLU

Ankara, 2014

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR	v
TABLO, GRAFİK, ŞEMA VE RESİMLER.....	vi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Siroz Histopatolojisi / Patogenezi.....	3
2.1.1. Karaciğer Mikroanatomisi, Zedelenmesi ve Rejenerasyon	4
2.1.2. Fibrozis / Fibroenez	7
2.1.3. Vasküler değişiklikler / yeniden yapılanma	10
2.1.4.Siroz / Fibrozis regresyonu	13
2.2.Siroz Morfolojisi.....	15
2.3.Siroz Kliniği.....	21
2.4.Siroz tanısında kullanılan fibrozis skorlama sistemleri	22
2.4.1.İSHAKskorlama sistemi	22
2.4.2.Scheuer /Batts-Ludwig /Metavir fibrozis skorlama sistemleri	23
2.4.3.Brunst 1999 ve Kleiner 2005 skorlama sistemleri.....	24
2.4.4.Laennec fibrozis skorlama sistemi	25
2.5.Siroz zemininde gelişen preneoplastik lezyonlar	28
2.5.1.Displastik fokus (displastik odak).....	31
2.5.2.Displastik nodüller (Düşük dereceli ve Yüksek dereceli);.....	32
2.5.3.Küçük Hepatosellüler Karsinom (<2 cm nodüller).....	35

2.5.4.HSK Tanı Kriterleri	36
2.6.Kullanılan immünhistokimyasal belirteçler.....	39
2.6.1.Glutamin Sentetaz	39
2.6.2.Heat Shock Protein-70 (HSP-70).....	40
3.GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1.Vakaların Seçilmesi	41
3.2.Morfolojik Parametreler	42
3.3.İmmünhistokimyasal Boyama	45
3.4.İmmünhistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi:.....	48
3.5.İstatistiksel Analiz	49
4.BULGULAR	50
4.1.Hastaların demografik özellikleri ve histolojik parametrelerin dağılımı.....	50
4.2.Siroz zemininde gelişen nodüler lezyonlar ve nodül saptanan hastaların demografik özellikleri.....	73
4.3.Preneoplastik lezyonlar ve hepatosellüler karsinomda Glutamin sentetaz ve HSP 70 immünhistokimyasal boyama sonuçları	76
5.TARTIŞMA.....	89
6.SONUÇLAR	109
7.KAYNAKLAR.....	113
8.ÖZET.....	119
9.SUMMARY	121
10.ÖZGEÇMİŞ.....	123

KISALTMALAR

LFS: Laennec fibrozis skoru

HSK: Hepatosellüler karsinom

PHT: Portal hipertansiyon

HSH: Hepatik stellat hücre

HPH: Hepatik progenitör hücre

DA: Disse aralığı

ESM: Ekstrasellüler matriks

MMP: Matriks metalloproteinaz

TIMP: “Tissue İnhibitor” matriks metalloproteinaz

ET-1: Endotelin 1

NO: Nitrik oksit

BM: Bazal membran

HIF-1: “Hipoxia inducible transcription factor 1”

PE: Parankimal ekstinksiyon

PEL: Parankimal ekstinksiyon lezyonu

NİA: Nekroinflamatuvar aktivite

İSS: İnkomplet septal siroz

SN: Sirotik nodül

MRN: Makrorejeneratif nodül

DO: Displastik odak

DN: Displastik nodül

DDDN: Düşük dereceli displastik nodül

YDDN: Yüksek dereceli displastik nodül

KHD: Küçük hücre değişikliği

BHD: Büyük hücre değişikliği

GS: Glutamin sentetaz

HSP 70: Heat shock protein 70

TABLO, GRAFİK, ŞEMA VE RESİMLER

1-TABLolar

Tablo 1: İSHAK fibrozis skollama sistemi, 1995

Tablo 2: Metavir skollama sistemi, 1996

Tablo 3: Brunt skollama sistemi, 1999

Tablo 4: Kleiner skollama sistemi, 2005

Tablo 5: Laennec fibrozis skollama sistemi 2000, 2011

Tablo 6: Laennec scoring system for staging fibrosis in liver biopsies (1)Kim MY, Journal of Hepatology 2011

Tablo 7: Siroz hastalarının genel demografik özellikleri

Tablo 8: Siroz olgularında histolojik parametrelerin genel dağılımı

Tablo 9: Laennec fibrozis skorlarının rezeksiyon tiplerine göre dağılımı

Tablo 10: Histolojik parametrelerin etyolojiye göre dağılımı

Tablo 11: Laennec fibrozis skorunun klinik bulgulara göre dağılımı

Tablo 12: Laennec fibrozis skorunun evre ile ilişkisi

Tablo 13: Nodül içi NİA derecesinin klinik bulgulara göre dağılımı

Tablo 14: İnflamasyon derecesinin klinik bulgulara göre dağılımı

Tablo 15: İnterfaz derecesinin klinik bulgulara göre dağılımı

Tablo 16: Histolojik parametrelerin klinik bulgularla ilişkisini gösteren Spearmen korelasyon katsayıları

Tablo 17: Nodüler lezyonların nodül çapına göre dağılımı

Tablo 18: Nodüler lezyonların etyolojiye göre dağılımı

Tablo 19: Glutamin Sentetaz boyanmasının klinik ve histolojik bulgulara göre dağılımı

Tablo 20: HSP 70 sitoplazmik boyanmasının klinik ve histolojik bulgulara göre dağılımı

Tablo 21: HSP 70 nükleer boyanmasının klinik ve histolojik bulgulara göre dağılımı

Tablo 22: HSP 70 sitoplazmik ve nükleer her ikisinin de pozitif olduğu vakaların nodül tiplerine göre ayrıntılı sonuçları

2-GRAFİKLER

Grafik 1: Siroz vakalarının etyolojiye göre dağılımı

Grafik 2: Laennec Fibrozis Skorlarının genel dağılımı

Grafik 3: Laennec Fibrozis Skorlarının etyolojiye göre dağılımı

Grafik 4: Laennec fibrozis skoru 5 grup ile asit arasındaki ilişki

Grafik 5: Laennec fibrozis skoru 3 grup ile asit arasındaki ilişki

Grafik 6: Laennec fibrozis skoru 5 grup ile varis arasındaki ilişki

Grafik 7: Laennec fibrozis skoru 3 grup ile varis arasındaki ilişki

Grafik 8: Laennec fibrozis skoru 5 grup ile kanama arasındaki ilişki

Grafik 9: Laennec fibrozis skoru 3 grup ile kanama arasındaki ilişki

Grafik 10: Laennec fibrozis skoru 5 grup ile dalak boyutu arasındaki ilişki

Grafik 11: Laennec fibrozis skoru 3 grup ile dalak boyutu arasındaki ilişki

Grafik 12: LFS 5 grup ve LFS 3 grubun evre ile karşılaştırmalı ilişkisi

Grafik 13: Nodül içi NİA ile Evre arasındaki ilişki

Grafik 14: Nodül içi NİA ile Asit arasındaki ilişki

Grafik 15: Nodül içi NİA ile dalak boyutu arasındaki ilişki

Grafik 16: Nodül içi NİA ile kollateral varlığı arasındaki ilişki

Grafik 17: GS boyanmasının nodül tiplerine göre dağılımı

Grafik 18: GS boyanmasının HSK derecelerine göre dağılımı

Grafik 19: HSP 70 sitoplazmik boyanmasının nodül tiplerine göre dağılımı

Grafik 20: HSP 70 nükleer boyanmasının nodül tiplerine göre dağılımı

3-ŞEMALAR

Şema 1: Hepatokarsinogenez sürecinde karşımıza çıkan preneoplastik lezyonlar

Şema 2: Sirotik karaciğerde saptanan nodüler lezyonlara yaklaşım algoritması

4-RESİMLER

Resim 1 ve 2: “Lobül” ve “asinus” tanımlarının şematik gösterimi ve mikroskobik kesitte zonların dağılımı

Resim 3: Karaciğer mikroanatomisinin ve hücre lokalizasyonlarının şematik gösterimi

Resim 4: Tirozinemi zemininde mikronodüler siroz, hepatektomi materyali.

Resim 5: HBV zemininde makronodüler siroz, hepatektomi materyali.

Resim 6: F4A, F4B ve F4C Laennec fibrozis skorlarına örnekler

Resim 7: İnternal kontrol olarak Glutamin sentetaz ve HSP 70 boyanması.

Resim 8: Tirozinemi zemininde erken HSK ve Yüksek Dereceli DN ve HBV zemininde erken HSK ve ileri HSK vakalarının makroskopik görünimleri

Resim 9: Büyük hücre değişikliği gösteren Displastik odak, Makrorejeneratif nodül, Düşük dereceli DN ve Sirotik nodüllerde GS boyanması.

Resim 10: Erken HSK zemininde gelişmiş ileri HSK vakasında ve iyi diferansiye bir HSK vakasında GS boyanma paternleri

Resim 11: Sirotik nodül, yüksek dereceli displastik nodül, Erken HSK ve iyi diferansiye HSK’da sitoplazmik HSP 70 boyanması.

Resim 12: HSP 70 nükleer boyanmasına benign ve malign gruptan örnekler

1.GİRİŞ

Siroz, etyolojisi çok çeşitli kronik karaciğer hastalıklarının son dönemidir. Histolojik olarak; normal lobüler yapının yerini fibröz septalarla çevrili rejeneratif nodüllerin alması ile karakterizedir (1-3). Siroz, basitçe karaciğer skarlaşmasının son evresi değil; bir tarafta progresif parankimal fibrozis, diğer yanda normal lobüler yapının ve vasküler çatının bozulması ile karakterli **dinamik** bir süreçtir (4).

İshak ve Metavir gibi güncel histolojik evreleme sistemleri sirozu tek bir kategoride değerlendirmektedir. Ancak sirozun klinik yansıması geniş bir spektrum göstermektedir. Son yıllarda karaciğer yetmezliği ve portal hipertansiyon kliniği gelişen hastalarda bazı belirleyici histolojik bulgular olduğu vurgulanmış ve sirozun histolojik alt sınıflamasına ihtiyaç duyulmuştur (1). Metavirden modifiye Laennec skorumla sistemi ile siroz, fibröz septa kalınlığı ve rejeneratif nodüllerin boyutuna göre hafif (4A:ince septumlar), orta (4B:en az iki kalın septum ve az sayıda küçük nodül) ve ağır (4C:en az bir çok kalın septum ve çok sayıda küçük nodül) şeklinde 3 sınıfa ayrılmaktadır (1, 3).

Siroz hastalarında ölüm riski, genel popülasyona göre, kompanse olanlarda 5 kat dekompanse olanlarda 10 kat artmıştır (5). Ölüm progresif karaciğer yetmezliği ve portal hipertansiyona ikincil gelişen komplikasyonlar yanısıra siroz zemininde gelişen hepatosellüler karsinoma (HSK) bağlıdır (6). Hepatokarsinogenez çok aşamalı bir süreçtir ve HSKların genelde displastik odak, displastik nodüller (düşük dereceli ve yüksek dereceli) ve erken HSK gibi

premaligın lezyonlar zemininde geliştiği gözlenmiştir (7). Displastik nodüller HSK gelişim riski açısından farklılık göstermektedir.

Bu çalışmada 2006-2014 yılları arasında siroz tanısı alan 43 total hepatektomi, kısmi rezeksiyon ve wedge biyopsi örnekleri retrospektif olarak değerlendirilerek Laennec fibrozis skorlaması (LFS) yapıldı. Vakalara ait tüm lamlar değerlendirilerek baskın skor ve eşlik ediyorsa ikinci skor verilerek 5 alt grup belirlendi (4A, 4A+4b, 4B, 4B+4c ve 4C). İnflamasyon, interfaz ve nodül içi nekroinflamatuvar aktivite bulguları yeniden derecelendirildi. LFS ve histolojik parametrelerle, hastaların klinik evresi (asit, varis, kanama durumu) ve Doppler Ultrasonografi (USG) verileri (portal ven çapı, splenik ven çapı, kollateral varlığı, karaciğer ve dalak boyutu) ile korelasyon Mann Whitney testi, Spearman korelasyonu ve Ki-kare testleri ile araştırıldı.

Ayrıca siroz zemininde gelişmiş preneoplastik lezyonlar (displastik odak, düşük dereceli displastik nodül, yüksek dereceli displastik nodül ve erken hepatosellüler karsinom) belirlenerek, hücre siklusunda ve apoptoziste rol oynayan HSP-70 ve nitrojen metabolizmasında rol alan Glutamin Sentetaz belirteçleri ile ekspresyon profilleri araştırıldı. Böylece hepatosellüler karsinom gelişimi açısından yüksek risk taşıyan nodüllerin saptanması ve ölümcül seyreden hepatosellüler karsinomların erken evrede yakalanması hedeflenmektedir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Siroz Histopatolojisi / Patogenezi

“**Siroz**”, farklı etyolojisi olan kronik karaciğer hastalıklarının son dönemini anlatmak için kullanılan, Yunanca’dan türeyen nerdeyse 200 yıllık morfolojik bir terimdir (8).

“Siroz; normal karaciğer mimarisinin fibrozis ve anormal nodül oluşumları ile yeniden düzenlenmesi ile karakterli **diffüz** bir oluşumdur”(9).

“Siroz, basitçe karaciğer skarlaşmasının son evresi değil; bir tarafta progresif parankimal fibrozis, diğer yanda normal lobüler yapının ve vasküler çatının bozulması ile karakterli **dinamik** bir süreçtir.”

Ayrıca, “venöz yapılarda tromboz, obliterasyon ve rekanalizasyon; arteriovenöz şunt formasyonları ve sinüzoidal kapillarizasyon gibi vasküler anormalliklerin siroz patogenezinde çok önemli özellikler olduğu vurgulanmıştır.”

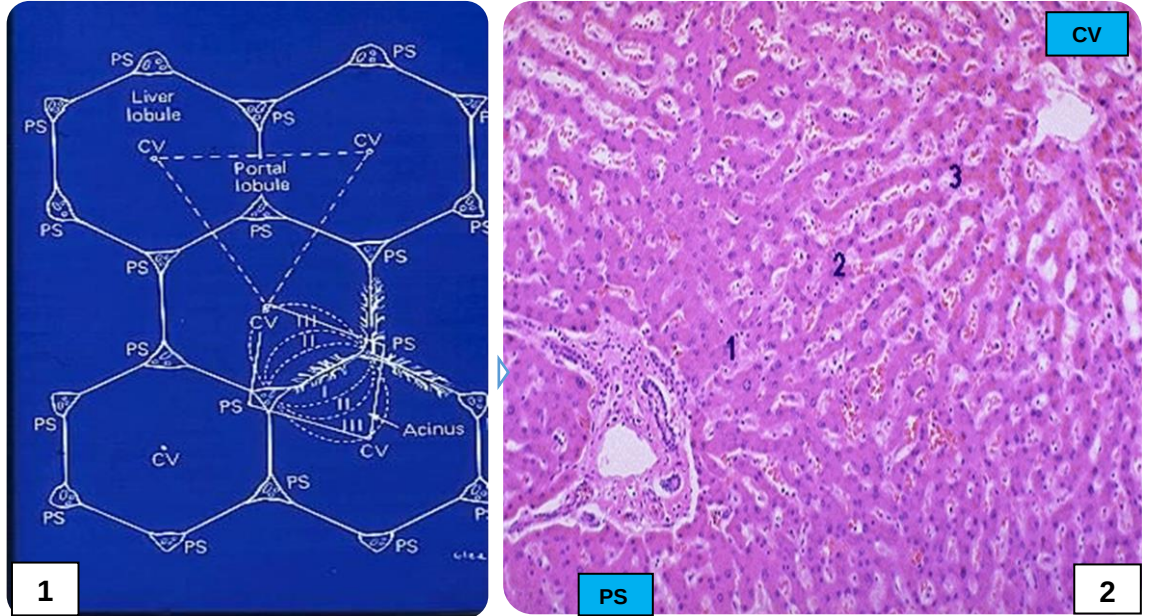
“Siroz; klinik olarak karaciğer yetmezliği ve portal hipertansiyona neden olan kronik **progresif** bir durumdur.”

Siroz patogenezi 4 ana başlıkta ele alınabilir;

- 1.Karaciğer zedelenmesi ve rejenerasyon
- 2.Fibrozis / Fibrojeniz
- 3.Vasküler değişiklikler / yeniden yapılanma
- 4.Siroz / Fibrozis regresyonu

2.1.1. Karaciğer Mikroanatomisi, Zedelenmesi ve Rejenerasyon

Karaciğer lobülü tanımı ilk olarak 1665 yılında Weppler tarafından yapılmış ve o günden itibaren karaciğerin kompleks mikroanatomisini ve fonksiyonlarını açıklamak için çok sayıda tanımlama öne sürülmüştür. Şu an karaciğer histopatolojisi, 1833 yılında Kiernan tarafından tanımlanan “klasik hegzagonal lobül” ve 1954 yılında Pappoport tarafından tanımlanan “asinus” kavramları üzerinde şekillenmektedir (10, 11). Son yıllarda ise (1979-1982) Matsumoto ve arkadaşları tarafından, vasküler yapılanmayı göz önünde tutarak “primer hepatik lobül” tanımı yapılmıştır (12, 13).



Resim 1 ve 2: “Lobül” ve “asinus” tanımlarının şematik gösterimi ve mikroskopik kesitte zonların dağılımı; Zon 1: periportal, Zon 3: perisantral (PS: portal alan; CV: santral ven)

“**Lobül**” ve “**Asinus**” tanımlamalarında portal traktus, hegzagonal lobülün köşelerinde yer alan, portal ven, hepatik arter ve safra duktusunu içeren mezenkimal alandır. Hegzagonal lobülün ortasında terminal hepatik ven (santral ven), köşelerinde 6 adet portal alan yer alır. Asinus ise taban köşelerinde portal traktüsün, tepe noktasında santral venin bulunduğu kabaca üçgen şeklindeki yapıdır(**Resim 1**). Hepatik asinus ise, karaciğer parankimi kanlanma oranına göre Zon 1, Zon 2 ve Zon 3 olmak üzere 3’e ayrılır (14)(**Resim 2**).

Karaciğer zedelenmesi, enfeksiyöz ajanlar, immünolojik faktörler, ilaç ve toksik maddeler, metabolik bozukluklar, dolaşım bozuklukları, genetik ve çevresel faktörler gibi pek çok nedenle gelişir. Zedelenmenin erken döneminde hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu, steatoz ve Mallory-Denk cisimcikleri gibi morfolojik değişiklikler görülürken, etkenin sürekliliği durumunda apoptozis ya da nekroz ile hücre ölümü gerçekleşir(4).

Zedelenme sonrası tamir, rejenerasyon ve / veya fibrozis ile gerçekleşir.

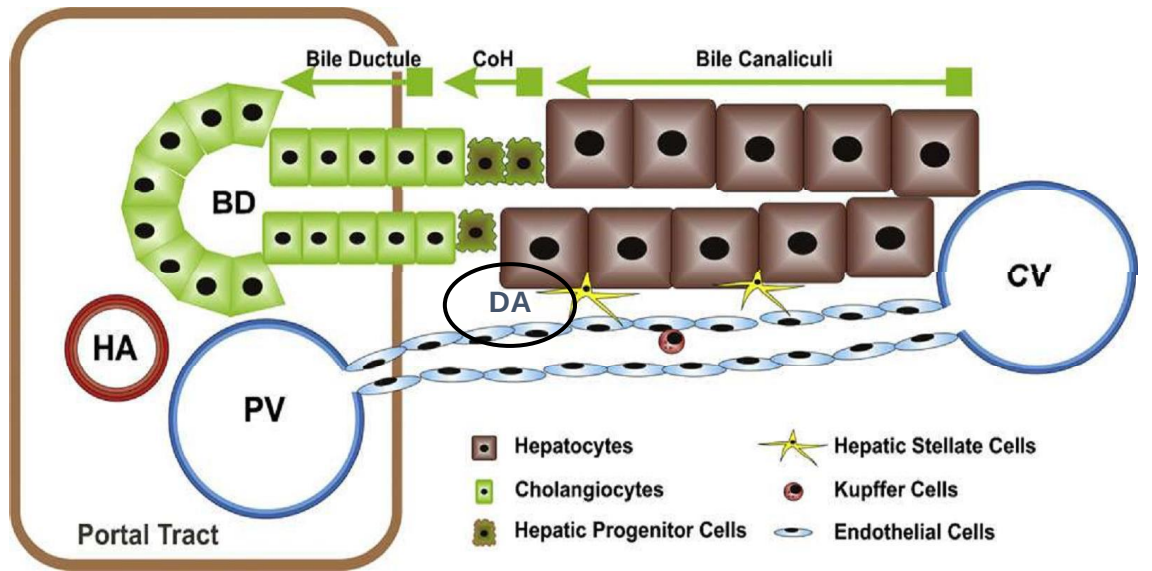
Rejenerasyon; iki farklı mekanizma ile sağlanır.

1. Matür hepatosit ve kolanjiosit proliferasyonu
2. Kök hücre / Hepatosit progenitör hücre proliferasyonu

Masif kayıpların olmadığı, hafif-orta düzeydeki hücre ölümlerinde ve parsiyel hepatektomi sonrası karaciğer parankiminin kaybı durumunda esas devreye giren matür hepatositlerin ve kolanjiositlerin çoğalmasıyla oluşan rejenerasyondur. Her bir hepatosit en az 69 replikasyon geçirebildiği için, yaygın hücre kaybı da olsa akut hasarda kök hücre / progenitör hücreye gereksinim

yoktur. Masif hücre kayıplarında, toksik hasarda ve hepatosit yaşlanmasına neden olan kronik hasarlarda, periportal bölgedeki progenitör/kök hücre proliferasyonu uyarılır (**Resim 3**). Kronik hepatitlerde progenitör hücre aktivasyonu, inflamasyonun derecesi, fibrozis düzeyi ve hastalığın evresi ile korelasyon göstermektedir (15-17).

Kök hücreler, yüksek proliferasyon kapasitesinin yanı sıra, farklı yönde (hepatosit, biliyer epitel) diferansiye olma yeteneğine sahip hücrelerdir. Kök hücreler; biliyer tip sitokeratinler (Keratin 7 ve Keratin 19) yanı sıra, OV6 ve OV1 gibi oval hücre belirteçleri ve CD117 (c-kit), CD90, CD133, EPCAM (Ber-EP4) ve NCAM (CD56) ekprese eder.



Resim 3: Karaciğer mikroanatomisinin ve hücre lokalizasyonlarının şematik gösterimi (PV:portal ven, CV:santral ven, HA:hepatik arter, BD:biliyer duktus, DA:Disse aralığı)

2.1.2. Fibrozis / Fibrojeniz

Fibrozis, tekrarlayan zedelenmelere bağlı karaciğerin “yara iyileşme” cevabı olarak görülebilir. Akut karaciğer hasarında, hücreyel komponent rejenerasyon olup, fibrozis degrade olarak karaciğer normal yapısına dönebilir. Eęer karaciğer zedelenmesi kalıcı olursa, rejenerasyon ile doku kaybı yerine konamaz ve çok daha geniş ekstrasellüler matriks depozisyonu ile skar formasyonu gelişir (4).

Fibrojeniz; ekstrasellüler matriks (ESM) artışı ve farklılaşması ile mikrovasküler yeni yapılanma sonucu parankim değişikliklerini kapsayan bir süreçtir. Sirozda ESM kompozisyonu, etyoloji ne olursa olsun benzerdir. Skar dokusu, Tip I ve III (fibriler) kollajenler, proteoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşur. Normalde ESM, karaciğer dokusunun %3’den azını oluşturur. Sirotik KC’de ise %25-40’a ulaşabilir.

Karaciğer lobülünde hepatositler, santral ven etrafında ışınsal dizilim gösteren kordonlar yapar. Hepatositler arasında fenestralı endotel ile dōşeli kapiller benzeri yapılar olan sinüzoidler bulunur. Endotel ile hepatositler arasındaki boşluğa “Disse Aralığı” adı verilir. Disse aralığında bulunan hepatik stellat hücreler (HSH) ise yağ depolayan ve A vitamini metabolizmasında yer alan modifiye fibroblastlar olup, ESM sentezinden sorumludur (**Resim 3**). Disse aralığında bulunan ESM karaciğerin “retiküler çatı”sını oluşturur (4). HSH ışık mikroskopik olarak görülmez, ancak patolojik bazı durumlarda belirginleşebilir.

Normal KC’de Tip I ve Tip III kollajen portal alan, perivenüler alan ve Disse aralığında; Tip IV ve Tip VI kollajen ise Disse aralığında bulunur. Sirotik

KC’de ise özellikle Tip I olmak üzere, Tip I ve Tip III kollajen birikimi portal alanlar yanısıra lobül içinde sinüzoidlerin duvarı, Disse aralığı ve septalarda birikir. Disse aralığında Tip I ve III kollajen yanısıra, laminin ve fibronektinden oluşan bazal membran benzeri madde birikimi görülür. Bu birikim, hem Tip I kollajen birikimi için zemin hazırlar hem de hepatosit ile sinüzoid arasındaki madde geçişini engeller(4, 18). Bazal membran benzeri madde birikimi ile, sinüzoidal endotelde fenestrasyon kaybı “kapillarizasyon” olarak adlandırılır.

ESM yapım ve yıkımı matriks metalloproteinazlar (MMP), bu enzimlerin inhibitörlerini (TIMPs) içeren kompleks bir süreçtir. Metalloproteinazlar, interstisyel kollajenaz (MMP 1 ve MMP 13), nötrofil kollajenaz (MMP 8), jelatinaz/Tip 4 kollajenaz (MMP 2 ve MMP 9), Stromelizin (MMP 3, MMP 10, MMP 11)’den oluşan geniş bir proteaz ailesi olup ESM’in degradasyonundan sorumludur. HSH’ler aktivasyonunun erken fazında MMPları ortama salarak ESM degradasyonunu sağlarken; tamamen aktive olduklarında TIMP-1 ve TIMP-2 salınımı ve HSH sentezinin artmasıyla interstisyel kollajen depolanmasında artışa neden olur (4, 19).

Fibrozis birikiminde rol oynayan hücreler **hepatik myofibroblastlar** olup, farklı hücresel kaynaklardan köken alabilirler;

1. Hepatik stellat hücre aktivasyonu,
2. Portal myofibroblastların aktivasyonu,
3. Kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücreler
4. Hepatosit ve / veya kolanjiositlerin mezenkimal geçişi (20).

Bunlardan en önemli olanı **hepatik stellat hücrelerdir**. HSH'ler;

- Retinoid depolanması ve homeostazisi,
- MMP ve TIMPs üretimi ile ESM yeniden yapılanması,
- Büyüme hormonları ve sitokinlerin üretimi ve
- Sinüzoidal lümenlerin kontraksiyon ve dilatasyonundan sorumludur(4).

HSH aktivasyonunda büyük oranda Kupffer hücreleri ve inflamatuvar hücrelerden salınan sitokinler rol oynar. ESM değişimi, reaktif oksijen radikalleri, sinüzoidal endotel hücrelerinden salınan fibronektin ve zedelenen hepatositlerden salınan lipid peroksidasyon ürünleri parakrin etki ile HSH aktivasyonuna neden olur. Hepatosit apoptozis ve nekrozu sonucu ortaya çıkan hepatosit DNAsı HSH üzerindeki TLR9'a bağlanarak HSH migrasyonunu uyarır. Sonuçta normalde retinoid depo hücresi olan stellat hücreler "aktivasyon" sürecine girerek **myofibroblasta** dönüşürler ve proliferasyon (PDGF, TNF-alfa, EGF), kontraktilite artışı (ET-1), kemotaksis ve fibrojenizde (TGF- β) rol oynarlar(18, 20).

PDGF, HSHler üzerinde etki gösteren en önemli mitojendir. TNF-alfa ve EGF de HSHden salınan ve proliferasyonunu indükleyen diğer önemli büyüme faktörleridir. HSHler fibrozisi yalnızca hücre sayısını artırarak değil, hücre başına düşen ESM üretimini de artırarak düzenlerler. Tip I kollajen yapımını uyaran en kuvvetli stimulan TGF- β dir ve hem parakrin hem otokrin olarak salınır. Sessiz olan HSH, TGF- β uyarısı ile myofibroblasta dönüşerek ESM sentezler. Aktive olan HSH'de kollajen Tip I, III, IV ve laminin mRNA seviyeleri artar(21).

Leptin, dolaşımda bulunan adipojenik bir hormon olup, TIMPs düzeylerini artırarak ve anti-fibrogenik nükleer reseptör olan proliferator-activated receptor- γ 'yı (PPAR γ) baskılayarak pro-fibrogenik özellik gösterir (21).

Normal karaciğerde endotelin-1 (ET-1) ve nitrik oksit (NO) dengededir. Kontraktiliteyi en çok uyaran endotelin olup NO buna ters etkilidir. Aktive stellat hücreler, bu dengeyi ET-1 lehine değiştirdiği için, hem sinüzoidleri, hem de kollajenize fibröz septalarda bol miktarda bulunduklarından genel olarak sirotik karaciğeri kontrakte ederek portal akımı engellerler (18).

2.1.3. Vasküler değişiklikler / yeniden yapılanma

Vasküler organizasyonda bozulma, fibrozis/sirozun yalnızca bir sonucu değil, patogeneze sorumlu önemli bir faktördür ve siroza ilerleyen kronik karaciğer hasarının merkezini oluşturur.

Vasküler değişiklikler;1) endotel geçirgenliğinin azalması,

2) trombozlara bağlı vasküler yatak kaybı ve

3) büyük damarlarda ve sinüzoidal seviyede kan akımında reorganizasyonu kapsar (4).

- Normal KC'de sinüzoidal bazal membran (BM) yoktur ve endotelde hücre yüzeyinin %2-3'lük alanını kaplayan 100 nm'lik fenestrasyonlar bulunur. Kronik hasarda, Disse aralığında ESM birikimi ve BM oluşumu endotel geçirgenliğini azaltarak, hepatosit perfüzyonunda azalmaya yol açar.

- HSH aktivasyonu sonucu sinüzoidal akım direncinde artış, porto-santral köprüleşme fibrozisi sonucu portal akım ile santral ven arasındaki direkt şantlar gelişmesi, parankim perfüzyonunu engeller ve hepatositlerde iskemik hasara yol açar.

- Son çalışmalarda, sirotik hastalarda ADAMST13 seviyesinde azalmanın koagülasyon artışına neden olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle KC vasküler yatağında çok sayıda trombotik tıkaçlar oluşur(4).

Anjiogenez; Fibrotik septa oluşumu, sinüzoidal kapillarizasyon ve Disse aralığında ESM birikimi sonucu parankim hücrelerinde gelişen hipoksi HIF-1 (hipoxia inducible transcription factor 1) salınımını uyarır ve anjiogenez tetiklenir. Bu süreçte salınan VEGF, NO, PDGF ve HGF gibi medyatörler de anjiogenezin gelişiminde önemli rol oynar (22, 23).

Köprüleşme fibrozisi ile birlikte, portal alanlarda neoanjiogenez porto-hepatik şantlara, fibröz septalardaki neoanjiogenez ise portal-santral şantlara yol açar. Portal ven ve hepatik arter aracılığı ile KC'e giren kan düşük dirençli yüksek akımlı (hızlı) kanallarla nodüllere uğramadan geçer. Sonuçta yüksek akımlı arteriyel sistemin, portal venöz sisteme yansması portal hipertansiyona yol açar. Zaman içinde sirotik süreç ilerledikçe, hepatik ven obliterasyonu arttıkça kanın büyük kısmı parankimi yoksun bırakarak bu hızlı kanallardan geçerek akar. Sonuçta sirotik nodüllerdeki sinüzoidler normal yapısını korusa da yeterince perfüze olmazlar (4).

Parankimal Ekstinksiyon; Sirozun gelişim sürecindeki en önemli özellik “parankimal ekstinksiyon” olarak bilinen parankim kayıp lezyonlarıdır. Parankim kaybının nedeni ise karaciğer kan akımında ortaya çıkan, “konjestif hepatopati” olarak tanımlanan vasküler perfüzyon bozukluğudur. Konjestif hepatopati, genellikle hepatik venlerin tıkanması ile başlar, arterial akımın artışıyla daha da şiddetlenir. Karaciğerde meydana gelen içe akım ile dışa akım arasındaki dengesizliğin neden olduğu sinüzoidal konjesyonun siroz gelişiminin esas nedeni olduğu ileri sürülmektedir . Nekroinflamatuvar hasara bağlı oluşan küçük hepatik venlerde ve sinüzoidlerdeki obliterasyon başlangıçta komşu alandaki sinüzoidal dilatasyonla tolere edilebilir ancak zamanla pek çok hepatik ven tıkanır, kollateral drenaj yetersiz kalır ve konjestif hasar atrofiye ve hepatosit apoptozisine ilerler. Parankim kaybı sonucu, fibröz septa gelişir ve parankimal ekstinksiyon lezyonu (PEL) oluşur (24).

Parankimal ekstinksiyon (PE), yani ardışık hepatositlerin kaybı, hepatik ven artığıyla komşu portal alanların birbirine yaklaşmasına yol açar. PE, portal ven ve hepatik ven obstrüksiyonu aynı doku alanında ise gerçekleşir. Tek bir PE lezyonu (PEL) bir hepatik vene yakınlaşmış bir portal alanı tanımlar. PEL asinusun sınırlı bir alanını etkileyebileceği gibi, tüm lobu tutabilir. PEL boyutu oblitere olan hepatik ven boyutu ile doğrudan ilişkilidir (4). PEL birikmesi ile PEL agregatları oluşur ve sonuçta histolojik olarak siroz farkedilebilir düzeye ulaşır. PEL agregasyonu mekanizması ve hepatik ven obstrüksiyonuna bağlı oluşan hemodinamik değişiklikler siroz patogenezinde merkezi oluşturur(24).

2.1.4.Siroz / Fibrozis regresyonu

Regresyon, oluşan fibröz dokunun ortadan kaldırılması ve hepatosit proliferasyonu ile yeniden organizasyonunu kapsayan bir süreçtir. Siroz uzun yıllardır geridönüşümsüz olarak bilinirken, son yıllarda insanlarda ve bazı hayvan deneylerinde etyolojiye yönelik tedavi ile, fibroziste geri dönüşümün olabileceği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, viral hepatitler, otoimmün hepatit, alkolik ve non-alkolik siroz, Primer biliyer siroz, Herediter hemakromatozis ve Wilson'a bağlı sirozlarda, başarılı bir tedavi (örn: virüsün eradikasyonu, inflamasyonun kontrol altına alınması, otoimmünitenin baskılanması ya da neden olan ajanın (alkol v.b.) ortadan kalkması) ile regresyon varlığı bildirilmiştir (8, 19, 25).

Hepatik myofibroblastların apoptozise uğraması, MMP / TIMP dengesinin değişmesi ve doku makrofajları fibrozis rezolüsyonunda kritik rol oynar (19);

Hepatositlerden ve çevredeki inflamatuvar hücrelerden salınan pek çok sinyal molekülü myofibroblast apoptozisinin regülasyonunda rol oynar. Ayrıca aktive myofibroblast ile Tıpl kollajenin etkileşimi de pozitif feedback ile myofibroblast yaşam süresini ve fibrogenik aktiviteyi artırır. Yalnızca hepatik myofibroblastların kaybı fibrozisin rezolüsyonu için yeterli değildir. TIMPs düzeyinin artmasını sağlayan hepatik myofibroblastların apoptozis ile sayısı azaldıkça, MMPs/TIMPs dengesi ESM yıkımını sağlayan MMPs tarafına kayar ve ESM yıkımı gerçekleşir.

Makrofajlar da fibrojeniz ve rezolüsyon aşamalarında önemli role sahiptir. Aktive myofibroblastlara yakın makrofajlar TGF- β , IL-1 β , PDGF ve

CCL-2 üretimi ile pro-fibrogenik aktivite gösterirken; makrofajların bir kısmı da MMPs (MMP-13) üreterek ESM yıkımında rol oynar. Makrofajlar ayrıca TRAIL ve MMP9 üretimi ile myofibroblast apoptozisini artırır (19).

Hepatik fibrozis birbiriyle devamlılık gösteren 4 kategoride incelenebilir;

1) Sinüzoidal fibrozis, 2) Septal fibrozis, 3) Fibröz adezyonlar ve 4) Geniş ekstinksiyon alanları...Bu kategorilerde herhangi aşamada regresyon gelişebilir.

Histolojik olarak 8 farklı hepatik tamir/regresyon bulgusu vardır;

1. Perfore hafif ince fibröz septalar,
2. İzole kalın kollajen lifler,
3. Hafif periportal fibröz uzantılar,
4. Lümenlerinde hepatosit içeren hepatik ven kalıntıları,
5. Portal alan içinde hepatosit varlığı veya hepatosit kordonları ile ayrılmış septa varlığı,
6. Küçük rejeneratif nodüller (<10 hücreden oluşan hepatosit tomurcukları),
7. Portal alanlara yakın aberan hepatik venler,
8. Portal alan kalıntıları, **sirozda regresyon bulgularıdır**(25).

2.2.Siroz Morfolojisi

Kronik karaciğer hastalıklarında fibrozisin başlangıç gelişim paterni altta yatan etyolojiye göre farklılık gösterebilir (20);

Kronik viral hepatitlerde portal-portal ve portal-santral septa oluşumları ile karakterli portal tabanlı fibrozis izlenirken, alkolik ve non-alkolik SH'de “kümes teli” diye adlandırılan perivenüler-perisellüler fibrozis görülür. İskemi ve diğer toksik nedenler de sentrilobüler fibrozise neden olabilir. Biliyer sirozda ise fibrozis portal alandan başlar portal-portal septa oluşumu ile ilerler.Santral-santral septa ise çoğunlukla “venöz çıkım” hastalıkları (Venooklüziv hastalık, Budd Chiari) gibi vasküler nedenlere bağlı olanda görülür (26). Yine de, son dönemde tüm paternler birarada izlenebilir. Eksplant materyalleri değerlendirildiğinde, fibröz doku oranının en fazla (%30) olduğu hastalık alkolik siroz iken, en az oran (%16,5) HBV ilişkili sirozlarda bulunmuştur (27).

Sirozun 2 önemli komponenti vardır; **Fibrotik septalar** ve **Nodüller**

Siroz tanısı için esas olan parankimin fibröz septalarla izole adalara ayrılmasıdır. Hepatik parankim adalarının fibrotik izolasyonu ile oluşan nodüllerin, rejeneratif aktivite göstermesi siroz tanısı için gerekli değildir. Nitekim aylar içinde hızlı gelişen bir fibrotik süreçle oluşan nodüllerde rejeneratif aktivite saptanmayabilir. Sirotik karaciğer hastalığın şiddetine göre farklı morfolojik spektrum gösterebilir. Fibrotik septalar az ya da çok sayıda, ince ya da kalın olabileceği gibi; nodüller uniform ya da farklı boyut ve şekilde olabilir(4).

Siroz, makroskopik ve mikroskopik olarak nodüllerin boyutuna göre 3'e ayrılır;

1.Mikronodüler siroz: Mikronodüler sirozda makroskopik olarak organın şekli ve dış yüzeyi çok değişmemiştir ve nodüller çok küçük ve birbirine benzer görünümde olduğundan kesitte görülmeleri zordur. Fibröz dokunun parankime oranı mikronodüler sirozda makronodüler siroza göre daha fazladır ve bu nedenle karaciğer belirgin şekilde sertleşmiştir. Genellikle fibrotik bantlar diffüz, belirsiz ince olmakla beraber bazen geniş olup daha belirgin olabilirler. Mikronodüler sirozun en sık nedenlerinden biri kronik alkol kullanımıdır. Hemokromatozis, biliyer obstrüksiyon, çocukluk çağının metabolik hastalıkları ve venöz çıkım hastalıkları da bu tip siroza yol açar (**Resim 4**).

Mikroskopik olarak, nodüller 3 mm'den küçük olmakla birlikte, normal bir asinüsün yaklaşık 1 mm çapında olduğu düşünüldüğünde, bu boyuttaki nodülün birkaç asinüsü içine aldığı anlaşılır. Bunun yanında çoğu zaman asinüsler de septumlar ile bölünerek daha küçük nodüllere (mikro-mikronodül) ayrılmışlardır. Bu durumda fibrovasküler septum en küçük boyutlu portal alanı, asiner zon 1-2-3'ü katederek, terminal hepatik venüle (santral ven) birleştirmektedir. Alkolik karaciğer sirozunda fibrozis terminal hepatik venül çevresinde en yoğundur; buradan parankim hücre gruplarını kuşatarak sinüzoid duvarları boyunca portal alanlara doğru uzanır. Küçük nodüller, regenerasyon sonucu büyür, yuvarlak ve çevreye baskı nedeniyle psödokapsüllü görünüm alır. Bu regenerasyon nodülleri bir asinüs-ten daha büyük olabilir; fakat 3 mm'den küçüktür ve normal asiner alt

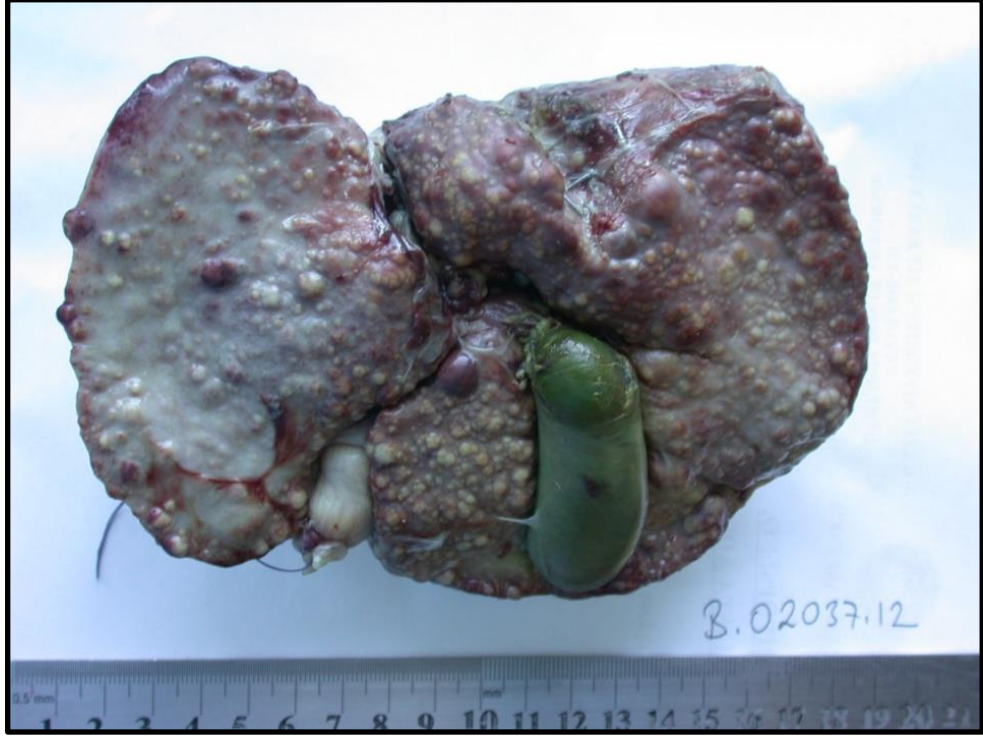
yapıya sahip değildir. Büyümeleri devam ederse 3 mm'yi aşar ve makronodüler siroza ilerler (28, 29).

2.Makronodüler siroz: Karaciğerin dış görünümü ve boyutları çok daha değişkendir. Organ başlangıçta büyümüş olsa da, klinikte yetmezlik bulguları gösteren hastalarda genellikle küçüktür (1000 gr'dan az). Karaciğer parankimi değişik genişlikte fibröz bantlarla ayrılmış büyük ve yüzeyden kabaran nodüller oluşturmuştur (**Resim 5**). Hastalık ilerledikçe başlangıçta nispeten ince olan fibröz bantlar da daha geniş ve belirgin hale gelerek yüzeyde daha derin çöküntüler oluştururlar. Makronodüler siroz en sık kronik viral hepatit ve otoimmün hepatit sonrası gelişse de bütün kronik karaciğer hastalıklarının en son evresini temsil eder ve bu nedenle daha çok otopsilerde görülür; bu evrede artık makroskopiden etyolojiyi tahmin etmek pek mümkün değildir (28-30).

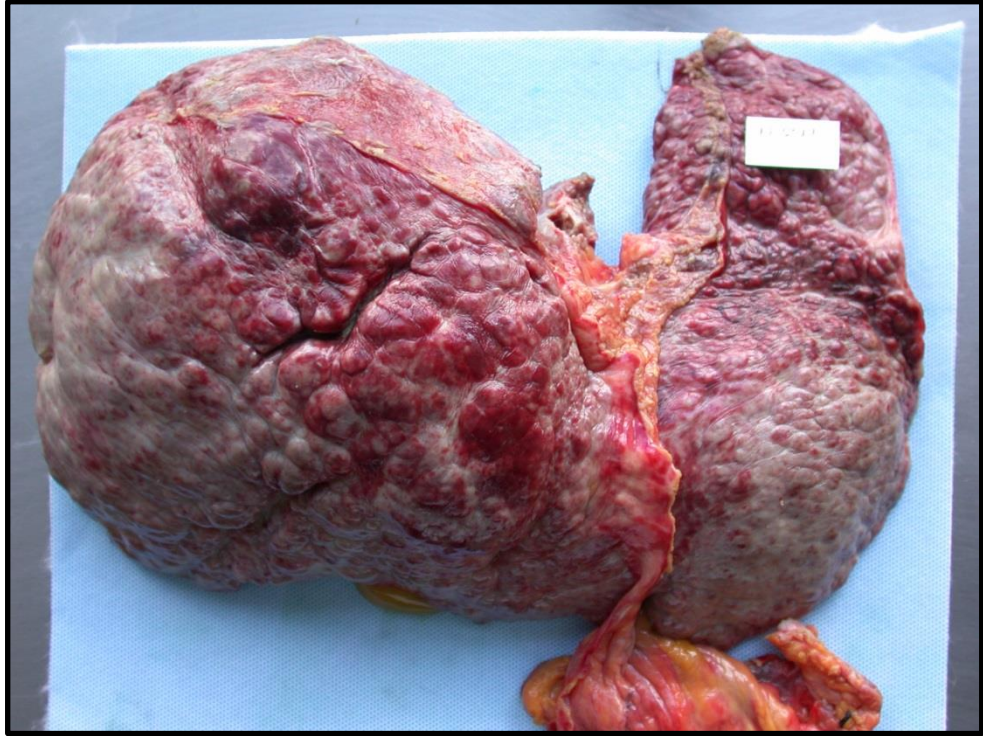
Mikroskopik olarak nodüller genelde 3 mm'nin üzerindedir ve boyutları 1 cm'e kadar ulaşabilir. Kronik viral hepatitlerde HBV ve HCV sirozu arasında da rejeneratif nodüllerin boyutu, fibröz septa kalınlığı ve septalarda izlenen inflamasyonun derecesi oldukça farklılık gösterir. HCV sirozunda nodüllerin boyutu 2-3 mm (alkolik siroz gibi), septalar daha kalın izlenirken; HBV sirozunda 7-10 mm'dir ve septalar daha incedir (31).

3.Mikst tip: Siroz dinamik bir süreç olduğundan zaman içinde mikst pattern hepsinde ortaya çıkabilir.

Makronodüler siroz 2 boyutlu ele alındığında, histolojik olarak inkomplet septal ve multiasiner olmak üzere 2 alt tip ayırdedilebilir.



Resim 4: Tirozinemi zemininde mikronodüler siroz, hepatektomi materyali.



Resim 5: HBV zemininde makronodüler siroz, hepatektomi materyali.

İnkomplet septal siroz (İSS), ilk olarak 1966 yılında Popper tarafından tanımlanmıştır. Parankimde kör sonlanmalar yapan ince-inkomplet septalar ve rudimente rejeneratif nodüller izlenir. Sinüzoidal fibrozis, nekroz ve inflamasyon belirgin değildir. Kordonların düzeni de yer yer bozulmuştur; bu muhtemelen fibrovasküler septumun çeşitli yerlerinden sinüzoidlere kan girişinin bir göstergesidir. Etyolojisi belirsiz olmakla birlikte, rejeneratif nodüler hiperplazi, idiyopatik portal hipertansiyon, parsiyel nonsirotik nodüler transformasyon ve herhangi bir etyolojide sirozun regresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Ancak literatürde İSS ile ilgili çok az yayın bulunmaktadır(32). Bu tip sirozda karaciğer fonksiyonları genellikle iyidir; temel sorun portal hipertansiyondur. Portal hipertansiyon kontrol edilebilirse prognoz çok iyidir.

Monoasiner nodül intranodüler tek bir portal alanın izlendiği, **multiasiner nodül** ise intranodüler birden fazla portal alanın olduğu nodülü ifade eder. **Multiasiner (multilobüler) makronodüler sirozda** her bir nodül içinde bir çok asinüs ve intranodüler septasyonlar bulunmaktadır. Sıklıkta gelişimin erken dönemleri ifade eder ve nodüller daha aktiftir. Nodülde hücre kordonları genellikle tek sıralıdır fakat normal asinüsün ışınsal dizilimini göstermezler. Bu düzensizlik muhtemelen septumdan parankime anormal kan akımı girişlerini yansıtmaktadır. Rejeneratif aktivite öne çıktığında histolojik yapı daha da bozulur. Bazen nodülün bir bölümünde fazla gelişme olup diğer bölümlerine baskı yapabilir ve nodül içinde nodül görünümü oluşabilir. Rejeneratif aktivite nodülde çift sıralı kordonlar ve hücre çekirdeklerinin pleomorfizmi ile kendini belli eder.

Makrorejeneratif nodül, 0,8-1 cm ve üzeri çapta nodüllerdir. Radyolojik olarak saptanabilirler ama iğne biyopsi materyalinde tanımlanmaları zordur. Makroskopik olarak displastik nodül ve küçük (erken) hepatosellüler karsinom odağı ile karışabilmeleri veya displastik/neoplastik odak barındırabilmeleri nedeniyle fark edilmeleri ve takipleri önemlidir. Bazı otörler makrorejeneratif nodülleri düşük dereceli displastik nodül kabul etmektedir.

Nodülleri çevreleyen fibröz septalar ince (< 0.2 mm) ya da kalın (>0.4 mm) olabilir. İnce septa ile çevrili nodüller portal ven etrafında oluşan ve hepatik vene boşalan “**stabil nodül**” olarak tanımlanabilir. Kalın septalarla bölünmüş nodül ise vasküler yapılanma bakımından “**anstabıl nodül**” olarak tanımlanabilir. Bu iki tip nodül arasındaki fark sirozun evresini belirler. Bu ilerleyen septasyondan aktif nekroinflamasyon sorumludur. Dolayısıyla bu tipten aynı zamanda sirozun progresyonunu betimler.

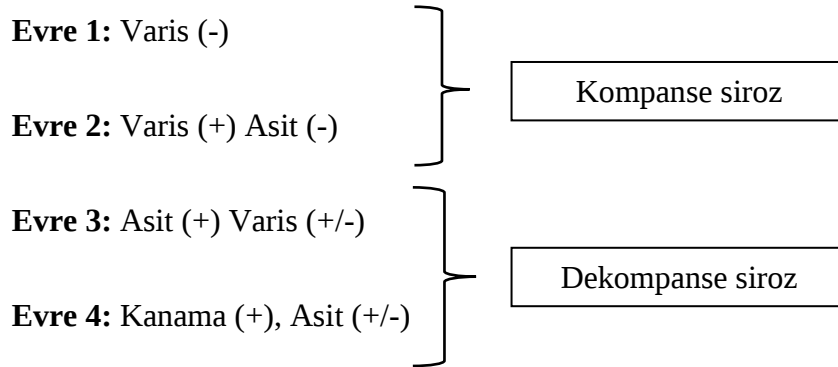
Septalar değişen oranlarda inflamasyon ve duktuler proliferasyon gösterebilirler. **İnaktif siroz** septalarda ve lobülde inflamasyon ve nekrozun düşük ya da hiç olmadığı sirozu tanımlar. **Aktif siroz** ise interfaz hepatiti ve lobüler nekrozların izlendiği kronik hepatit varlığını ve sürecin ilerlemekte olduğunu ifade eder.

2.3.Siroz Kliniği

Tüm siroz tipleri klinik olarak sessiz seyredebileceği gibi; halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı gibi nonspesifik ya da asit, sarılık, özefagus varis kanaması veya hepatik ensefalopati gibi ciddi bulgularla da ortaya çıkabilir. Etyolojiye özgü bulgular dışında, karaciğer sirozunun kliniği başlıca ikiduruma; hepatosellüler yetmezlik ve portal hipertansiyona (PHT) bağlıdır. Karaciğerdeki yapısal bozukluk sonucu intrahepatik vasküler direncin artması PHT ile sonuçlanır ve PHTa bağlı ciddi komplikasyonlar ortaya çıkar. Dolayısıyla siroz hastalarının kliniği oldukça çeşitlilik göstermektedir.

Siroz hastaları; portal hipertansiyonun komplikasyonları olan asit, varis, üst gastrointestinal sistem kanamaları ve hepatik ensefalopati varlığına göre kompanse ve dekompanse olarak sınıflandırılırlar (1, 33).

Baveno IV konsensus sınıflamasına göre siroz hastaları 4 evreye ayrılır ve Evre 1-2; kompanse siroz, Evre 3-4: dekompanse siroz olarak sınıflandırılır(34).



Kompense siroz olgularında tanı genellikle rutin muayene veya laboratuvar incelemeleri ya da başka nedenlerle yapılan laparotomi esnasında konulabilir. Biyokimyasal incelemeler tamamen normal olabileceği gibi GGT ve transaminaz

düzeylelerinde hafif yükselmeler saptanabilir. Hastaların bir kısmı başka bir nedenden ölene kadar kompanse kalabilirler. Diğer kısmı ise aylar ya da yıllar içinde dekompanse döneme girerler.

Dekompanse sirozlu hastalar asit ve/veya sarılık nedeniyle doktora başvururlar. Halsizlik, yorgunluk, kas erimesi ve kilo kaybı bulunabilir. Sarılık, hepatik hücre yıkımının rejenerasyondan fazla olduğuna işaret eder. Sarılık ne kadar derinse hepatik yetersizlik o kadar fazladır. Spontan çürükler ve burunkanması, protrombin zamanının uzadığını gösterir(35).

2.4.Siroz tanısında kullanılan fibrozis skrlama sistemleri

Siroz tanısında farklı etyolojilere göre farklı skrlama sistemleri kullanılmaktadır ancak bugüne kadar kullanılan skrlama sistemleri sirozu tek bir kategoride ele almaktadır. Ancak siroz hastalarının kliniklerinin birbirinden oldukça farklılık göstermesi, tedavi modalitelerinin gelişmesi ve karaciğer yetmezliği ve portal hipertansiyon kliniği gelişen hastalarda bazı belirleyici histolojik bulgular olduğunun farkedilmesiyle sirozun histolojik alt klasifikasyonuna ihtiyaç duyulmuş ve Laennec fibrozis skrlama sistemi ortaya konmuştur(1).

2.4.1.İSHAKskrlama sistemi(36, 37)

Kronik HBV, HCV gibi portal tabanlı fibrozis görülen hastalıklarda en güncel skrlama sistemi olmasına karşılık, alkol, NASH, Budd-Chiari gibi sanral tabanlı fibrozis gösteren hastalıklarda yeterli olamamaktadır (**Tablo 1**).

Tablo 1: İSHAK fibrozis skarlama sistemi, 1995

Evre	Tanımlama
0	Fibrozis yok
1	Bazı portal alanlarda fibröz ekspansiyon (kısa septa +/-)
2	Çoğu portal alanda fibröz ekspansiyon (kısa septa +/-)
3	Çoğu portal alanda fibröz ekspansiyon + bazı alanlarda portal-portal köprüleşme
4	Portal alanlarda belirgin köprüleşme (portal-portal ve/veya portal-santral)
5	Belirgin köprüleşme ve seyrek nodül (İnkomplet siroz)
6	Siroz, muhtemel ya da kesin

2.4.2.Scheuer(38)/Batts-Ludwig(39)/Metavir(40, 41) fibrozis skarlama sistemleri

Portal tabanlı fibrozislerde kullanılan, basit ve pratik, 4'lü (F0-F4) skarlama sistemleridir (**Tablo 2**).

Tablo 2: Metavir skarlama sistemi, 1996

Evre	Tanımlama
0	Fibrozis yok
1	Portal / Periportal fibrozis
2	Septal fibrozis
3	Yapısal bozukluk ile birlikte köprüleşme fibrozisi
4	Siroz, muhtemel siroz

2.4.3.Brunt 1999 (42) ve Kleiner 2005 (43) skrlama sistemleri

NASH ve Venöz çıkım darlıkları gibi santral tabanlı fibrozis paternlerinde kullanılan skrlama sistemleridir. Kleiner sistem, Brunt sisteminin modifikasyonu ile oluşturulmuştur (**Tablo 3-4**). Kleiner Evre 1'i genişletilmiş 3 ayrı kategoride değerlendirdiği için minimal fibrozisleri ayırmada daha kullanışlıdır.

Tablo 3: Brunt skrlama sistemi, 1999

Evre	Tanımlama
0	Fibrozis yok
1	Zon 3 sinüzoidal fibrozis, fokal / yaygın
2	1+Periportal fibrozis, fokal / yaygın
3	1 ve 2'ye ek olarak fokal / yaygın köprüleşme fibrozisi ve nodüler değişiklik
4	Siroz

Tablo 4: Kleiner skrlama sistemi, 2005

Evre	Tanımlama
0	Fibrozis yok
1a	Hafif Zon 3 perisinüzoidal (ince kollajen, Trikrom boyasında farkedilebilir)
1b	Orta Zon 3 perisinüzoidal (kaba kollajen, H&E'de görülebilir)
1c	Portal / Periportal
2	Perisinüzoidal ve portal / periportal
3	Zon 3-3 ve Zon 3-1 köprüleşme fibrozisi (nodüler değişiklik şart değil)
4	Siroz

2.4.4.Laennec fibrozis skollama sistemi (1, 3, 44-46)

Laennec skollama sistemi sirozu 3 alt kategoriye ayıran, ilk olarak “The Laennec Society” tarafından geliştirilen (44), daha sonra Koreli gruplar tarafından Evre 1-3 eklenen (1, 3, 46) Metavir’den modifiye skollama sistemidir. Laennec fibrozisi 7 alt gruba ayırmaktadır (**Tablo5-6**).

Tablo 5: Laennec fibrozis skollama sistemi 2000, 2011

Evre	Tanımlama	Septa kalınlığı/ sayısı	Kriter	Skor
0	Fibrozis yok	-		0
1	Minimal fibrozis	+/-	Portal ekspansiyon ya da hafif sinüzoidal fibrozis(+), Septa oluşumu -/çok nadir ince septa	1
	Hafif fibrozis	+	Portal ekspansiyon ya da hafif sinüzoidal fibrozis(+), Seyrek ince septa	2
3	Orta fibrozis	++	Orta derecede ince septa, köprüleşme fibrozisi	3
4A	Siroz, hafif/ muhtemel	+++	Belirgin septa ve görünür nodül formasyonları..Septaların büyük kısmı incedir ve tek bir geniş septa izlenebilir.	4
4B	Siroz, orta	++++	En az 2 “geniş septa” ve biyopsinin yarısından azında küçük nodül formasyonları.. Çok geniş septa izlenmez.	5
4C	Siroz, ağır	+++++	En az 1 “çok geniş septa” ve biyopsinin yarısından fazlasında küçük nodül formasyonları (mikronodüler siroz)	6

Table 6: Laennec scoring system for staging fibrosis in liver biopsies (1)Kim MY, Journal of Hepatology 2011

Stage	Name	Septa (thickness and number)	Criteria	score
0	No definite fibrosis			0
1	Minimal fibrosis	+/-	No septa or rare thin septum; may have portal expansion or mild sinusoidal fibrosis	1
2	Mild fibrosis	+	Occasional thin septa; may have portal expansion or mild sinusoidal fibrosis	2
3	Moderate fibrosis	++	Moderate thin septa; up to incomplete cirrhosis	3
4A	Cirrhosis, mild, definite, or probable	+++	Marked septation with rounded contours or visible nodules Most septa are thin (one broad septum allowed)	4
4B	Moderate cirrhosis	++++	At least two broad septa, but no very broad septa and less than half of biopsy length composed of minute nodules	5
4C	Severe cirrhosis	+++++	At least one very broad septum or more than half of biopsy length composed of minute nodules (micronodular cirrhosis)	6

“Geniş septa” ve “çok geniş septa” kriterleri, septa kalınlığını komşu nodül boyutu ile karşılaştırarak değerlendirilir. Geniş septa; komşu nodül boyutundan daha ince, çok geniş septa; komşu nodül boyutundan daha kalındır. Karaciğer iğne biyopsisinde en az 2 geniş septa görürsek Laennec 4B, en az 1 çok geniş septa görürsek Laennec 4C kategorisinde fibrozisi tanımlar.

M.Y Kim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Laennec fibrozis skoru ile hastaların varis, asit kanama gibi klinik bulguları arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Örneğin F4A denilen vakaların %62,5’u Evre 1, %20,8’i Evre 2, %8,3’ü Evre 3 ve %8,3’ü Evre 4 bulunmuş. F4C denilen vakaların %85’i dekompanse olup, Evre 3 ve 4 hastalardır. Ortalama portal ven basıncı (hepatic venous pressure gradient-HVPG) değerlerine baktığımızda ise F4A, F4B ve F4C vakalarında sırasıyla, basınç 8.1 ± 2.6 , 12.4 ± 3.3 ve 16.3 ± 4.0 mm Hg’dır ve HVPG arttıkça Laennec fibrozis skorunun arttığı gözlenmektedir(1). Diğer çalışmalar da bu gözlemi desteklemiştir (47).

S.U Kim, Ian R Wanless ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise LFS ile kronik KC hastalığına bağlı olayların (hepatik dekompanseasyon, hepatosellüler karsinom ve ölüm) oranları karşılaştırılmış ve büyüme parametreleriyle anlamlı ilişki bulunmuştur. Kronik KC hastalığına bağlı komplikasyon gelişme oranı LFS 3, 4A, 4B ve 4C hastalarda sırasıyla; %8,7, %12,5, %20,7 ve %29,0 oranında saptanmıştır. Hepatosellüler karsinom görülme oranı ise sırasıyla %4,3, %6,3, %17,1 ve %16,1; karaciğer hastalığına bağlı ölüm oranları LFS 3’de 0 iken, 4A, 4B ve 4C hastalarda sırasıyla %6,3, %2,4 ve %9,7 bulunmuştur(3).

2.5.Siroz zemininde gelişen preneoplastik lezyonlar

Hepatosellüler karsinom (HSK), dünyada en sık 6. kanser iken, kanserden ölümlerde 3. sırada yer almaktadır (48, 49). HSK'nın %90'ı viral hepatitler, alkol ve metabolik hastalıklara bağlı kronik karaciğer hastalığı / fibrozis zemininde gelişmektedir. Hepatotropik virüsler ve alkol en önemli hepatokarsinojenler olup, direkt DNA hasarı yapmaları yanı sıra, kronik nekroinflamasyon, rejenerasyon ve fibrojenizi tetikleyerek indirekt DNA hasarına neden olurlar (50, 51).

“Hepatokarsinogenez” çok aşamalı, uzun bir süreçtir ve HSKların genelde displastik odak, displastik nodüller (düşük dereceli ve yüksek dereceli) ve erken HSK gibi preneoplastik lezyonlar zemininde geliştiği gözlenmiştir. Olayların en başı henüz anlaşılamamış olsa da, matür hepatositler, kazandıkları genetik/epigenetik değişikliklerin karşılıklı etkileşimi ve birikimi ile klonal olarak büyümeye başlar (matür hepatositin dediferansiasyonu) ve zamanla telomer kısalması, DNA hasarının artması, hücre siklusunda p16-p21 inaktivasyonu gibi pek çok genetik değişiklik sonucu malign transformasyon gelişir. (7, 50, 51).

Nadir vakalar “denovo” gelişim göstermektedir. Matür hepatositin dediferansiasyonu ile oluşan tümörlerin gelişim aşamaları ile denovo gelişim gösterenlerinkinin farklı olduğu düşünülmektedir. Denovo gelişenlerin hepatik progenitör hücrelerde (HPH) matürasyon arrestine bağlı olduğu düşünülmektedir. Hayvan modellerinde HSK'nın bir kısmının matür hepatositten, bir kısmının ise HPHden köken aldığı gösterilmiştir. Yine kronik karaciğer hastalarında HPHlerin aktive olması, bazı HSKlarda HPH kökenini gösteren belirteçlerin pozitif olması

bu hipotezi desteklemektedir (17, 52). Özetle, hepatokarsinogenezde neoplastik hücrelerin kaynağı, **diferansiye hepatosit** ya da **hepatik progenitör hücre**dir.

Hepatokarsinogenezde erken moleküler değişiklikler:

- TGF-alfa ve IGF-2 gibi büyüme faktörlerinin aşırı ekspresyonu
- HBV viralX prtn; genomik instabilite ve siklin-A artışı ve telomeras aktivasyonu ile hücre bölünmesinde artış/apoptozdan kaçış,
- Heterozigosite kaybı - LOH (loss of hetezygosity)
- Kromozomal amplifikasyonlar, mutasyonlar,
- Allelik kayıplar,
- DNA hipometilasyonu / Promoter hipermetilasyonu
- Anjiogenez molekülleri

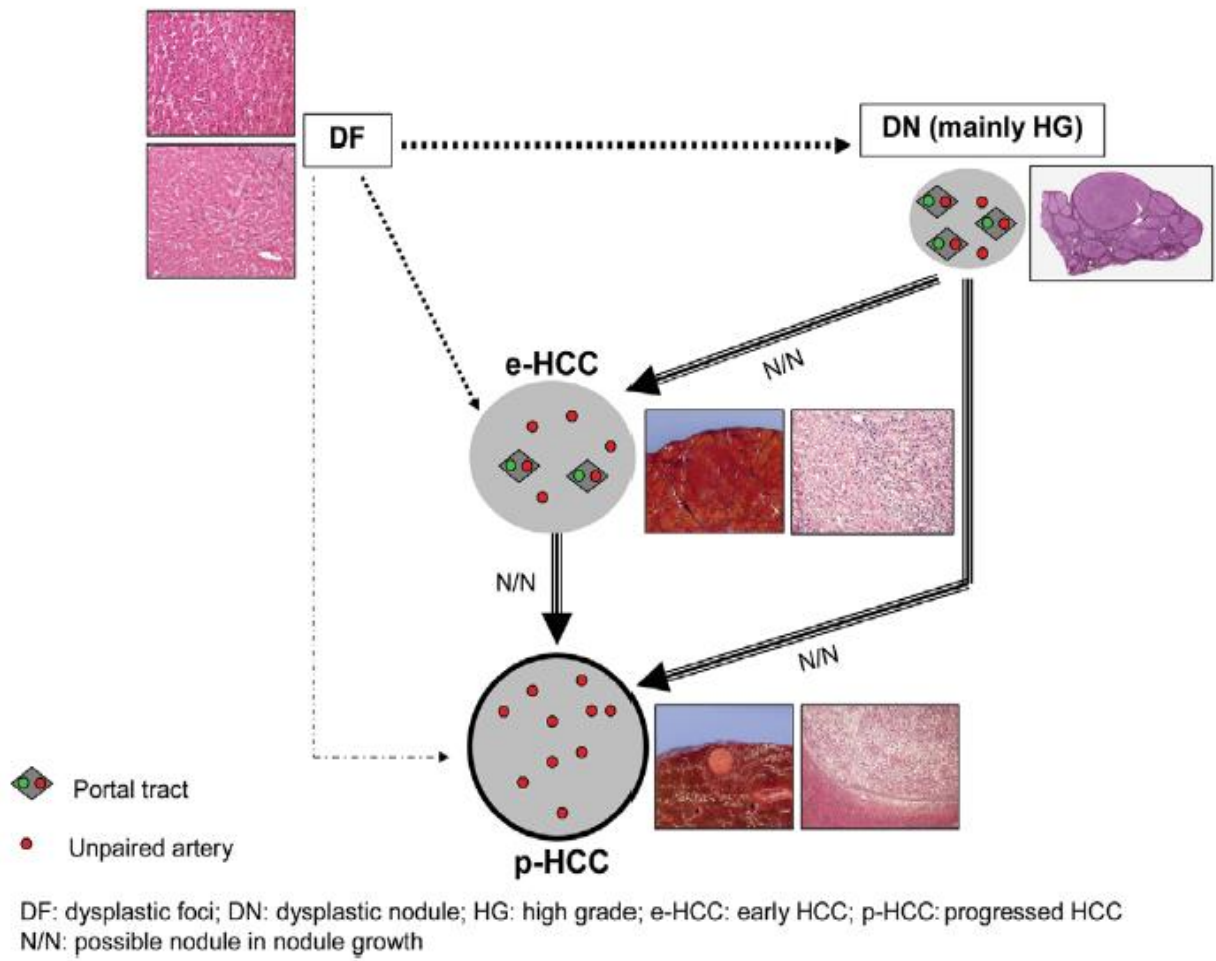
Displazi-karsinom aşamasında:

- **P53** ve RB1 inaktivasyonu (p53; HBV ve aflatoksin-B1 ilişkili HCC)
- **B-katenin** (Wnt sinyal yolu) aktivasyonu (HCV ilişkili HCC)
- CTNNB1/AXIN1 mutasyonu
- PI3K/Akt/mTOR yolağında hasar
- RAS/pERK yolağı
- MAPK ve TGF-beta yolakları yer almaktadır.

Hepatokarsinogenez sürecinde, radyolojik olarak incelemelerin değer kazanması ve transplantasyon deneyimlerinin artışı ile, morfolojik olarak farkedilebilen preneoplastik lezyonlar tanımlanmıştır (**Şema 1**). Bunlar;

- 1) Displastik Fokus (Odak)
- 2) Displastik Nodüller
 - Düşük Dereceli Diplastik nodül (DDDN)
 - Yüksek Dereceli Displastik Nodül (YDDN)
- 3) Erken HSK (<2 cm) olarak sınıflanabilir.

M Roncalli et al. / Digestive and liver disease 42S (2010) S228-S234



Şema 1: Hepatokarsinogenez sürecinde karşımıza çıkan preneoplastik lezyonlar

2.5.1.Displastik fokus (displastik odak)

Siroz ve kronik karaciğer hastalıklarında görülen, displastik hepatositlerden oluşan 1 mm'den küçük mikroskopik lezyonlardır. Genelde karaciğer biyopsilerinde ve rezeksiyonlarda rastlantısal olarak saptanırlar, radyolojik olarak bulgu vermezler. Displastik odaklar (DO) ana hücre grubuna göre kategorize edilirler;

- 1) Küçük hücre değişikliği gösteren DO,
- 2) Büyük hücre değişikliği gösteren DO ve
- 3) Herediter hemakromatoziste görülen demir birikimi olmayan displastik odaklar olmak üzere 3'e ayrılırlar(7, 31).

Bunların yanısıra hayvan deneylerinde karsinogenez sürecinde şeffaf hücrelerden oluşan odaklar saptanmıştır. Sonuçta hepatositlerin odak oluşturmaları monoklonal davranış paterni kabul edilebilir ve önemsenmelidir.

Küçük hücre değişikliği(KHD), mikroskopik olarak nükleus/sitoplazma oranı artmış, sitoplazmik bazofili, hafif nükleer pleomorfizm ve hiperkromazi gösteren kalabalıklaşmış hücre gruplarıdır. Odaksal KHD monoklonal davranış paterni nedeniyle prekanseröz olma şüphesi taşırken, diffüz küçük hücre değişikliği kronik kolestaz gibi bazı durumlarda rejeneratif sürece bağlı olarak da görülebilir. KHD alanlarının çevrede normal görünen hepatositlere göre daha yüksek proliferatif aktiviteye sahip olması, HSKda olduğu gibi P21 inaktivasyonuna bağlı telomer kısalması, kromozomal instabilite, kromozomal kazanımlar ve kayıplar saptanması, morfolojik olarak iyi diferansiye HSKa

benzemesi ve HSKa eşlik etmesi prekanseröz olma olasılığını desteklemektedir(53, 54). Libbrecht L ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada bazı KHD gösteren displastik odaklarda hepatik progenitör hücre immünofenotipi saptanmış ve bu odakların HPH kökenli HSKın preneoplastik lezyonu olabileceği düşünülmüştür (55).

Büyük hücre değişikliği (BHD) ise, hepatositlerin nükleer ve sitoplazmik genişlemesi, nükleer pleomorfizm, hiperkromazi ve sık multinükleasyon ile karakterli değişikliklerdir. BHDnin, HSK gelişmiş siroz vakalarında daha sık görülmesi, artmış DNA hasarı ve p16-p21 inaktivasyonu saptanması preneoplastik olduğunu desteklese de; N/S oranının normal olması, düşük proliferatif aktivite ve artmış apoptotik aktivite saptanması, özellikle HbsAg pozitif hücrelerde görülmesi, kronik hasara ve yaşlanmaya bağlı reaktif değişiklik olabileceğini düşündürmektedir(56, 57). Dolayısıyla BHD patogenetik olarak HSK ile ilişkilidir ancak direkt preneoplastik olduğunu gösteren yeterli bulgu yoktur.

2.5.2.Displastik nodüller (Düşük dereceli ve Yüksek dereceli);

Genelde sirotik KC’de saptanmalarına rağmen henüz siroz gelişmemiş kronik KC hastalıklarında da görülebilirler. DN’ler çevre karaciğer parankiminden; boyut, renk ve kıvam olarak farklılık gösteren, sıklıkla 1 cm (<1,5 cm) boyutunda, düzgün-iyi sınırlı nodüler lezyonlardır. Tek ya da multiple olabilirler. İçerdikleri atipinin derecesine göre düşük dereceli (Low grade=LGDN) ya da yüksek dereceli (High grade=HGDN) olarak iki gruba ayrılırlar (7).

DN'ler radyolojik olarak saptanabilen lezyonlardır. Görüntüleme sırasında arteriyel ve portal akım değişiklikleri nodülün vaskülarizasyonu, dolayısıyla natürü hakkında bilgi vermektedir. Ultrasonografi(USG), Bilgisayarlı tomografi (BT) ve Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG) tetkiklerinde, rejenerasyondan displaziye geçişte erken aşamada portal alan kaybına bağlı arteriyel ve portal akım azalırken; geç dönemde (displazi-karsinom aşaması) izole arteriollerin ortaya çıkmasına bağlı hipervaskülarite gözlenir. DN'ler USG ve BT ile saptanamayabilir. MRGde, tipik olarak T1 sekansta hiperintens, T2 sekansta hipointens lezyonlardır. Bazı DN'ler çevredeki rejeneratif nodüllerden oldukça geniş olmalarına rağmen, normal vaskülarite ve hücresel fonksiyon gösterir. Büyük kısmı normal düzeyde intrasellüler kontrast madde tutar ve DN içinde bir HSK odağı geliştiğinde, kontrast tutulumu azaldığı için “nodül içi nodül” görünümü verir (58). Nodül içi nodül görünümü, DN zemininde gelişmiş HSK temsil edebileceği gibi HSKdaki intratümöral heterojeniteye de bağlı olabilir (51).

Düşük dereceli displastik nodüller (DDDN) histolojik olarak; sirotik nodüllerle karşılaştırıldığında monoton hafif artmış hücre dansitesi (1,3 kat) ve hafif sitolojik atipi karakterlidir. Soluk sitoplazmaya sahip hepatositlernodül içinde nodülasyon paterni yapabilir. Diffüz demir ya da bakır birikimi ve uniform steatoz gibi klonalite bulguları veya BHD görülebilir ancak KHDve pseudogland formasyonugörülmez! DDDN'lerin makrorejeneratif nodülден ayrımı zordur (7, 51).

Yüksek dereceli displastik nodüller (YDDN) histolojik olarak; artmış hücre dansitesi (1,3-2 kat), en fazla 2 hücreden oluşan hepatosit kordonları ve en

az orta derecede sitolojik ve yapısal atipi ile karakterlidir. **KHD** en sık görülen sitolojik atipidir. Pseudoasiner yapılanma olabilir. Hafif retikülin kaybı görülebilir. Sirotik nodüllere göre DDDNlerde, DDDN'lere göre YDDNlerde ve YDDN'e göre HSKda çok sayıda gen bölgesinde LOH artışı, kromozom kayıp ve kazanımların artması, moleküler değişikliklerin birikimi bu lezyonların prekürsör olduğunu desteklemektedir (7, 51).

- Tüm nodüler lezyonlarda HSK gelişimi ~%19
- DN'lerde HSK gelişimi ~%33
- Rejeneratif nodüllerde HSK gelişimi % 9,1
- DDDN'lerde HSK gelişimi % 26,2
- YDDN'lerde HSK gelişimi % 69,2 oranındadır.

Displastik nodüller hem portal damarlardan hem yeni oluşmuş, safra duktusu ile eşleşmemiş (izole) arterlerden beslenirler ve bu arterler sirotik zeminde görülmezler. DDDN'den YDDN'e ve HSK aşamalarına doğru sayıları ve boyutları artar. DN'lerde portal alanlar varlığını korur ancak sayıları azalır!! Normalde KC sinüzoidlerinde bazal membran yokken, artmış kan akımı ve basıncına bağlı BM oluşur ve buna "sinüzoidal kapillarizasyon" adı verilir. Sinüzoidal kapillarizasyon sirozda minimal iken, arteryal kanlanmaya bağlı HSK gelişim aşamalarında artış gösterir. Sinüzoid endoteli normalde CD34 negatif iken, sinüzoidal kapillarizasyon sonrası CD34 ve SMA ekspresyonu ortaya çıkar ve ekspresyon miktarı DDDN'den HSK'a doğru artış gösterir ancak belli bir eşik değeri yoktur (7, 31).

2.5.3.Küçük Hepatosellüler Karsinom (<2 cm nodüller)

Küçük HSK iki gruba ayrılmaktadır;

a) Erken evre HSK: “Belirsiz nodüler tip”

- makroskopik olarak belli belirsiz sınırlara sahip, kapsülsüz nodüller,
- ortalama çap: 11,9 mm

b) Küçük, ilerlemiş HSK: “Belirgin nodüler tip”

- belirgin sınırları olan bir kısmı kapsüllü,
- ortalama çap:16 mm

Bu sınıflama ilk Japon patoloğlar tarafından yapılmış olup, uzun yıllar batılı patoloğlarla Japonlar arasında tartışmaya neden olmuştur. Japonların “belirsiz nodüler tip erken HSK” dediğı olgular batılı patoloğlar tarafından yüksek dereceli displastik nodül olarak kabul edilmekteydi. 1995 yılında Asya ve Avrupa’dan 15 hepatopatoloğun katılımıyla düzenlenen “İnternational Consensus Group of Hepatic Neoplasia” panelinde nodüler hepatosellüler lezyonların terminolojisi tekrar gözden geçirilmiş, borderline olan bu lezyonlar tekrar değerlendirilmiş ve sonuçta “stromal invazyon” olanlara erken HSK, olmayanlara YDDN denilmesi kararı alınmıştır(59).

Erken HSK’yı, sirotik nodüllerden ayırmak zordur. Klinik olarak sıklıkla asemptomatik olup periyodik USG takipleri sırasında saptanırlar.AFP ve PIVKA-II düzeyleri normaldir. Radyolojik olarak kontrastlı MRG’de artmış hipervaskülarite ile birlikte, intrasellüler kontrast madde tutulumunun azalması ya

da yokluğu HSK için spesifiktir. Kontrast maddenin venöz fazda hızla boşalması malignite için oldukça spesifiktir ancak erken HSK’larda bu bulgu görülmeyebilir.

Histolojik olarak; KHD hatırlatan küçük, N/S oranı artmış, hiperkromatik nükleuslu neoplastik hepatositlerden oluşur. Hücre dansitesi çevre karaciğere oranla 2-3 kat artmıştır. İrregüler ince trabeküler patern (2-3 hücre kordonu kalınlığında) ve pseudogland gibi yapısal atipi bulguları görülebilir. Yağlı değişiklik sıktır ve ortalama %40 olguya eşlik eder. Erken HSK’da portal alanlar varlığını koruyabilir. Vasküler invazyon ya da intrahepatik mikrometastaz görülmez. Yüksek dereceli displastik nodül ile ayırıcı tanısında en önemli parametre “stromal invazyon” varlığıdır (7, 31, 51). Nodül çevresinde rezidü portal alanların varlığı ve CK-7/CK-19 boyaları ile duktüler reaksiyon yokluğu stromal invazyonu gösterir. Retikülin çatı erken HSK’da genelde azalır ancak ilerlemiş HSK’daki gibi total kayıp görülmez. Erken HSK ilerlemiş HSK’nın öncü lezyonu olarak düşünülmektedir. Bazı ilerlemiş HSK’ların periferinde erken HSK görülmesi hepatokarsinogenezin çok aşamalı olduğunun göstergesidir (nodül içi nodül paterni). Bu özellikleri nedeniyle erken HSK karaciğerin “karsinoma in-situ” ya da “mikroinaziv karsinomu” olarak kabul edilir (60).

2.5.4.HSK Tanı Kriterleri

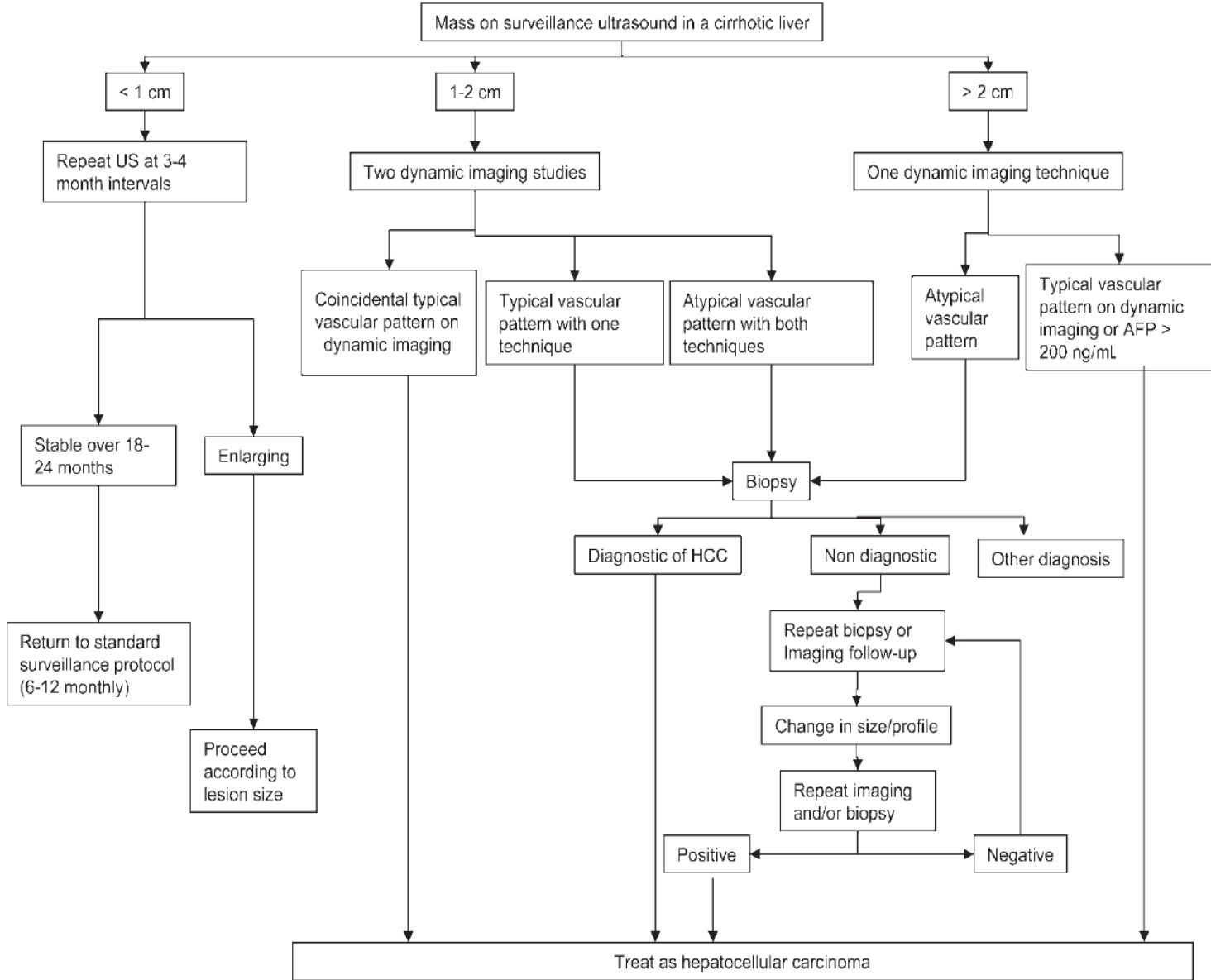
HSK tanısı için radyoloji, seroloji (AFP düzeyi) ve biyopsi birlikte değerlendirilmelidir. Bu sayede bazı olgulara biyopsi yapılmadan HSK tanısı konulabilmekte ve cerrahi yapmadan kemoembolizasyon/ radyoembolizasyon gibi tedavi yöntemleri uygulanabilmektedir.

HSK tanı kriterleri (61):

1. >2 cm nodüler lezyon ve AFP düzeyi >200 ng/mL
2. >2 cm nodüler lezyon ve herhangi bir görüntüleme yöntemiyle malignite kriterlerinin saptanması
3. 1-2 cm arası nodüler lezyon ve herhangi iki görüntüleme yöntemiyle malignite kriterlerinin saptanması
4. Histolojik olarak HSK tanısının konfirmasyonu;

European Association for the study of the liver (EASL) algoritmasına göre; >2 cm, AFP düzeyi normal ve dinamik görüntülemelerde vasküler bulguları karakteristik olmayan nodüllere ve 1-2 cm arası tipik radyoloji bulguları olmayan nodüllere biyopsi önerilmektedir. <1 cm nodüllerin malign olma ihtimali düşüktür ve “bekle gör” yaklaşımı ile 3 aylık radyolojik takip önerilmektedir (62). Sirotik KC’de saptanan nodüler lezyonlara yaklaşım algoritması **Şema2**’de gösterilmiştir.

Mikroskopik olarak erken evre HSK ile YDDN ayrımı oldukça zordur. 2-3 hücre kalınlığında hepatosit kordonlarından oluşan trabeküler patern, KHD, asiner ya da pseudoglandüler yapılanma, şeffaf hücre/yağlı değişiklik erken iyi diferansiye HSK’yi düşündürse de kesin tanı “stromal invazyon”un gösterilmesi ile konulabilir. Ancak stromal invazyonu değerlendirmek özellikle iğne biyopsilerinde her zaman mümkün değildir. Histokimyasal olarak gümüş boyası ile retiküler çatıda fokal kayıp olması, immünohistokimyasal olarak ise Glypican-3, Glutamin sentetaz ve HSP-70 boyalarından herhangi ikisinin ya da üçünün birlikte pozitifliği erken HSK tanısını desteklemektedir (7, 60, 63).



Şema 2: Sirotik karaciğerde saptanan nodüler lezyonlara yaklaşım algoritması

(*HEPATOLOGY*, Vol. 42, No. 5, 2005, Management of Hepatocellular Carcinoma

Jordi Bruix, Morris Sherman)(61)

2.6.Kullanılan immünohistokimyasal belirteçler

2.6.1.Glutamin Sentetaz

Glutamin Sentetaz (GS) nitrojen metabolizmasında rol oynayan, glutamat ve amonyaktan glutamin sentezleyen bir enzimdir. Normalde karaciğerde santral ven çevresindeki hepatositlerde 1-2 hücre kordonunda ekspresyon mevcuttur. GS, ayrıca B-katenin /Wnt sinyal yolağının hedef genlerinden biridir. B-katenin normalde hücre membranında yer alırken, mutasyon sonucu nükleer translokasyon gelişir ve immünohistokimyasal olarak saptanabilir. B-kateninin nükleer translokasyonu ile hücre içinde GS düzeyi artar. GS'ın diffüz ve kuvvetli pozitifliği, B-katenin yolağındaki anormalliklere bağlı gelişmiş tümörlerde ortaya çıkmaktadır. HSK'ın %20'sinde ve Hepatosellüler adenomların bir kısmında B-katenin mutasyonu görülmektedir (7, 63). GS'ın diffüz ekspresyonu neoplazi işaretidir ve boyanma oranı displastik nodülden HSK'a gittikçe artmaktadır. Di Tommaso ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada GS ekspresyonu YDDN'lerde %14, iyi diferansiye erken HSK'da %59, orta-az diferansiye HSK'da %86 oranında saptanmıştır (64).

GS ayrıca, fokal nodüler hiperplazi (FNH) olgularında, santral ven etrafında kalın hücre kordonlarında birbiriyle anastomozlaşan şekilde (coğrafik / “map-like” benzeri patern) boyanma göstermektedir (63, 65). Sirozda, portal alan-hepatik ven dağılımı bozulduğu için, nodüller etrafında rejenere olan hepatositlerde boyanma olabileceği gibi, santral ven çevresinde ekspresyon kaybı da izlenebilir (66).

2.6.2.Heat Shock Protein-70 (HSP-70)

HSPler, moleköl ağırlıklarına göre sınıflandırılan, hücre siklusunun regülasyonunda ve apoptoziste önemli rol oynayan şaperon stres proteinleridir (7, 63). HSP-70 kuvvetli bir antiapoptotik proteindir. Bir çalışmada, erken HSK, DN ve non-kanseröz dokularda 12600 gen analizi yapılmış ve erken HSK komponenti ile nonkanseröz alanları ayırmada 95 gen; erken HSK ile ilerlemiş HSK'ları ayırmada 92 genin moleküler önemi olduğu saptanmış. Bu genler arasında erken HSK'da en fazla ekspresyonu artan gen HSP-70'dir (67). HSP-70 immünohistokimyasal olarak nükleer+sitoplazmik boyanma gösterir. HSP-70 ekspresyonu (pozitif hücre oranı), preneoplastik lezyonlara göre erken HSK'da, erken HSK'a göre ilerlemiş HSK'da anlamlı olarak daha yüksektir. Non-kanseröz hepatositlerde fokal zayıf nükleer boyanma olabilir. Hepatosellüler adenom ve fokal nodüler hiperplazi gibi benign nodüler lezyonlarda negatiftir. Dolayısıyla benign / malign KC nodüllerinin ayırmada kullanışlı bir belirteç olduğu düşünülmektedir (60).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Vakaların Seçilmesi

Çalışmamızda Ocak 2006 ile Ocak 2014 yılları arasında Gazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalında değerlendirilen hepatektomi, KC sağ/sol lobektomi, kısmi rezeksiyon ve wedge biyopsi materyalleri hastane otomasyon sistemi kullanılarak taranmıştır. **Siroz** tanısı alan toplam 50 vaka arasından 43'ü çalışmaya dahil edilmiştir. Biliyer atrezi, progresif familial intrahepatik kolestaz (PFIC) gibi çocukluk çağıının kolestatik hastalıkları çalışma dışı bırakılmış, alfa-1 antitripsin eksikliği, tirozinemi ve Wilson gibi metabolik hastalıklar çalışmaya dahil edilmiştir.

Vakalara ait patoloji raporlarından yaş, cinsiyet, materyalin tipine ait bilgiler elde edilmiştir. Hastaların klinik bilgilerine (asit, varis, kanama durumu) ve radyolojik bulgularına ise (portal ven çapı, splenik ven çapı, kollateral varlığı, KC boyutu ve dalak boyutu) hastane otomasyon sistemi kullanılarak ulaşılmıştır. Portal ven çapı >13 mm, splenik ven çapı>10 mm ve dalak boyutu>13 cm, portal hipertansiyon (PHT) açısından anlamlı değerler olarak kabul edilmiştir. Asit, varis ve kanama durumuna göre hastalar kompanse ve dekompanse olarak iki evreye ayrılmıştır.

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde **23.05.2012** tarihinde **212** numaralı karar ile yerel etik kurul onayı alınmıştır. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **01/2012-52** proje kod numarası ile desteklenmiştir.

3.2.Morfolojik Parametreler

KC örneğinin türüne göre en az 2, en fazla 25 lam mevcuttu ve tüm hematoksilen eozin (H&E) boyalı lamlar aşağıdaki parametreler açısından tekrar değerlendirildi.

Laennec fibrozis skoru: Genel bilgiler kısmında **Tablo 5 ve 6**'da gösterilen Laennec fibrozis skarlama sistemine göre tüm siroz vakaları yeniden skorlandı. Rezeksiyon materyallerinde birden fazla skorun birarada görülmesi nedeniyle, dominant skor ve eşlik ediyorsa bir üst kategorideki ikinci skor verilerek 5 alt grup yapıldı; 4A,4A+4b,4B,4B+4c ve 4C. İğne biyopsilerinde yapılan skarlamadan yola çıkılarak (ince fibröz septalar=F4A, en az 2 geniş septa=F4B, en az 1 çok geniş septa=F4C) LFS 4A+4b olan vakalar bir üst skor olan 4B'ye; 4B+4c vakaları bir üst skor olan 4C'ye aktarılarak hastaların dağılımı tekrar yapıldı (**Resim 6**).

Portal/septal inflamasyon: Portal alan ve septalardaki inflamasyon varlığı İSHAK skarlama sistemine göre;

- yok: 0,
- septaların bir kısmı ya da hepsinde hafif inflamasyon: 1,
- septaların bir kısmı ya da hepsinde orta derecede inflamasyon: 2,
- tüm septalarda orta/belirgin inflamasyon: 3,
- tüm septalarda belirgin inflamasyon: 4 olarak skorlandı (37).

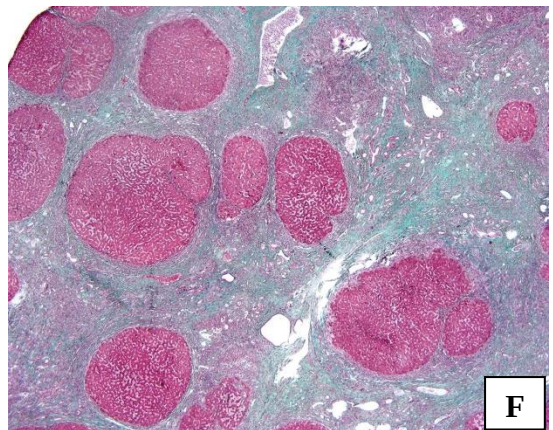
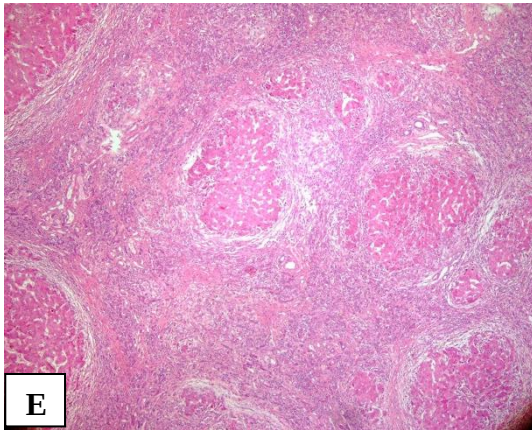
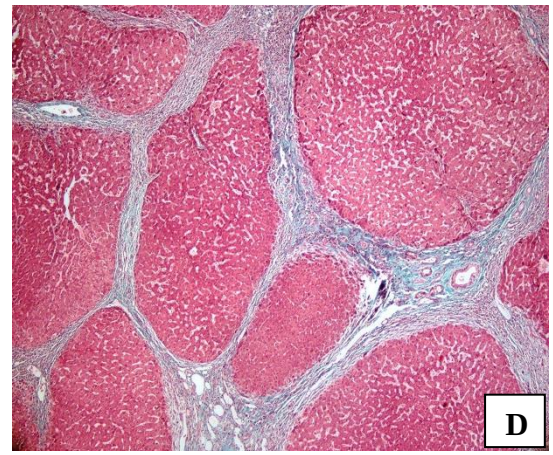
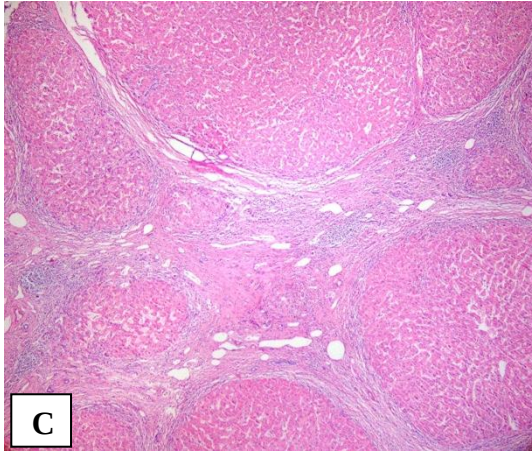
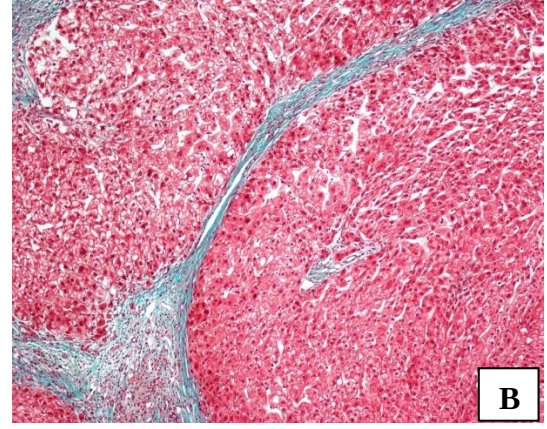
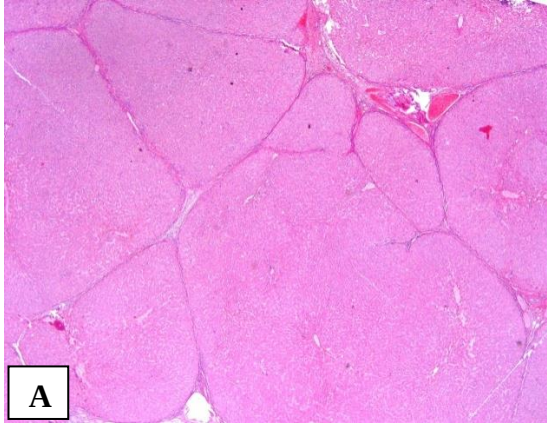
İnterfaz aktivite: Portal alan ve septalardaki interfaz aktivite varlığı İSHAK skarlama sistemine göre;

- yok: 0,
- fokal az sayıda septada hafif interfaz: 1,
- fokal çoğu septada hafif/orta interfaz: 2,
- %50'nin altında septada orta derecede, devamlılık gösteren interfaz: 3,
- %50'nin üstünde septada belirgin, devamlılık gösteren interfaz aktivite: 4 olarak skorlandı (37).

Nodül içi nekroinflamatuvar aktivite (NİA): Sirotik nodüllerin içinde izlenen lobüler ve portal inflamasyonun varlığına göre; yok, fokal ya da belirgin olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Kolestaz bulguları eşlik ediyorsa var / yok şeklinde belirtildi.

Tüm vakalar preneoplastik lezyonların varlığı açısından tekrar gözden geçirildi ve siroz zemininde gelişen hepatosellüler karsinom vakaları belirlendi. 7 adet makrorejeneratif nodül, 4 adet displastik odak, 3 adet düşük dereceli displastik nodül, 7 adet yüksek dereceli displastik nodül ve 2 adet erken hepatosellüler karsinom odağı içeren ve siroz zemininde gelişmiş 12 ileri HSK'dan seçilen uygun bloklardan immünhistokimyasal olarak Glutamin sentetaz ve HSP-70 boyaları çalışıldı. Non-tümöral sirotik nodüllerin boyanma özellikleri kontrol amaçlı değerlendirilerek preneoplastik lezyonlar ve HSK bulguları ile karşılaştırıldı.



Resim 6: (A) LFS 4A: H&E ve (B)Trikrom boyalı kesitlerde ince fibröz septalar ve büyük nodüller, (C,D) LFS 4B: Geniş septa yapıları ve biyopsinin %50'den azında küçük nodüller, (E,F) LFS 4C: Çok geniş septa yapıları ve biyopsinin %50'den fazlasında küçük nodüller

3.3.İmmünohistokimyasal Boyama

Glutamin Sentetaz ve HSP-70 (Heat Shock Protein-70) ekspresyonlarını belirlemek için streptavidin-biyotin indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapıldı. Glutamin Sentetaz (Abcam, ab73593, rabbit poliklonal) ve HSP-70 (Novocastra, 8B11, mouse monoklonal) antikorları sırasıyla 1/1000 ve 1/20 oranlarında dilue edildi. Biyotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikor, streptavidin-biyotin kompleksi ve kromojen olarak kullanılan 3-Amino-9 Ethylcarbazole (AEC) kullanıma hazır ticari kitlerdi. Glutamin sentetaz boyaması EXPOSE Rabbit spesifik HRP-AEC hazır kiti kullanılarak yapıldı.

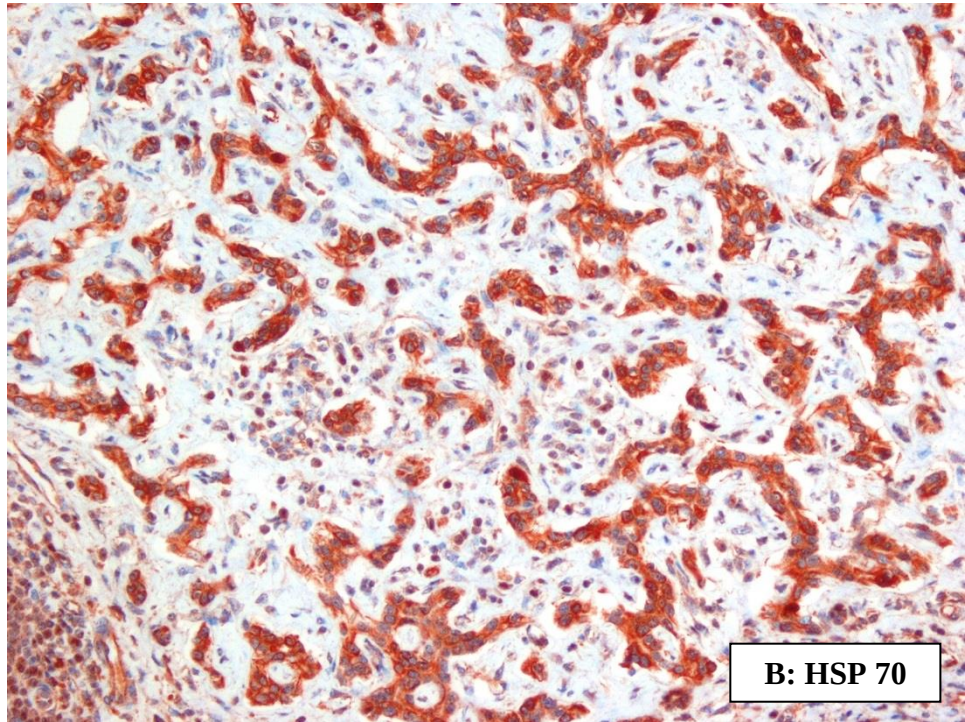
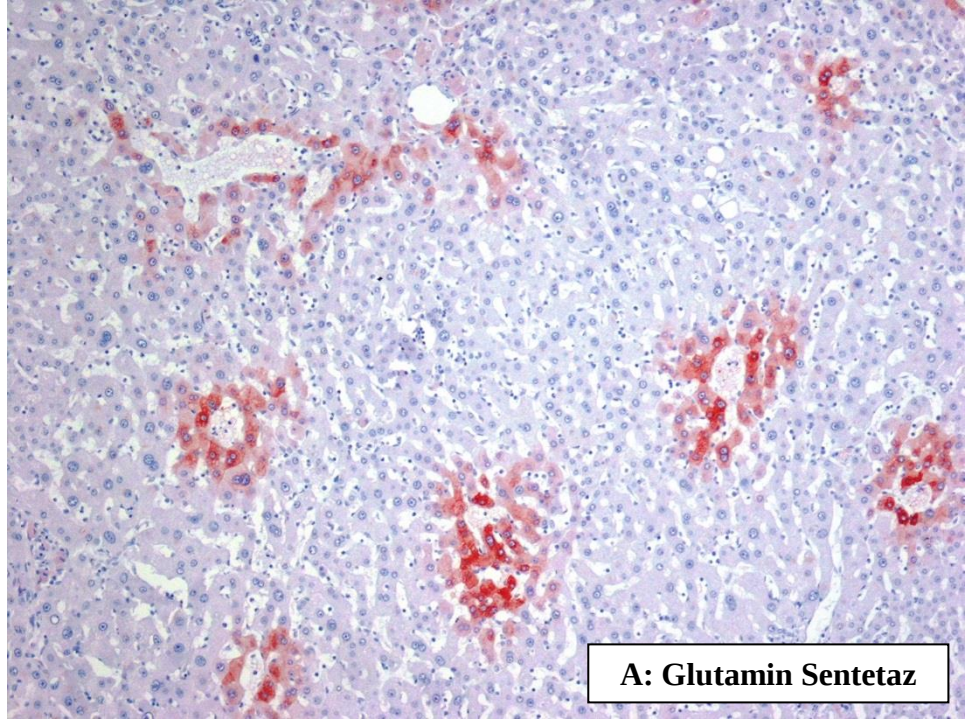
Glutamin sentetaz antikorun pozitif kontrolü olarak normal KC dokusu kullanıldı ve internal kontrol olarak perivenüler hepatositlerdeki **sitoplazmik** boyanmalar değerlendirildi (**Resim 7A**). HSP-70 antikoru için eksternal kontrol olarak HSK ve internal kontrol olarak reaktif safra duktuslarındaki **nükleositoplazmik** boyanmalar değerlendirildi (**Resim 7B**).

Parafin bloklardan hazırlanan kesitler HSP-70 ve Glutamin sentetaz antikorları ile aşağıdaki prosedüre göre boyandı;

1.Polilizinli lam üzerine alınan 4 mikronluk kesitler 56C’de etüvde gece boyunca deparafinize edildi.

2.Kesitler ksilolde 30 dakika bekletildi.

3.Fiksasyon için %96’lık alkolde 10 dakika tutuldu.



Resim 7: (A) İnternal kontrol olarak perivenüler alanlarda sitoplazmik GS boyanması ve (B) Reaktif safra duktuslarında nükleositoplazmik HSP 70 boyanması

4.Kesitler distile su ile yıkandı.

5.Antijen retrieval işleminde antikorlar sitrat buffer (pH 6.0) ile mikrodalgada yüksek sıcaklıkta 20 dakika tutuldu, ardından oda sıcaklığına gelene kadar dışarda bekletildi.

6.Kesitler distile su ile 2 kez, PBS ile 1 kez yıkandı.

7.Endojen peroksidazı bloke etmek için oda sıcaklığında %3'lük hidrojen peroksitte 10 dakika bekletildi. Glutamin sentetaz antikorunda bu aşama antijen retrieval işleminden önce yapıldı.

8. Kesitler PBS ile 2kez yıkandı.

9. Yalnızca glutamin sentetaz antikoru için oda sıcaklığında Ultra V blok uygulanarak 10 dakika bekletildi ve kesitler PBS ile 1 kez yıkandı.

10.Primer antikor olan HSP-70 ve Glutamin sentetaz lam üzerindeki doku kesitlerini kapatacak şekilde damlatıldı ve oda sıcaklığında 2 saat bekletildi.

10. Kesitler PBS ile 3 kez yıkandı.

11. HSP-70 boyanan kesitler bağlayıcı (sekonder) antikor ile oda sıcaklığında 10 dakika süre ile inkübasyon yapıldı.

12. Kesitler PBS ile yıkandı.

13. Streptavidin-biyotin kompleksi uygulanarak 10 dakika bekletildi.

14. Glutamin sentetaz boyanan kesitlere sekonder antikor ve streptavidin-biyotin kompleksi uygulaması yerine, bunlara karşılık tek aşamada Rabbit spesifik HRP konjugat uygulanarak, oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.

15. Kesitler PBS ile 4 kez yıkandı.

15. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla AEC ile 5-10 dakika süre ile inkübasyon yapıldı..

16. Kesitler distile su ile yıkandı.

17. Mayer's hematoksilen ile zemin boyaması yapıldı.

18.Lamlar 7-8 kez çeşme suyu ile yıkandı.

19.Su bazlı kapatıcı kullanılarak lamlar kapatıldı.

3.4.İmmünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi:

Glutamin sentetaz ekspresyonu normal KC'de perivenüler alandaki hepatositlerde varolduğu için, perivenüler boyanma ve sirotik nodüllerdeki dağınık boyanma negatif (nonneoplastik); diffüz boyanma pozitif (neoplastik) olarak kabul edildi. Neoplastik boyanmalar; fokal ve diffüz olarak belirtildi ve boyanma derecesi zayıf, orta ve kuvvetli olarak derecelendirildi. İstatistiksel analiz negatif (nonneoplastik) ve pozitif (neoplastik) arasında yapıldı.

HSP-70 antikorunun hem nükleer, hem sitoplazmik boyanması pozitif olarak kabul edildi. Sitoplazmik ve nükleer boyanma dereceleri birbiriyle

korelasyon göstermediği için ayrı ayrı skorlandı. Her iki parametre için de ≤ 10 hücrede sitoplazmik ve/veya nükleer boyanma “0=negatif” olarak değerlendirildi.

- %11-%50 arası hücrede zayıf **sitoplazmik** boyanma “1+”,
- >%50 hücrede orta derecede **sitoplazmik** ya da fokal (%50’nin altında) ama kuvvetli **sitoplazmik** boyanma “2+” ve
- >%50 hücrede kuvvetli **sitoplazmik** boyanma “3+” olarak skorlandı.

- %11-%50 arası hücrede (seyrek) zayıf-orta **nükleer** boyanma “1+”,
- >%50 hücrede zayıf-orta derecede **nükleer** boyanma “2+”,
- >%50 hücrede (yaygın-diffüz) kuvvetli **nükleer** boyanma “3+” olarak skorlandı.

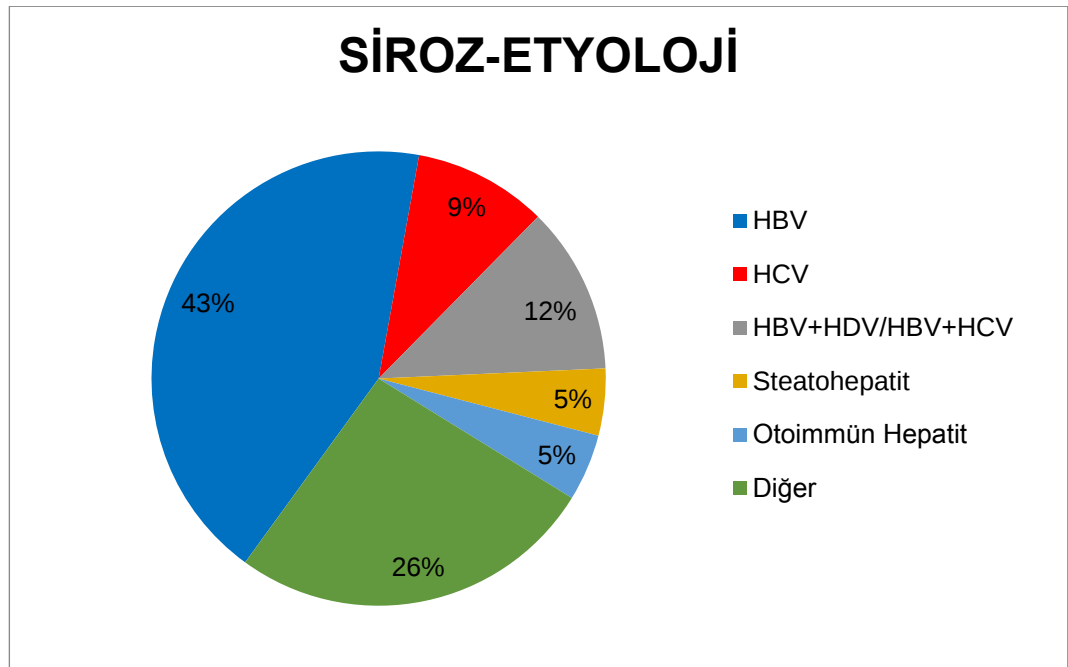
3.5.İstatistiksel Analiz

Araştırma verileri SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, USA) istatistik paket programı aracılığıyla değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama ($\pm$)standart sapma, frekans dağılımı ve yüzde olarak sunuldu. Ordinal verilerin karşılaştırılmasında Spearmen korelasyon testi kullanıldı. Laennec fibrozis skorları ve histolojik parametrelerle hastaların asit,varis,kanama durumu ve Doppler USG verileri (portal ven çapı, splenik ven çapı, kollateral varlığı, karaciğer ve dalak boyutu); immünhistokimyasal sonuçlarla nodül tipleri Ki-kare, POST-HOC Bonferronni düzeltmeli Ki-kare ve Mann Whitney U testleri ile araştırıldı. Karşılaştırmalarda P değeri $<0,05$ olanlar anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1.Hastaların demografik özellikleri ve histolojik parametrelerin dağılımı

Kırküç hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması $46,1 \pm 20,3$ olup, yaş aralığı 3-88 idi. Hastaların 34'ü erkek, 9'u kadındı. Etiyoloji 18 hastada HBV, 4 hastada HCV, 5 hastada HBV+HDV süperenfeksiyonu ve HBV+HCV koenfeksiyonu, 2 hastada steatohepatit ve 2 hastada otoimmün hepatit olarak saptandı. Geride kalan 11 vakayı ise kriptojenik siroz ve tirozinemi, alfa-1 antitripsin eksikliği, Wilson gibi metabolik hastalıklar oluşturmaktaydı(**Grafik1**). 1 hasta dış merkez konsültasyonu olup etyoloji bilgisine ulaşılamadı, yalnızca morfolojik değerlendirme yapıldı. Hastaların demografik özellikleri **Tablo 7**'de özetlenmiştir.



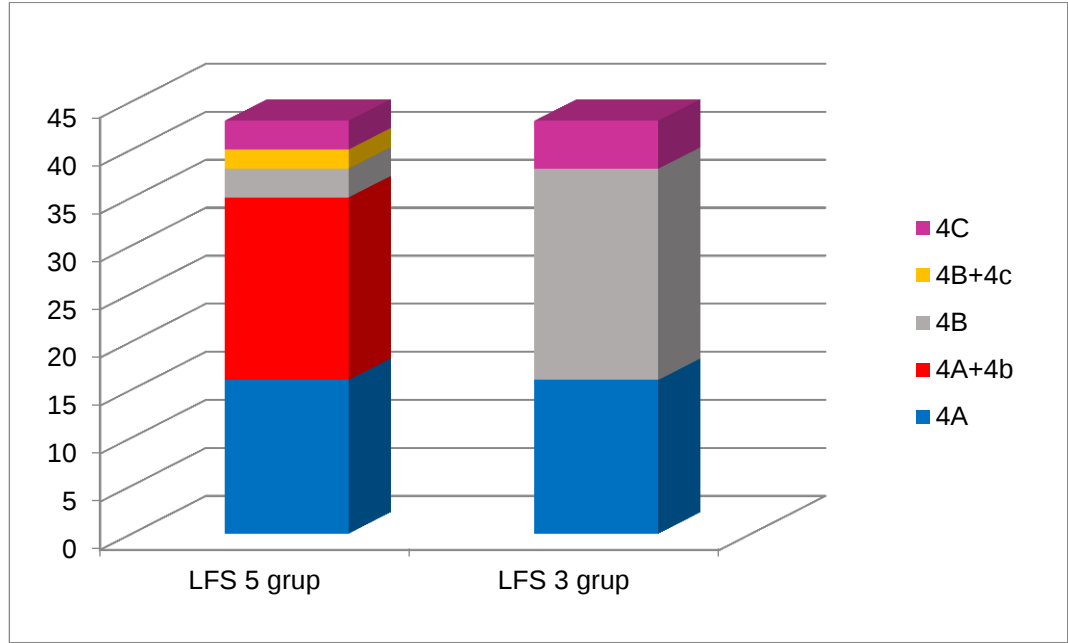
Grafik 1: Siroz vakalarının etyolojiye göre dağılımı

Tablo 7: Siroz hastalarının genel demografik özellikleri

Yaş ortalama±SD / ortanca (min-max)	46,1 ± 20,3 / 53,5 (3-88)
Cinsiyet (E/K)	34(%79,1) / 9(%20,9)
Etyoloji	
HBV	18 (%42,9)
HCV	4 (%9,5)
HBV+HDV veya HBV+HCV	5 (%11,9)
Steatohepatit	2 (%4,8)
Otoimmün Hepatit	2 (%4,8)
Diğer(Tirozinemi,Alfa1 AT eksikliği,Wilson,Kriptojenik)	11 (%26,2)
Total	42 (%100)
Tümör Varlığı	
Yok	30 (%69,8)
Var	13 (%30,2)
Total	43 (%100)
Tümör çapı ortalama±SD	4,7±2,7
AFP düzeyi ortanca (min-max)	7,5 (1,4-17500)
Asit	
Yok	18 (%51,4)
Var	17 (48,6)
Total	35 (%100)
Varis	
Yok	7 (%33,3)
Var	14 (%66,7)
Total	21 (%100)
Kanama	
Yok	16 (%69,6)
Var	7 (%30,4)
Total	23 (%100)
Kollateral varlığı	
Yok	7 (%25,9)
Var	20 (%74,1)
Total	27 (%100)
Portal Ven Çapı	
<13 mm	13 (%48,1)
>13 mm	14 (%51,9)
Total	27 (%100)
Splenik Ven Çapı	
<10 mm	14 (%56,0)
>10 mm	11 (%44,0)
Total	25 (%100)
Dalak Boyutu	
<13 cm	9 (%24,3)
>13 cm	28 (%75,7)
Total	37 (%100)
Evre	
Kompanse	11(%34,4)
Dekompanse	21(%64,6)
Total	32 (%100)

13 vakada siroz zemininde hepatosellüler karsinom saptandı. Bu vakalarda ortalama tümör çapı $4,7 \pm 2,7$ olup, AFP düzeyine ulaşılan 11 vakada ortalama AFP 2198, ortanca-min max değerleri 2168 (2,6-17500)'dir. Tüm siroz hastalarının AFP düzeyi (ortanca/min-max) 7,5 (1,4-17500) idi. Klinik bilgilerine ulaşılabilen hastalardan, 17'sinde asit, 14'ünde varis, 7'sinde özefagus varis kanaması ve 20 hastada radyolojik olarak kollateral oluşumu mevcuttu. Portal ven çapı 13 hastada 13 mm'nin altında, 14 hastada 13 mm'nin üstündeydi. Splenik ven çapı 10 mm'nin altında 14 hasta, 10 mm'nin üstünde 11 hasta saptandı. Dalak boyutu 13 cm'in altında 9 hasta, 13 cm'in üstünde 28 hasta mevcuttu. Hastaların 11'i kompanse, 21'i dekompanse evredeydi. Klinik bilgisi yetersiz olan 11 vakada evre belirlenemedi.

Biyopsi materyallerinin 29'u total hepatektomi, 8'i lobektomi ya da kısmi rezeksiyon, 5'i wedge biyopsi ve 1'i hazır parafin bloktan oluşmaktaydı. Laennec fibrozis skorları 16 vakada 4A, 19 vakada 4A+4b, 3 vakada 4B, 2 vakada 4B+4c ve 3 vakada 4C olarak bulundu. Rezeksiyon materyallerinde, özellikle total hepatektomilerde çok sayıda lam incelendiğinde farklı skorların birarada bulunduğu gözlemlendi. Bu nedenle iğne biyopsilerinde 3 kategori olarak yapılan Laennec fibrozis skorlamasına, bu çalışmada 4A+4b ve 4B+4c olmak üzere 2 alt kategori eklendi. İlk skor (örneğin 4A) dominant skoru verirken, eşlik eden skor (4b) küçük harfle gösterildi. Bu gruptaki vakaları bir yüksek skor grubuna aktardığımızda, yani 4A+4b olanları 4B'ye; 4B+4c olanları 4C'ye, hasta sayıları sırasıyla 4A=16, 4B=22, 4C=5 olarak belirlendi (**Grafik 2**).



Grafik 2:Laennec Fibrozis Skorlarının genel dağılımı

LFS yanısıra portal/septal inflamasyon, interfaz ve nodül içi nekroinflamatuvar aktivite (NİA) de değerlendirildi. Septalardaki inflamasyon derecesi İshak skorlama sistemine göre 0,1,2,3 ve 4 grupta skorlandı ve skorların sırasıyla hasta sayılarına dağılımı 1, 7, 14, 18 ve 3 bulundu. İnflamasyon derecesi en fazla 2 ve 3 skorlarında yığılma göstermekteydi. İnterfaz aktivite derecesi de 0,1,2,3,4 olarak skorlandı ve sırasıyla 6,13,14, 6 ve 4 hasta bulundu. Nodül içi NİA 13 vakada izlenmezken, 22 vakada fokal, 8 vakada belirgin olarak saptandı. 6 vakaya kolestaz eşlik etmekteydi.

Rezeksiyon tipleri ve histolojik parametrelerin dağılımı **Tablo8**'de, materyal tiplerine göre LFS'nin dağılımı **Tablo 9**'de gösterilmiştir.

Tablo 8: Siroz olgularında histolojik parametrelerin genel dağılımı

Rezeksiyon tipleri ve histolojik parametreler	Vaka sayısı (%)
Rezeksiyon tipi	
Total Hepatektomi	29 (%67,4)
Lobektomi ya da Kısmi Hepatektomi	8 (%18,6)
Wedge Biyopsi	5 (%11,6)
Hazır Parafin Blok	1 (%2,3)
Total	43 (%100)
Laennec Fibrozis Skoru (LFS)	
4A	16 (%37,2)
4A+4b	19 (%44,2)
4B	3 (%7,0)
4B+4c	2 (%4,7)
4C	3 (%7,0)
Portal / Septal inflamasyon derecesi	
0	1 (%2,3)
1	7 (%16,3)
2	14 (%32,6)
3	18 (%41,9)
4	3 (%7,0)
İnterfaz aktivite derecesi	
0	6 (%14,0)
1	13 (%30,2)
2	14 (%32,6)
3	6 (%14,0)
4	4 (%9,3)
Nodül içi nekroinflamatuvar aktivite	
Yok	13 (%30,2)
Fokal	22 (%51,2)
Belirgin	8 (%18,6)
Kolestaz	
Yok	37 (%86,0)
Var	6 (%14,0)

Laennec fibrozis skorlarının rezeksiyon tiplerine göre dağılımına baktığımızda 4A vakaların 3'ü (%18,8'i) total hepatektomi materyallerinde, 7'si (%43,8'i) lobektomi ve kısmi rezeksiyon materyallerinde, 5'i (%31,2'si) wedge

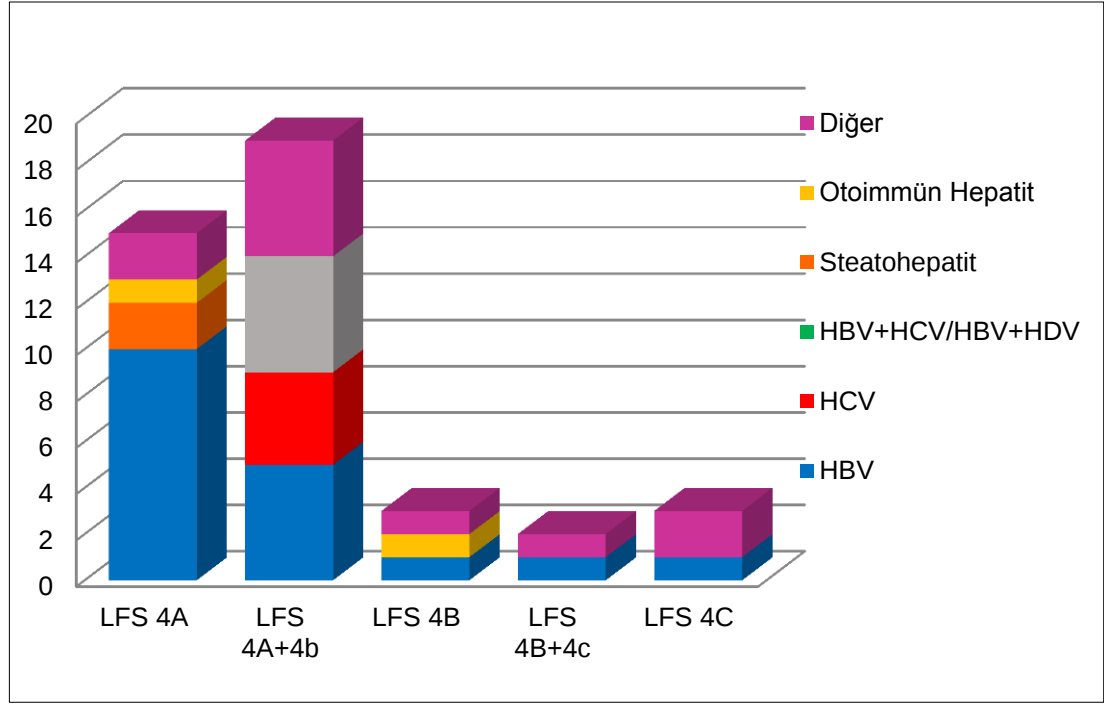
Tablo 9: Laennec fibrozis skorlarının rezeksiyon tiplerine göre dağılımı

Laennec fibrozis skoru	Rezeksiyon Tipi				Total
	Total Hepatektomi	Lobektomi Kısmi rezeksiyon	Wedge biyopsi	Hazır parafin blok	
4A	3 (%18,8)* (%10,3)**	7 (%43,8) (%87,5)	5 (%31,2) (%100)	1 (%6,2) (%100)	16 (%100) (%37,2)
4A+4b	19 (%100)* (%65,5)**	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	19 (%100) (%44,2)
4B	3 (%100) (%10,3)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	3 (%100) (%7,0)
4B+4c	2 (%100) (% 6,9)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	2 (%100) (%4,7)
4C	2 (%66,7) (% 6,9)	1 (%33,3)* (%12,5)**	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	3 (%100) (%100)
Total	29 (%67,4) (%100)	8 (%18,6) (%100)	5 (%11,6) (%100)	1 (%2,3) (%100)	43 (%100) (%100)
*sattır yüzdesi **kolon yüzdesi p=0,003*					

biyopsilerde ve 1'i (%6,2'si) hazır parafin blokta saptandı. 4A+4b, 4B, 4B+4c ve 4C vakalarının 1'i hariç tamamı total hepatektomi materyalinde bulunmuş olup, skor 4C olan 1 vaka sağ lobektomi materyalindeydi. LFSları 5 grup ve 3 grup ile rezeksiyon tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p değerleri sırasıyla **p=0,003*** ve **p=0,0001***).

LFS'nın etyolojiye göre dağılımı: LFS 4A vakaların 10'u HBV, 2'si Steatohepatit, 1'i otoimmün hepatit ve 2'si diğer grupta; LFS 4A+4b vakaların 5'i HBV, 4'ü HCV, 5'i koenfeksiyon ya da süperenfeksiyon ve 5'i diğer grupta; LFS 4B vakaların 1'i HBV, 1'i Otoimmün hepatit ve diğeri erişkin Primer

sklerozankolanjit; LFS 4B+4c vakaların 1'i HBV, diğeri Kriptojenik siroz; LFS 4C vakaların 1'i HBV, 1'i Wilson ve diğeri Kriptojenik siroz hastasıdır(**Grafik3**).



Grafik 3:Laennec Fibrozis Skorlarının etyolojiye göre dağılımı

HBV hastalarında ve diğer başlığı altında toplanan heterojen grupta her skora rastlanmıştır. En yüksek skor olan 4C skorunun izlendiği 5 hastanın 2'si (%40) HBV, 2'si Kriptojenik (%40) ve 1'i (%20) Wilson hastasıydı. LFS 5 grup ile etyoloji arasında anlamlı farklılık saptanmamasına rağmen ($p=0,12$), LFS 3 grup ile etyoloji arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,04^*$). LFS 3alt grup, portal/septal inflamasyon, interfaz aktivite ve nodül içi NİA derecelerinin etyolojiye göre dağılımı **Tablo 10**'da gösterilmiştir.

Tablo 10: Histolojik parametrelerin etyolojiye göre dağılımı

Histolojik parametreler	ETYOLOJİ						Total	P değeri
	HBV	HCV	HBV+HDV HBV+HCV	Steato-hepatit	Otoimmün Hepatit	Diğer		
Laennec Fibrozis Skoru								p=0,04*
4A	10(%66,7)	0(%0,0)	0(%0,0)	2(%13,3)*	1(%6,7)	2(%13,3)	15(%100)	
4B	6(%27,3)	4(%18,2)	5(%22,7)	0(%0,0)	1(%4,5)	6(%27,3)	22(%100)	
4C	2(%40,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	3(%60,0)	5 (%100)	
Portal/septal İnflamasyon								p=0,001*
0	0(%0,0)*	0(%0,0)	0(%0,0)	1(%100)	0(%0,0)	0(%0,0)	1(%100)	
1	2(%28,6)	0(%0,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	1(%14,3)	4(%57,1)	7(%100)	
2	8(%61,5)	1(%7,7)	0(%0,0)	1(%7,7)	0(%0,0)	3(%23,1)	13(%100)	
3	7(%38,9)	1(%5,6)	5(%27,8)	0(%0,0)	1(%5,6)	4(%22,2)	18(%100)	
4	1(%33,3)	2(%66,7)	0(%0,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	3(%100)	
İnterfaz								p=0,002*
0	0(%0,0)*	0(%0,0)	0(%0,0)	1(%16,7)	1(%16,7)	4(%66,7)	6(%100)	
1	11(%84,6)	0(%0,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	1(%7,7)	1(%7,7)	13(%100)	
2	5(%38,5)	2(%15,4)	0(%0,0)	1(%7,7)	0(%0,0)	5(%38,5)	13(%100)	
3	1(%16,7)	1(%16,7)	3(%50,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	1(%16,7)	6(%100)	
4	1(%25,0)	1(%25,0)	2(%50,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	0(%0,0)	4(%100)	
Nodül içi NİA								p=0,56
Yok	5(%41,7)*	1(%8,3)	0(%0,0)	1(%8,3)	1(%8,3)	4(%33,3)	12(%100)	
Fokal	11(%50,0)	2(%9,1)	2(%9,1)	1(%4,5)	1(%4,5)	5(%22,7)	22(%100)	
Belirgin	2(%25,0)	1(%12,5)	3(%37,5)	0(%0,0)	0(%0,0)	2(%25,0)	8(%100)	
*satır yüzdesi FisherX ² p<0,05 anlamlı								

İnflamasyon derecesi “0” olan tek vaka steatohepatit idi. “1” olan 7 vakadan 2’si HBV, 1’i otoimmün hepatit, 4’ü diğer grubundaydı. “2” olan 13 vakanın 8’i HBV, 1’i HCV, 1’i steatohepatit, 3’ü diğer grubundaydı. “3” olan 18 vakanın 7’si HBV, 1’i HCV, 5’i koenfeksiyon+süperenfeksiyon, 1’i otoimmün hepatit ve 4’ü diğer grubundaydı. HBV+HDV ve HBV+HCV birlikteliği olan vakaların hepsinde inflamasyon derecesi yüksek olup, 3 idi. İnflamasyon derecesi “4” olan 3 vakadan 1’i HBV, diğer 2’si HCV idi. HBV hastalarının %88,9’unda, HCV hastalarının %100’ünde 2 ve üzerinde inflamasyon derecesi saptandı.

İnterfaz aktivite derecesi “0” olan 6 hastanın 1’i steatohepatit, 1’i otoimmün hepatit, 4’ü diğer grupta yer almaktaydı. “1” olan 13 hastanın 11’i (%84,6) HBV, 1’i otoimmün hepatit, 1’i diğer grubundaydı. “2” olan 13 hastadan 5’i HBV, 2’si HCV, 1’i steatohepatit, 5’i diğer grubundaydı. “3” olan 6 hastanın 3’ü (%50) HBV+HDV ve HBV+HCV birlikteliği olan vakalar olup, 1’i HBV, 1’i HCV, 1’i diğer grubundaydı. “4” olan 4 hastadan 2’si (%50) HBV+HDV ve HBV+HCV birlikteliği olan vakalar olup, 1’i HBV ve 1’i HCV idi. İnflamasyon ($p=0,001*$) ve interfaz aktivite ($p=0,002*$) dereceleri ile etyoloji arasında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı farklılık saptandı.

Nodül içi fokal NİA saptanan 22 vakanın 11’i (%50) HBV, 2’si HCV, 1’i steatohepatit, 1’i otoimmün hepatit ve 5’i diğer gruptaydı. Belirgin NİA saptanan 8 vakanın 2’si HBV, 1’i HCV, 3’ü (%37,5) HBV+HCV/HBV+HDV birlikteliği ve 2’si diğer gruptaydı. Nodül içi NİA bulguları ile etyoloji arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,56$).

Histolojik parametreleri, klinik bulgularla (yaş, cinsiyet, tümör varlığı, asit, varis, kanama durumu ve evre; radyolojik olarak portal ven çapı, splenik ven çapı, dalak boyutu, KC boyutu ve kollateral varlığı) karşılaştırdığımızda LFS (5 alt grup) ile asit, varis, kanama durumu ve evre arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken; yaş, cinsiyet, tümör varlığı, kollateral oluşumu, portal ven çapı, splenik ven çapı, dalak boyutu ve KC boyutu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (**Tablo 11**).

Tablo 11: Laennec fibrozis skorunun klinik bulgulara göre dağılımı

Klinik bulgular	LAENNEC FİBROZİS SKORU					Total	P değeri
	4A	4A+4b	4B	4B+4c	4C		
Yaş (≤ 18 / > 18)	2/14	2/17	1/2	1/1	2/1	8/35	p=0,11
Cinsiyet (K/E)	4/12	3/16	1/2	1/1	0/3	9/34	p=0,63
Tümör (var/yok)	8/8	4/15	0/3	0/2	½	13/30	p=0,20
Asit (var/yok)	1/10	10/7	3/0	1/0	2/1	17/18	p=0,016*
Varis (var/yok)	1/6	10/0	1/1	1/0	1/0	14/7	p=0,005*
Kanama (var/yok)	0/9	6/4	0/2	1/0	0/1	7/16	p=0,02*
Kollateral (var/yok)	2/4	12/3	1/0	2/0	3/0	20/7	p=0,10
Portal ven çapı (≤ 13 mm / > 13 mm)	5/3	6/8	1/1	0/1	1/1	13/14	p=0,78
Splenik ven çapı (≤ 10 mm/ > 10 mm)	6/3	5/6	1/0	0/1	2/1	14/11	p=0,54
KC boyutu (N'den küçük / N / N'den büyük)	0/9/2	2/7/3	0/1/0	0/1/0	0/0/3	2/18/8	p=0,15
Dalak boyutu (≤ 13 cm/ > 13 cm)	7/7	2/15	0/1	0/2	0/3	9/28	p=0,07
Evre (kompanse/ dekompanse)	8/1	2/14	0/3	0/1	1/2	11/21	p=0,002*
X² P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı							

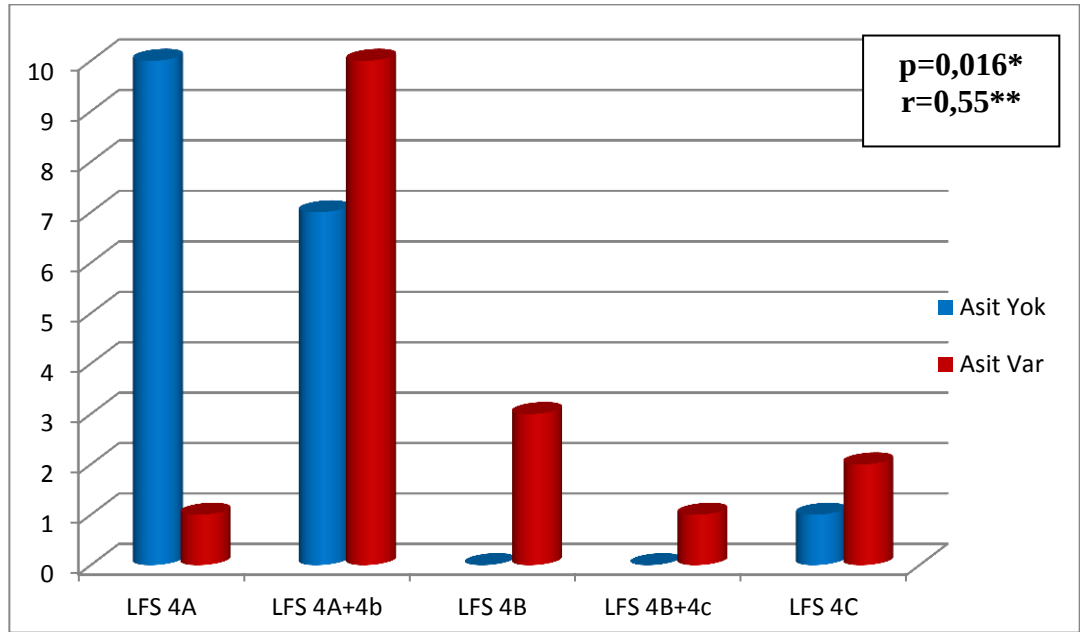
Klinik olarak 35 hastanın asidi olup olmadığına ilişkin bilgiye ulaşıldı. LFS'ü 4A olan 11 hastanın %9,1'inde asit mevcuttu. 4A+4b vakalarının %58,8'inde; 4B ve 4B+4c vakalarının ise hepsinde ve 4C vakalarının %66,7'sinde klinik olarak asit mevcuttu (**p=0,016**).

Klinik olarak 21 hastanın varisi olup olmadığına ilişkin bilgiye ulaşıldı. LFS'ü 4A olan 7 hastanın %14,3'ünde varis mevcuttu. 4B vakalarının %50'sinde; 4A+4b, 4B+4c ve 4C vakalarının %100'ünde varis mevcuttu (**p=0,005**).

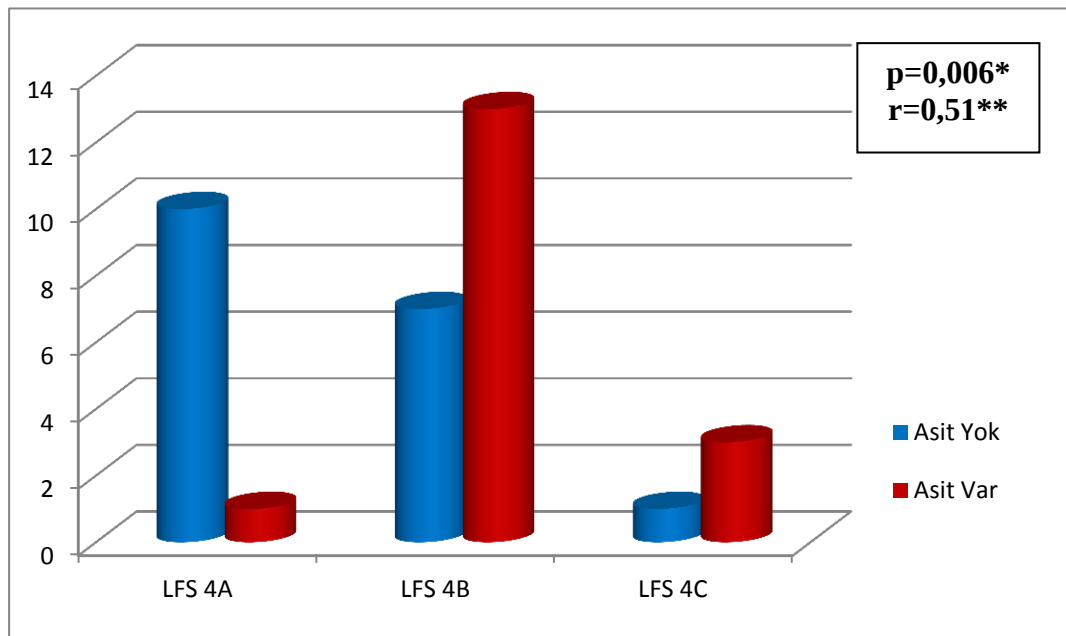
Klinik olarak 23 hastanın özefagus varis kanaması olup olmadığına ilişkin bilgiye ulaşıldı. LFS'ü 4A olan 9 hastanın, 4B olan 2 hastanın ve 4C olan 1 hastanın hiç birinde (%100) klinik olarak kanama görülmedi. LFS'ü 4A+4b olan vakaların %40'ında ve 4B+4c grubunda olan 1 vakada klinik olarak kanama mevcuttu (**p=0,02**).

Asit, varis, kanama ile Laennec alt gruplarının POST-HOC Bonferronni düzeltmeli Ki-kare testi ile tek tek birbiriyle ilişkisi karşılaştırıldığında F4A ile F4A+4b ve F4B arasında anlamlı farklılık saptanırken, diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

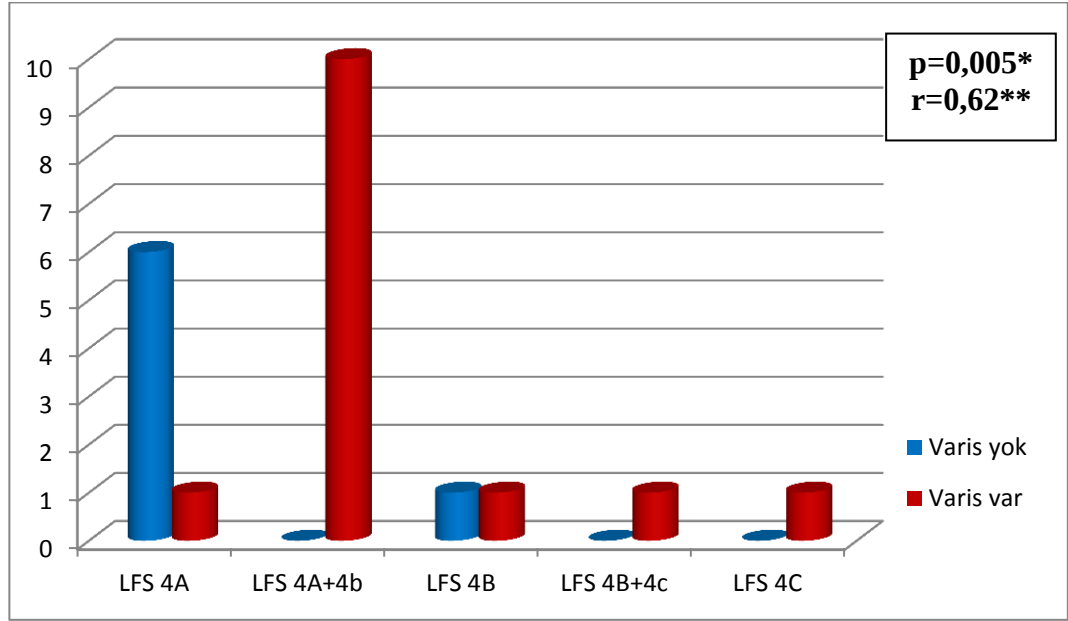
LFS 3 grup yapılarak aynı parametreler değerlendirildiğinde ise asit, varis, kanama ve evreye ek olarak, dalak boyutu arasında da anlamlı farklılık saptandı (**p=0,016**). LFS 5 alt grup ve 3 alt grubun asit, varis, kanama ve dalak boyutu ile ilişkisi **Grafik 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ve 11**'de gösterilmiştir.



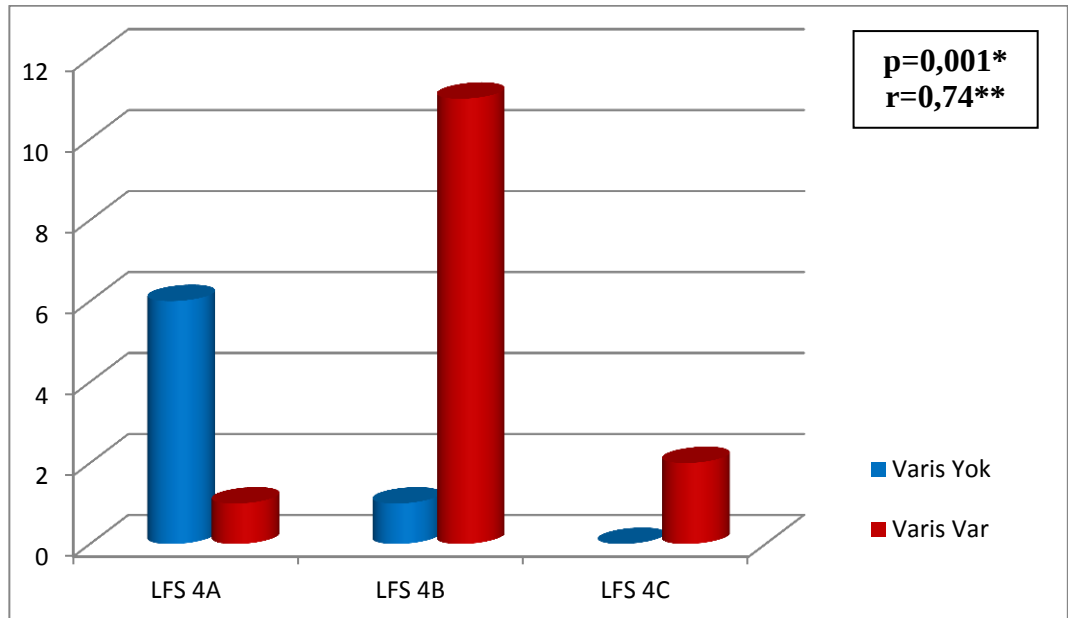
Grafik 4: Laennec fibrozis skoru 5 grup ile asit arasındaki ilişki



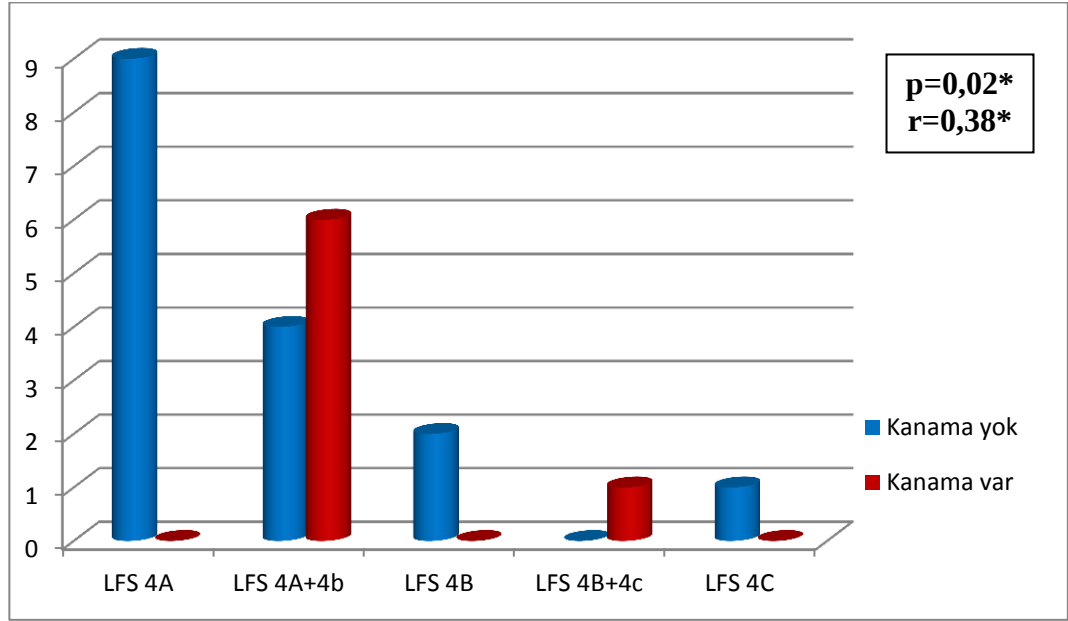
Grafik 5: Laennec fibrozis skoru 3 grup ile asit arasındaki ilişki



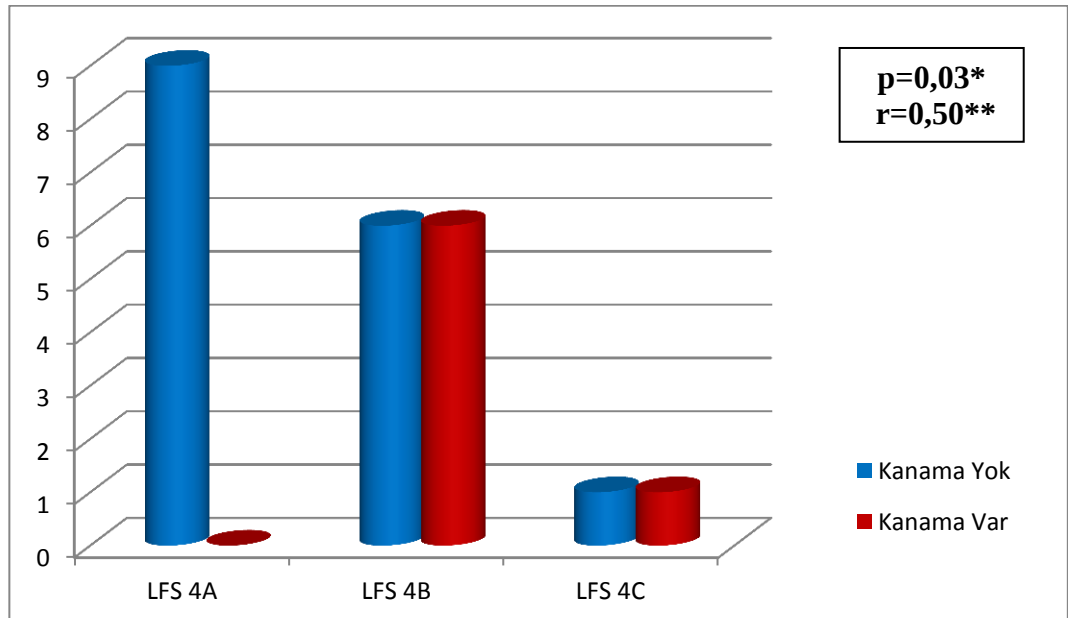
Grafik 6: Laennec fibrozis skoru 5 grup ile varis arasındaki ilişki



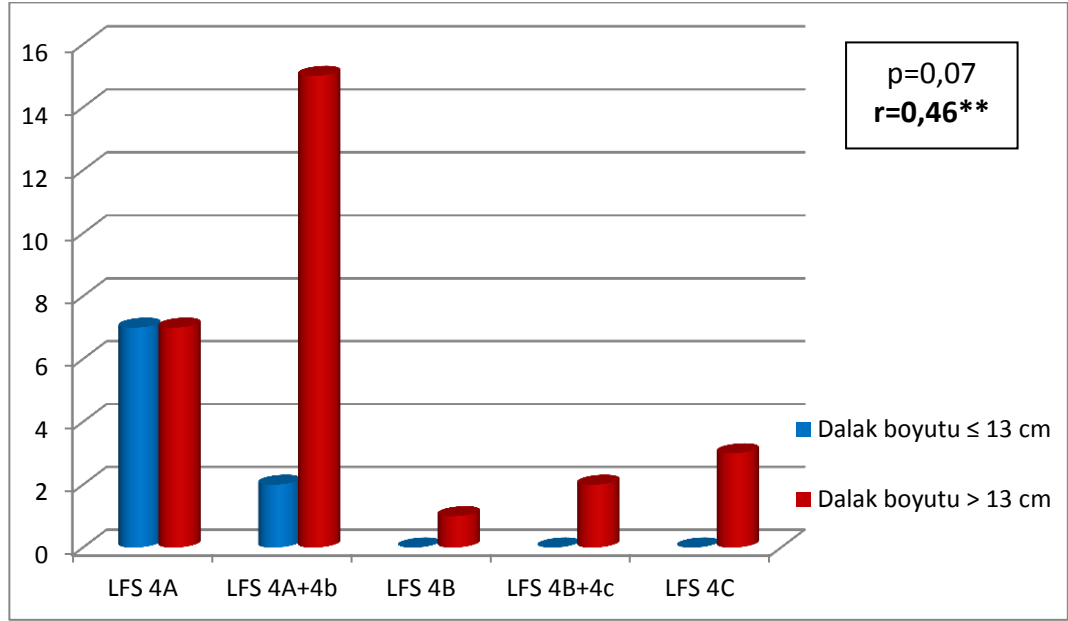
Grafik 7: Laennec fibrozis skoru 3 grup ile varis arasındaki ilişki



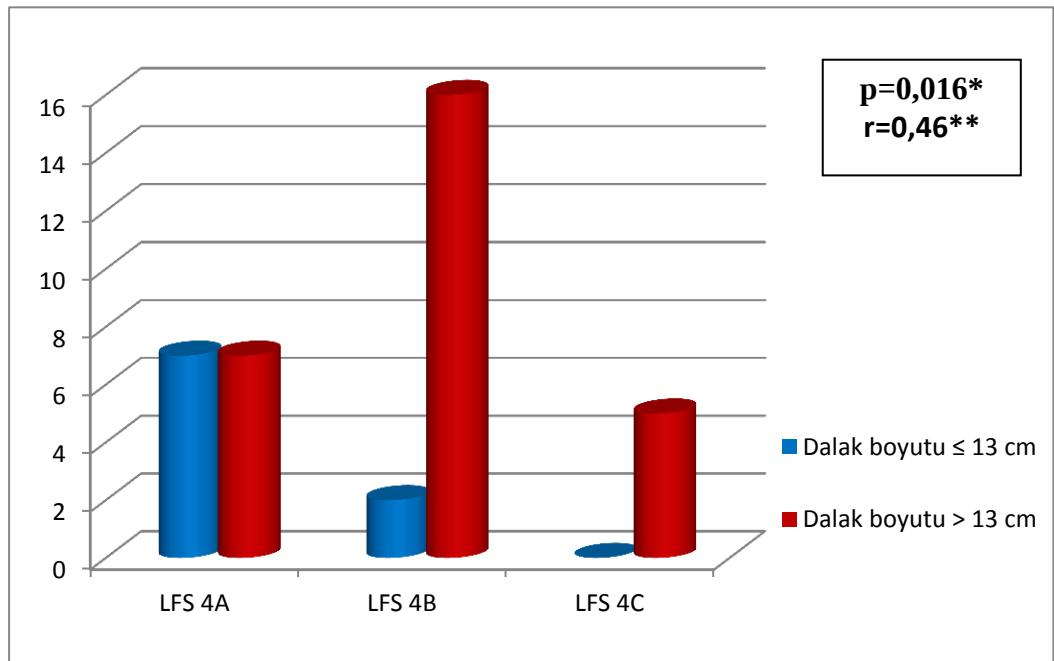
Grafik 8: Laennec fibrozis skoru 5 grup ile kanama arasındaki ilişki



Grafik 9: Laennec fibrozis skoru 3 grup ile kanama arasındaki ilişki



Grafik 10: Laennec fibrozis skoru 5 grup ile dalak boyutu arasındaki ilişki

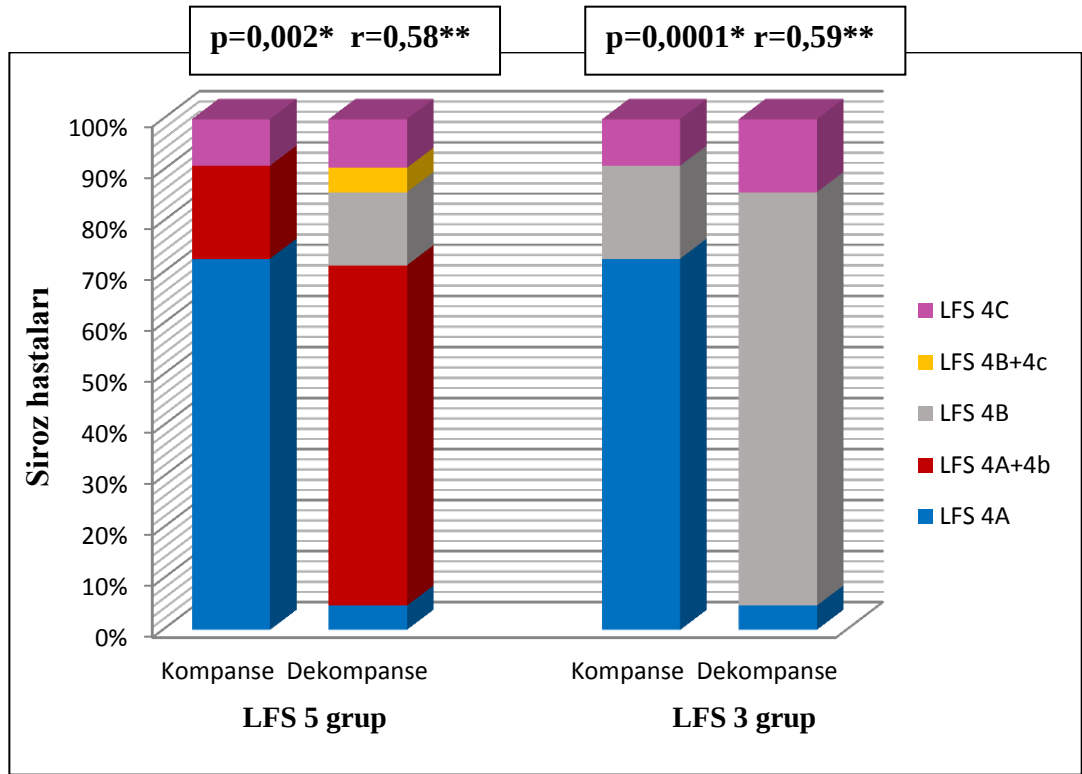


Grafik 11: Laennec fibrozis skoru 3 grup ile dalak boyutu arasındaki ilişki

LFS 5 grup ile evre arasındaki ilişki **Tablo 12**'de gösterilmiştir. Evresi belirlenebilen 32 hastadan, kompanse olan 11 hastanın %72,7'si LFS 4A iken, %18,2'si LFS4A+4b ve %9,1'i 4C idi. Dekompanse olan 21 hastanın 1'i (%4,8'i) LFS 4A idi. Dekompanse hastaların %66,7'si LFS 4A+4b, %14,3'ü LFS 4B, %4,8'i LFS 4B+4c ve %9,5'u LFS 4C idi. Evresi belirlenebilen 4B grubundaki 3 hastanın hepsi (%100), 4B+4c grubundaki 1 hasta (%100) ve 4C grubundaki 3 hastanın 2'si (%66,7) dekompanse dönemdeydi. LFS 5 grup (**p=0,002***) ve LFS 3 grup (**p=0,0001***) ile evre arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup, **Grafik 12**'de karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Alt grupları tek tek karşılaştırdığımızda F4A ile F4A+4b ve 4B arasında anlamlı fark saptanırken, diğer gruplar arasında fark saptanmadı.

Tablo 12: Laennec fibrozis skorunun evre ile ilişkisi

Laennec fibrozis skoru	EVRE				Total	
	Kompanse	%	Dekompanse	%		
4A	8	*88,9% **72,7%	1	*11,1% **4,8%	9	100,0% 28,1%
4A+4b	2	12,5% 18,2%	14	87,5% 66,7%	16	100,0% 50,0%
4B	0	0,0% 0,0%	3	100,0% 14,3%	3	100,0% 9,4%
4B+4c	0	0,0% 0,0%	1	100,0% 4,8%	1	100,0% 3,1%
4C	1	33,3% 9,1%	2	*66,7% **9,5%	3	100,0% 9,4%
Total	11	34,4% 100,0%	21	65,6% 100,0%	32	100,0% 100,0%
*sattır yüzdesi **kolon yüzdesiFisher X2 p=0,002						



Grafik 12: LFS 5 grup ve LFS 3 grubun evre ile karşılaştırmalı ilişkisi

Nodül içi NİA varlığı ile asit ($p=0,02^*$), kollateral oluşumu ($p=0,04^*$), dalak boyutu ($p=0,04^*$) ve evre ($p=0,005^*$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken; yaş, cinsiyet, tümör varlığı, varis, kanama durumu, portal ven çapı, splenik ven çapı, ve KC boyutu arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (**Tablo 13**).

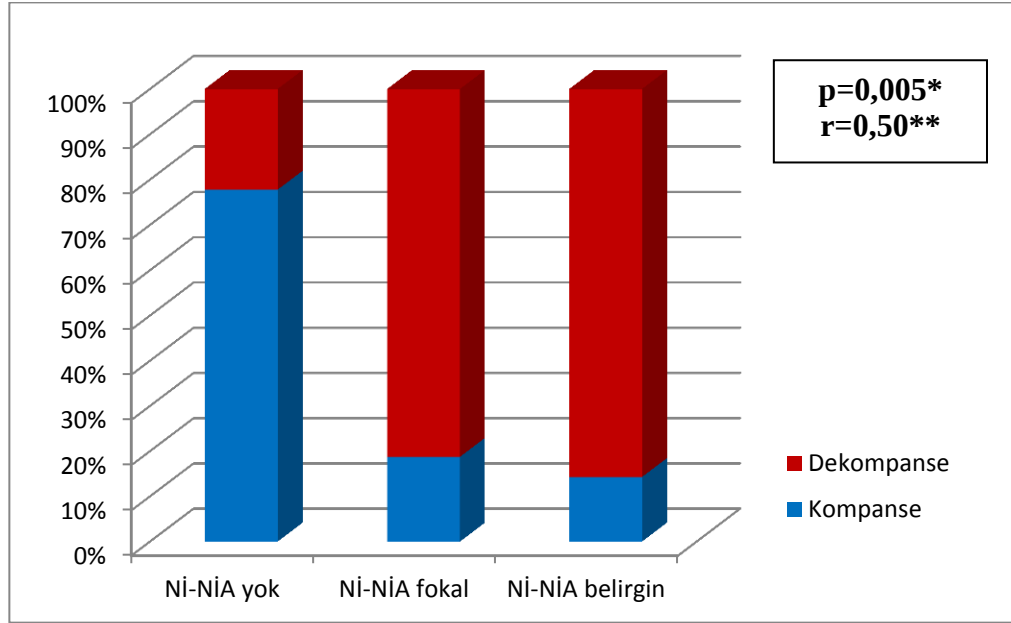
Nodül içi NİA izlenmeyen 9 hastanın 7'si (%77,8'i) kompanse, 2'si (%22,2) dekompanse evredeydi. Nodül içi NİA fokal olan 16 hastadan 3'ü kompanse (%18,8), 13'ü (%81,2) dekompanse evredeydi. Belirgin olan 7 hastadan 1'i kompanse (%14,3), 6'sı (%85,7) dekompanse evredeydi (**Grafik 13**).

Tablo 13: Nodül içi NİA derecesinin klinik bulgulara göre dağılımı

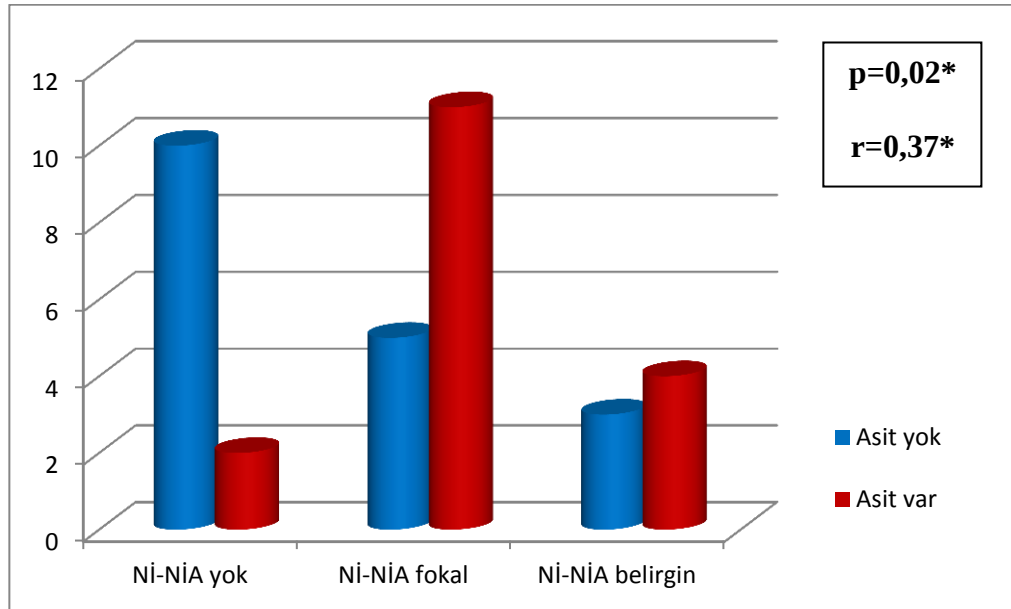
Klinik bulgular	NODÜL İÇİ NEKROİNFLAMATUAR AKTİVİTE			Total	P değeri
	YOK	FOKAL	BELİRGİN		
Yaş (≤18 / >18)	2/11	4/18	2/6	8/35	p=0,32
Cinsiyet (K/E)	4/9	3/19	2/6	9/34	p=0,46
Tümör (var/yok)	4/9	7/15	2/6	13/30	p=0,93
Asit (var/yok)	2/10	11/5	4/3	17/18	p=0,02*
Varis(var/yok)	3/4	7/3	4/0	14/7	p=0,14
Kanama (var/yok)	1/8	4/6	2/2	7/16	p=0,25
Kollateral (var/yok)	4/5	11/1	5/1	20/7	p=0,04*
Portal ven çapı (≤13 mm />13 mm)	4/3	4/9	5/2	13/14	p=0,19
Splenik ven çapı (≤10 mm />10 mm)	4/3	7/5	3/3	14/11	p=0,94
KC boyutu (N'den küçük/ N/ N'den büyük)	0/8/2	2/8/2	0/2/4	2/18/8	p=0,09
Dalak boyutu (≤13 cm />13 cm)	5/5	4/15	0/8	9/28	p=0,04*
Evre (kompanse/ dekompanse)	7/2	3/13	1/6	11/21	p=0,005*
X² P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı					

Nodül içi NİA ile asit, kollateral oluşumu ve dalak boyutu arasındaki ilişki

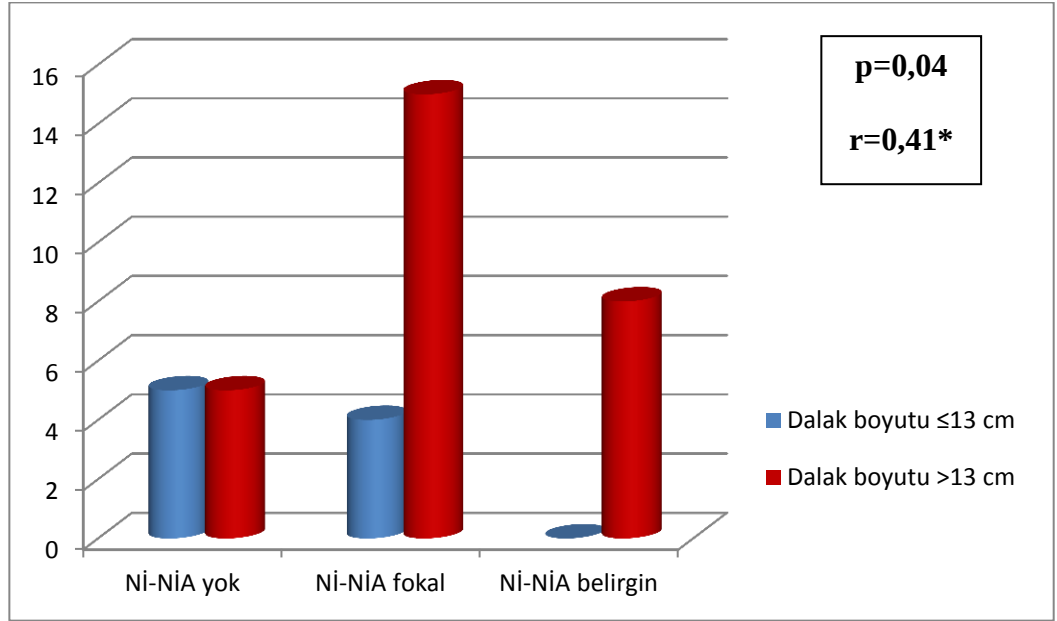
Grafik 14, 15 ve 16'da gösterilmiştir.



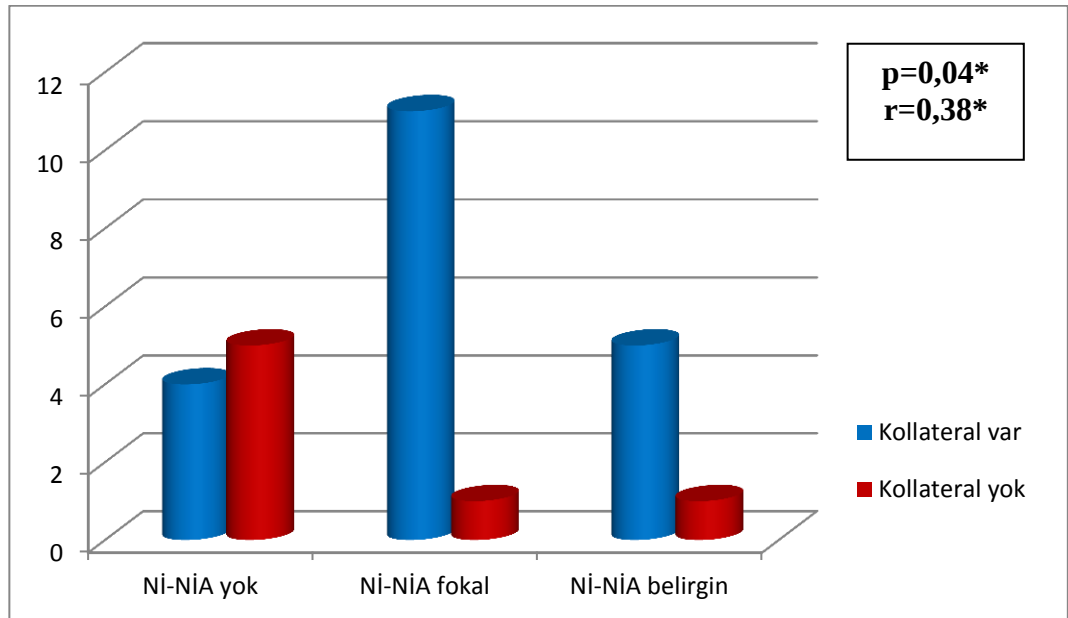
Grafik 13: Nodül içi NİA ile Evre arasındaki ilişki



Grafik 14: Nodül içi NİA ile Asit arasındaki ilişki



Grafik 15: Nodül içi NİA ile dalak boyutu arasındaki ilişki



Grafik 16: Nodül içi NİA ile kollateral varlığı arasındaki ilişki

İnflamasyon ve interfaz derecelerinin klinik bulgularla karşılaştırılmasında parametrelerin hiç biri ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 14 ve 15).

Tablo 14: İnflamasyon derecesinin klinik bulgulara göre dağılımı

Klinik bulgular	İNFLAMASYON DERECEŚİ					Total	P değeri
	0	1	2	3	4		
Yaş (≤ 18 / >18)	0/1	2/5	3/11	3/15	0/3	8/35	p=0,80
Cinsiyet (K/E)	0/1	2/5	3/11	3/15	1/2	9/34	p=0,91
Tümör (var/yok)	1/0	1/6	5/9	5/13	1/2	13/30	p=0,49
Asit (var/yok)	0/1	2/4	6/4	7/8	2/1	17/18	p=0,65
Varis (var/yok)	0/0	2/2	3/2	7/3	2/0	14/7	p=0,64
Kanama (var/yok)	0/1	0/5	2/3	4/5	1/2	7/16	p=0,45
Kollateral (var/yok)	0/0	3/2	9/2	8/3	0/0	20/7	p=0,64
Portal ven çapı (≤ 13 mm / >13 mm)	0/0	4/1	4/6	3/6	2/1	13/14	p=0,32
Splenik ven çapı (≤ 10 mm / >10 mm)	0/1	4/2	6/3	3/5	1/0	14/11	p=0,42
KC boyutu (N'den küçük/ N/ N'den büyük)	0/1/0	0/5/2	0/6/2	2/6/3	0/0/1	2/18/8	p=0,60
Dalak boyutu (≤ 13 cm / >13 cm)	0/1	2/4	4/9	3/11	0/3	9/28	p=0,75
Evre (kompanse/ dekompanse)	1/0	4/1	3/7	3/10	0/3	11/21	p=0,06
X² P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı							

Tablo 15: İnterfaz derecesinin klinik bulgulara göre dağılımı

Klinik bulgular	İNTERFAZ DERECEŚİ					Total	P değeri
	0	1	2	3	4		
Yaş (≤18 / >18)	2/4	2/11	3/11	1/5	0/4	8/35	p=0,21
Cinsiyet (K/E)	1/5	3/10	3/11	1/5	1/3	9/34	p=0,99
Tümör (var/yok)	2/4	4/9	5/9	1/5	1/3	13/30	p=0,93
Asit (var/yok)	2/4	6/3	3/7	4/2	2/2	17/18	p=0,41
Varis(var/yok)	2/1	1/3	5/3	4/0	2/0	14/7	p=0,18
Kanama (var/yok)	0/5	0/4	4/4	2/2	1/1	7/16	p=0,16
Kollateral (var/yok)	3/2	6/0	5/4	4/0	2/1	20/7	p=0,22
Portal ven çapı (≤13 mm />13 mm)	2/1	4/2	2/7	2/3	3/1	13/14	p=0,29
Splenik ven çapı (≤10 mm />10 mm)	2/3	5/3	4/3	1/0	2/2	14/11	p=0,82
KC boyutu (N'den küçük/ N/ N'den büyük)	0/5/1	0/3/3	2/7/0	0/2/1	0/1/3	2/18/8	p=0,11
Dalak boyutu (≤13 cm />13 cm)	2/3	1/9	5/7	1/5	0/4	9/28	p=0,26
Evre(kompanse/ dekompanse)	4/1	3/6	3/6	0/5	1/3	11/21	p=0,11
X² P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı							

Histolojik parametrelerin birbirleriyle ve klinik bulgularla ilişkisini incelediğimizde; LFS ile nodül içi NİA, kanama ve dalak boyutu arasında orta; asit, varis, kollateral oluşumu ve evre arasında iyi düzeyde pozitif korelasyon saptanmıştır. İnflamasyon ile evre arasında orta; nodül içi NİA ve interfaz aktivite arasında iyi düzeyde pozitif korelasyon saptanmıştır. İnterfaz aktivite ile varis,

kanama ve evre arasında orta düzeyde; inflamasyon ve nodül içi NİA arasında iyi düzeyde korelasyon saptanmıştır. Nİ-NİA ile LFS, dalak boyutu, asit, varis, kanama arasında orta; inflamasyon, interfaz ve evre arasında iyi düzeyde pozitif korelasyon saptanmıştır (**Tablo16**).

Tablo 16: Histolojik parametrelerin klinik bulgularla ilişkisini gösteren Spearmen korelasyon katsayıları

	Laennec fibrozis skoru	İnflamasyon	İnterfaz	Nİ-NİA
Laennec Fibrozis skoru	1,00	0,15	0,19	0,43**
İnflamasyon	0,15	1,00	0,74**	0,56**
İnterfaz	0,19	0,74**	1,00	0,64**
Nİ-NİA	0,43**	0,56**	0,64**	1,00
Portal ven çapı	0,17	0,16	0,05	-0,10
Splenik ven çapı	0,09	0,06	-0,08	0,04
KC boyutu	0,22	0,01	0,12	0,24
Dalak boyutu	0,46**	0,14	0,10	0,41*
Asit	0,55**	0,12	0,05	0,37*
Varis	0,62**	0,25	0,41*	0,42*
Kanama	0,38*	0,29	0,46**	0,33*
Kollateral	0,50**	0,04	0,02	0,38*
Evre	0,58**	0,45**	0,38*	0,50**

4.2.Siroz zemininde gelişen nodüler lezyonlar ve nodül saptanan hastaların demografik özellikleri

Kırküş siroz vakasından 17'sinde toplamda 45 adet (7 makrorejeneratif nodül, 4 displastik odak, 3 düşük dereceli displastik nodül, 7 yüksek dereceli displastik nodül, 2 erken HSK ve 12 ileri HSK) nodüler lezyon saptandı. Bu hastalarda ortalama yaş $31,9 \pm 26,1$ idi. Ortalama nodül çapı $2,3 \pm 2,6$; ortanca AFP düzeyi 8,0 (min:2,6-max:17500) bulundu. Tüm siroz hastalarının AFP düzeyi ise (ortanca/min-max) 7,5 (1,4-17500) idi. Siroz zemininde hepatosellüler karsinom saptanan 13 vakada (1 erken HSK, 1 erken HSK zemininde iyi-orta derecede diferansiye HSK ve 11 ileri HSK) ortalama tümör çapı $4,7 \pm 2,7$ olup, AFP düzeyine ulaşılan 11 vakada ortalama AFP 2198, ortanca-min max değerleri 2168 (2,6-17500) bulundu. Tüm siroz hastaları ile nodül saptanan bütün hastaların AFP düzeyleri arasında fark bulunmazken; HSK saptanan hastaların ortalama AFP düzeyi anlamlı olarak yüksek idi.

Nodüler lezyonların nodül çapına göre dağılımı **Tablo 17'**de gösterilmiştir. İleri HSKların %83,3'ü (10/12) 20 mm üstü çapa sahipken, %16,7'si (2/12) 11-20 mm arasındadır. Erken HSKların biri 10 mm ve altında iken, diğer 11-20 mm arasındadır. Diğer gruplara baktığımızda, 20 mm ve üstünde 1 adet makrorejeneratif nodül dışında nodüler lezyon bulunmamaktadır. Nodül çapı ile nodül tipi arasında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı fark saptandı ($p=0,0001^*$).

Tablo 17: Nodüler lezyonların nodül çapına göre dağılımı

Nodül çapı	Nodül tipi						Total
	DO	MRN	DDDN	YDDN	ErkenHSK	İleriHSK	
≤10 mm	4	2	3	5	1	0	15
11-20 mm	0	4	0	2	1	2	9
≥20 mm	0	1	0	0	0	10	11
Total	4	7	3	7	2	12	35
DO: Displastik odak,MRN: Makrorejeneratif nodül, DDDN:Düşük dereceli displastik nodül, YDDN:Yüksek dereceli displastik nodül,HSK: Hepatosellüler karsinom						p=0,0001*	

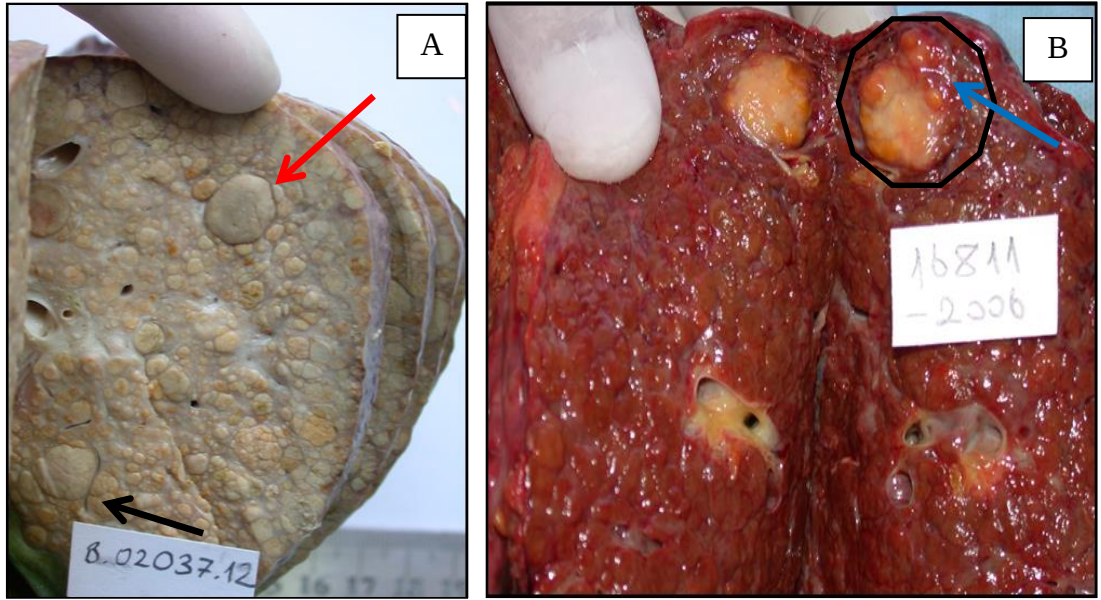
Nodüler lezyonların etyolojiye göre dağılımı **Tablo18**'de gösterilmiştir.

HBV ve tirozinemi vakalarında farklı gelişim aşamalarında birden çok nodül varlığı dikkati çekmiştir.

Tablo 18: Nodüler lezyonların etyolojiye göre dağılımı

Nodül tipi	ETYOLOJİ					Total
	HBV	HCV	HBV+HCV HBV+HDV	Steatohepatit	Diğer	
SN	3 (%30,0)* (%23,1)**	0 (%0,0) (%0,0)	2 (%20,0) (%50,0)	0 (%0,0) (%0,0)	5 (%50,0) (%20,8)	10 (%100) (%22,2)
MRN	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	1 (%14,3) (%25,0)	1 (%14,3) (%33,3)	5 (%71,4) (%20,8)	7 (%100) (%15,6)
DO	2 (%50,0) (%15,4)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	2 (%50,0) (%8,3)	4 (%100) (%8,9)
DDDN	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	3 (%100) (%12,5)	3 (%100) (%6,7)
YDDN	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	7 (%100) (%29,2)	7 (%100) (%15,6)
Erken HSK	1 (%50,0) (%7,7)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	0 (%0,0) (%0,0)	1 (%50,0) (%4,2)	2 (%100) (%4,49)
İleri HSK	7 (%58,3) (%53,8)	1 (%8,3)* (%100)**	1 (%8,3) (%25,0)	2 (%16,7) (%66,7)	1 (%8,3) (%4,2)	12 (%100) (%26,7)
Total	13 (%28,9) (%100)	1 (%2,2) (%100)	4 (%8,9) (%100)	3 (%6,7) (%100)	24 (%53,3) (%100)	45 (%100) (%100)
SN:Sirotik nodül,MRN:Makrorejeneratif nodül, DO:Displastik odak, DDDN:Düşük dereceli displastik nodül,YDDN:Yüksek dereceli displastik nodül*Satır yüzdesi**Sütun yüzdesi					Fisher X ² p=0,24	

12 ileri HSK vakasının 9'u (%74,9) viral etyoloji zemininde, 2'si steatohepatit, 1'i Tip 1 tirozinemi zemininde gelişmiştir. Erken HSK vakalarının 1'i HBV, diğeri Tip 1 Tirozinemi zemininde saptandı. Yüksek dereceli DN'lerin hepsi 2 farklı tirozinemi hastasında; düşük dereceli DN'lerin hepsi kriptojenik siroz vakalarında, DO'ların yarısı HBV, diğeri yarısı tirozinemi zemininde izlendi. Tirozinemi hastalarından biri 12 yaşında erkek hasta olup, siroz zemininde iyi diferansiye HSK yanısıra 3 adet YDDN ve 2 adet MRN saptandı. Diğeri tirozinemi hastası 3 yaşında erkek hasta olup, siroz zemininde 1 adet erken HSK odağı yanısıra, 4 adet YDDN, 2 adet DO ve 1 adet MRN saptandı. Diğeri erken HSK vakası HBV zemininde ve nodül içi nodül görünümünde idi (**Resim 8**). Nodül tipleri ile etyoloji arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,24$).



Resim 8: A) Tirozinemi zemininde erken HSK (kırmızı ok) ve Yüksek Dereceli DN (siyah ok) B) HBV zemininde erken HSK ve ileri HSK, (Siyah işaret: Nodül içi nodül görünümü ve mavi ok: dediferansiye alan)

4.3.Preneoplastik lezyonlar vehepatosellüler karsinomda Glutamin sentetaz (GS) ve HSP 70 immünhistokimyasal boyama sonuçları

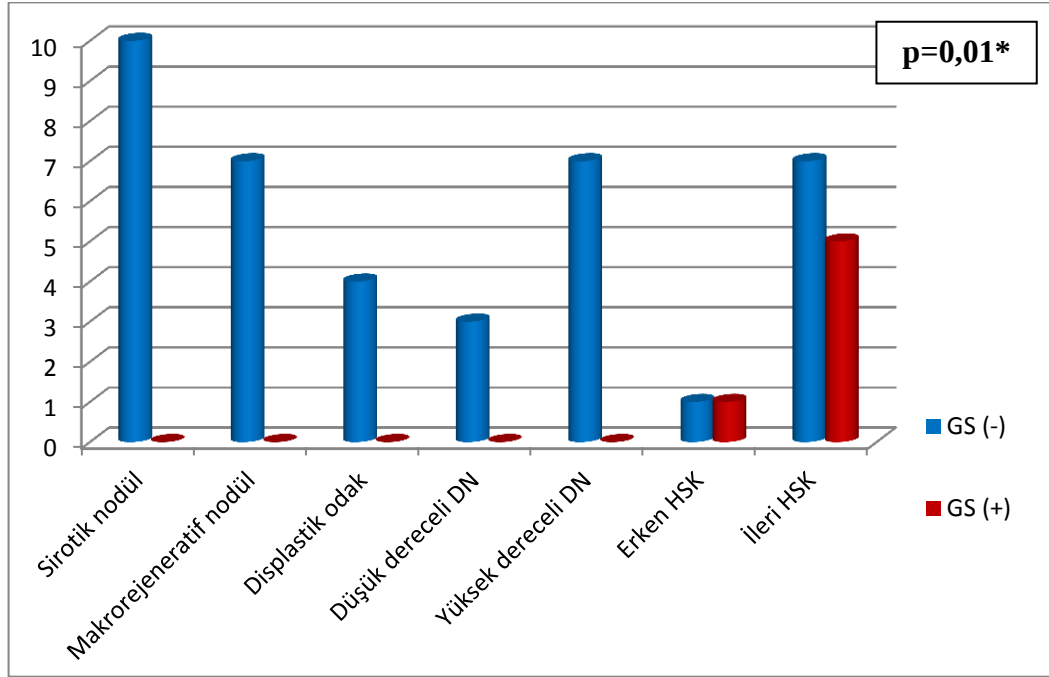
17 siroz vakasında saptanan 45 adet nodüler lezyona GS ve HSP 70 ile immünhistokimyasal boyama uygulandı. GS boyanması ile nodül tipi ve portal ven çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken; etyoloji, Laennec fibrozis skoru, portal/septal inflamasyon, interfaz aktivite, nodül içi NİA, HSK derecesi, asit, varis, kanama, evre, splenik ven çapı, KC boyutu ve dalak boyutu arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Glutamin sentetaz boyanmasının klinik ve histolojik bulgulara göre dağılımı **Tablo 19**'da gösterilmiştir.

Portal ven çapı bilgisine ulaşılabilen 30 hastadan, GS pozitif olan 2 vakada portal ven çapı 13 mm'nin üzerinde idi. GS negatif olan 28 vakadan 20'sinde portal ven çapı 13 mm'nin altında iken; 8'inde 13 mm'nin üzerinde bulundu ($p=0,03^*$).

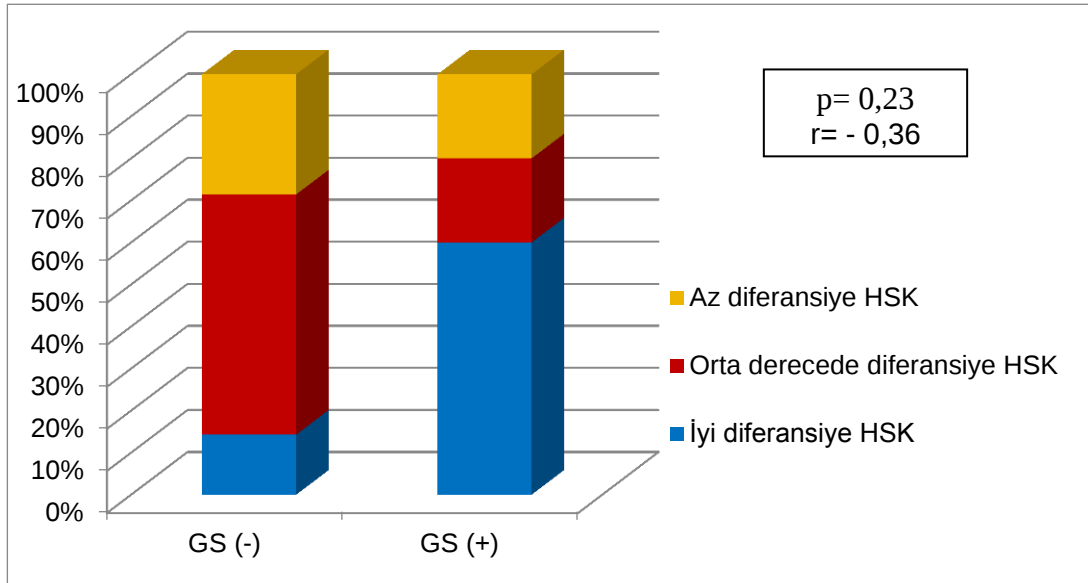
GS sirotik, makrorejeneratif, düşük dereceli ve yüksek dereceli nodüllerin tümünde ve displastik odaklarda negatif bulundu (**Resim 9**). GS pozitif vakaların %83,3'ü ileri HSK; %16,7'si erken HSK idi. Erken HSK vakalarından 1'i (%50) diffüz pozitif, diğeri tamamen negatif idi. 12 ileri HSK vakasından 5'i (%41,7) pozitif, 7'si (%58,3) negatif idi (**Resim 10**). Pozitif olan ileri HSK vakalarından 2'si fokal zayıf pozitif idi. Erken HSK ile yüksek dereceli DN ya da ileri HSK arasında GS boyanması açısından anlamlı fark saptanmadı. GS boyanmasının nodül tiplerine göre dağılımı **Grafik 17**; HSK derecesine göre dağılımı **Grafik 18**'de gösterilmiştir.

Tablo 19:Glutamin Sentetaz boyanmasının klinik ve histolojik bulgulara göre dağılımı

Klinik / Histolojik bulgular	GLUTAMİN SENTETAZ		Total	P değeri
	negatif	pozitif		
Etyoloji:				
HBV/ HCV	9 / 1	4 / 0	13	p=0,06
HBV+HCV/ HBV+HDV	3	1	4	
Steatohepatit / Diğer	2 / 24	1 / 0	3/2	
Nodül tipi				
SN / MRN / DO	10 / 7 / 4	0 / 0 / 0	10/7/4	p=0,01*
DDDN / YDDD	3 / 7	0 / 0	3/7	
Erken HSK / İleri HSK	1 / 7	1 / 5	2/12	
HSK Grade (İyi/Orta/Az)	1 / 4 / 2	3 / 1 / 1	4/5/3	p=0,23
Laennec Fibrozis Skoru 4A/4A+4b/4B/4B+4c/4C	18 / 16 / 0 / 4 / 1	3 / 3 / 0 / 0 / 0	21/19/0/4/1	p=0,82
İnflamasyon portal/septal 0 / 1 / 2 / 3 / 4	1 / 6 / 21 / 10 / 1	0 / 0 / 1 / 5 / 0	1/6/22/15/1	p=0,09
İnterfaz aktivite 0 / 1 / 2 / 3 / 4	7 / 8 / 20 / 1 / 3	0 / 2 / 3 / 1 / 0	7/10/23/2/3	p=0,37
Nodül içi NİA Yok / Fokal / Belirgin	8 / 23 / 8	1 / 4 / 1	9/27/9	p=0,93
Asit (Yok / Var)	16 / 14	2 / 2	18/16	p=0,90
Varis (Yok / Var)	3 / 8	1 / 1	4/9	p=0,52
Kanama (Yok / Var)	15 / 4	1 / 1	16/5	p=0,36
Evre (Kompanse/Dekomp anse)	12 / 18	1 / 3	13/21	p=0,56
Portal ven çapı (≤13 mm />13 mm)	20 / 8	0 / 2	20/10	p=0,03*
Splenik ven çapı (≤10 mm />10 mm)	22 / 10	1 / 0	23/11	p=0,50
KC boyutu (N'den küçük/ N/ N'den büyük)	2 / 27 / 6	0 / 1 / 0	2/28/6	p=0,86
Dalak boyutu (≤13 cm />13 cm)	19 / 19	2 / 1	21/20	p=0,57
X² P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı				

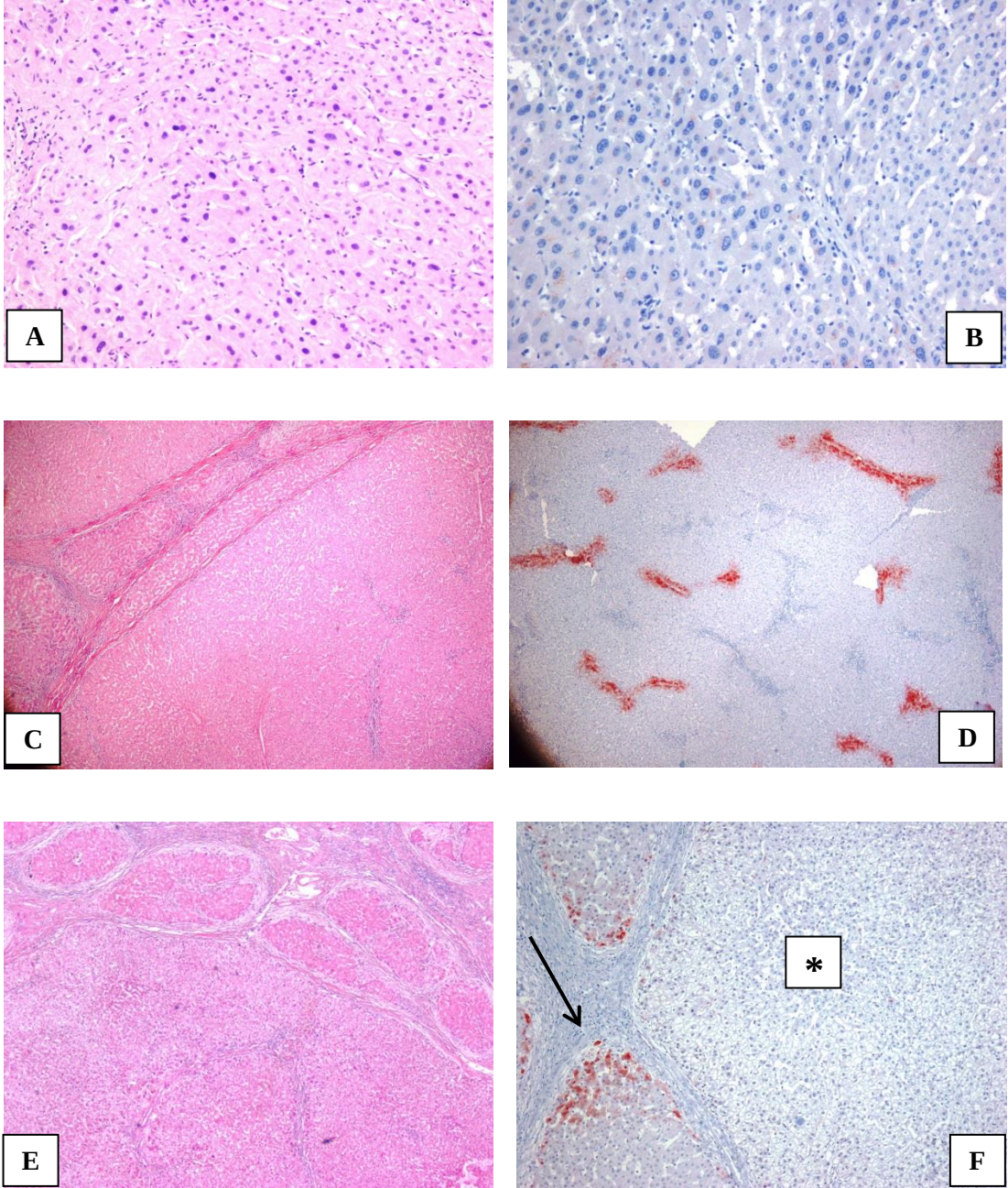


Grafik 17: GS boyanmasının nodül tiplerine göre dağılımı

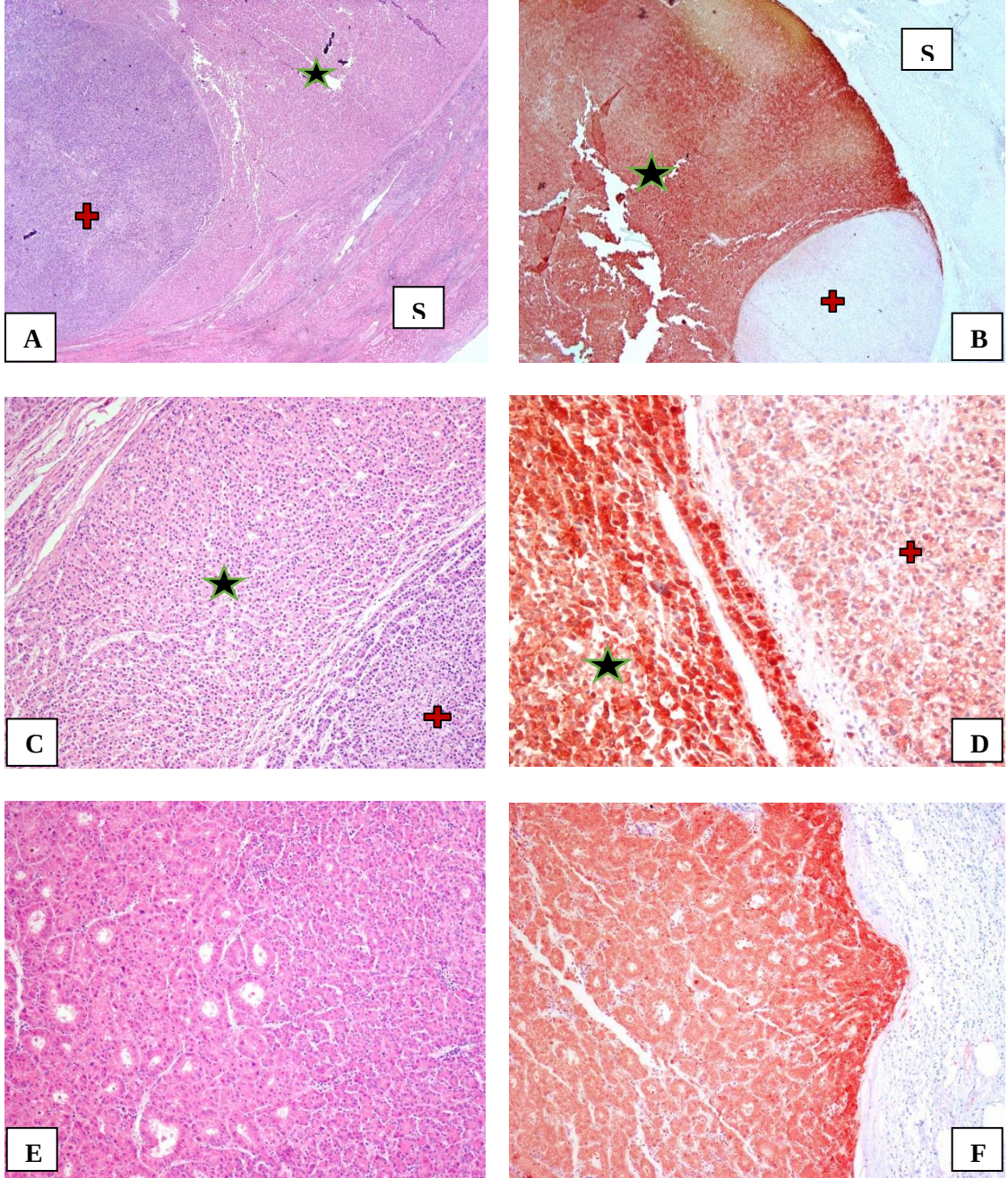


Grafik 18: GS boyanmasının HSK derecelerine göre dağılımı

GS pozitif ileri HSK vakalarının %60'ı iyi diferansiye, %20'si orta derecede diferansiye ve %20'si az diferansiye idi. İyi diferansiye HSK'nın %75'i, orta derecede diferansiye olanların %20'si ve az diferansiye HSK'nın %33,3'ü GS pozitif idi. HSK dereceleri arasında GS açısından anlamlı fark saptanmadı ($p=0,23$).



Resim 9: (A) Büyük hücre değişikliği gösteren Displastik odak ve (B) GS negatifliği, (C) Makrorejeneratif nodül ve (D) GS ile perivenüler alanlarda nonneoplastik boyanma şekli, (E) Düşük dereceli DN'de (F) GS negatifliği(*) ve çevresinde sirotik nodüllerde periseptal ve dağınık GS boyanması (ok).



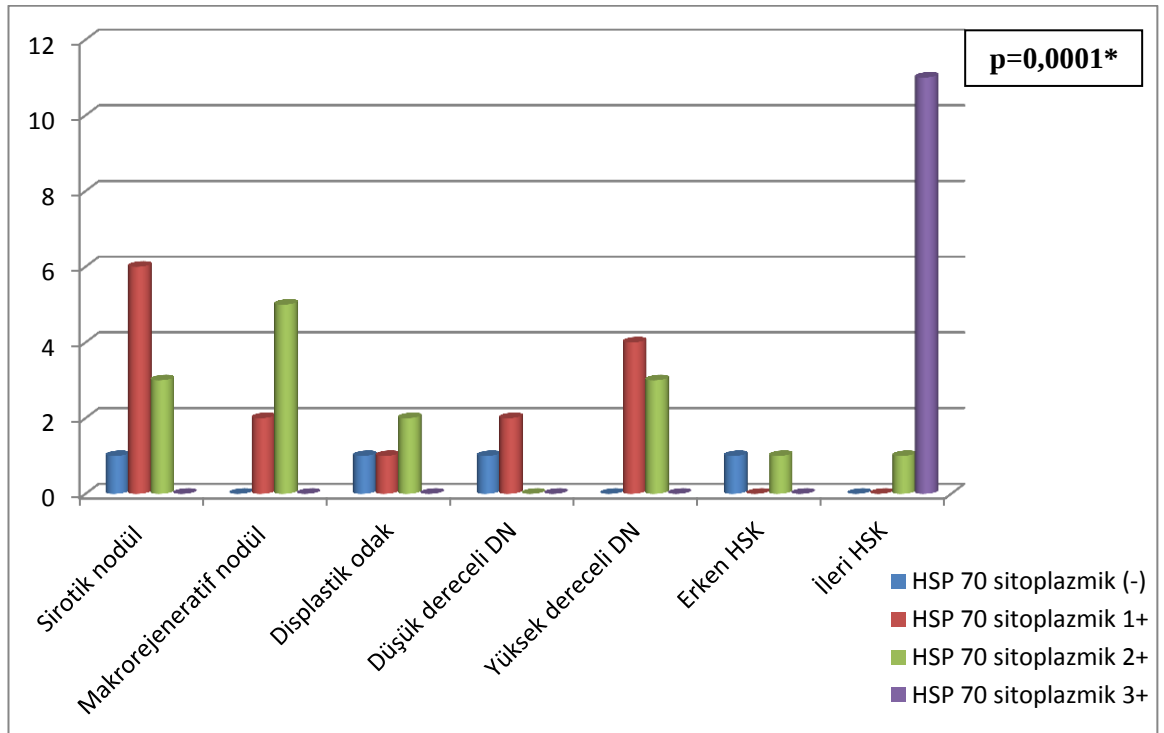
Resim 10: (A,C) Sirotik parankimden(S) düzgün sınırla ayrılan erken HSK(yıldız) ve içinde daha koyu görünen dediferansiyasyon alanı(artı) ile karakterli “nodül içi nodül” görünümü, (B,D) Erken HSK alanında diffüz kuvvetli, dediferansiye alanda diffüz zayıf GS boyanması ve sirotik nodüllerde GS negatifliği, (E) Pseudoglandüler patern gösteren iyi diferansiye HSK ve (F) diffüz kuvvetli GS pozitifliği.

Nodüler lezyonlarda HSP 70 sitoplazmik boyanmasının klinik ve histolojik bulgulara göre dağılımı **Tablo 20**'de gösterilmiştir.

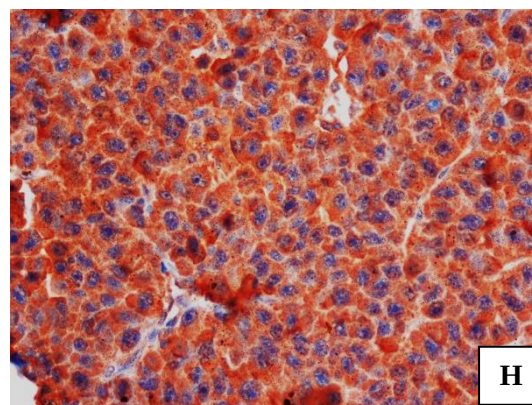
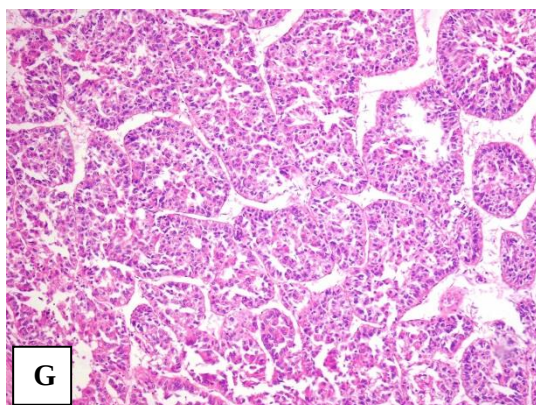
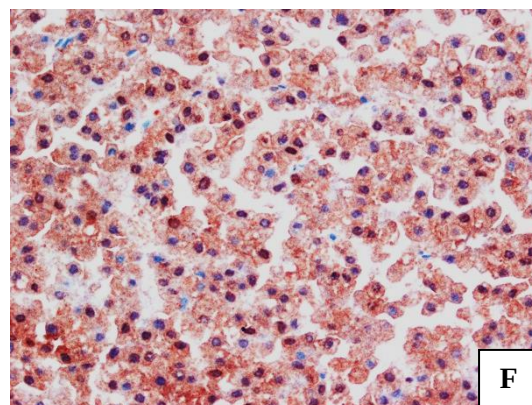
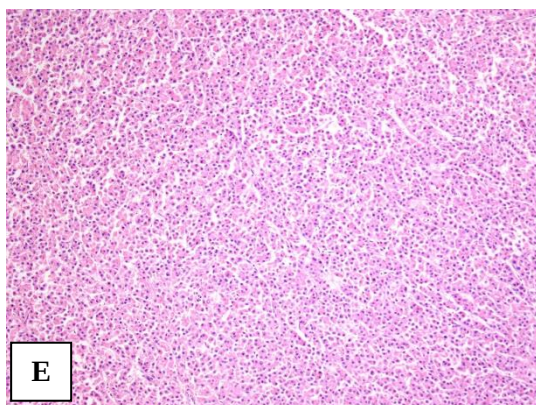
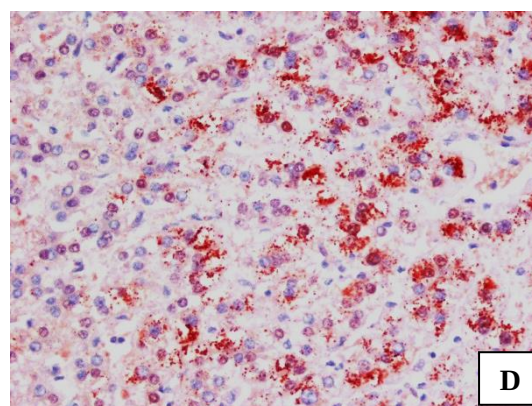
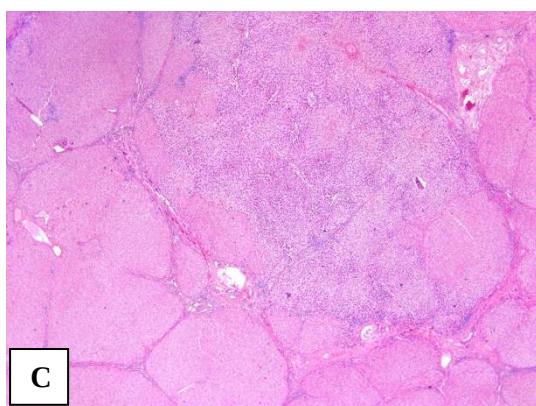
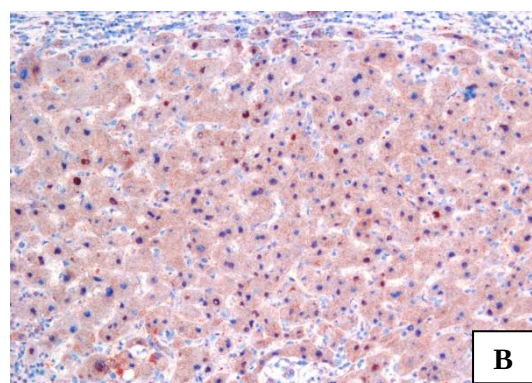
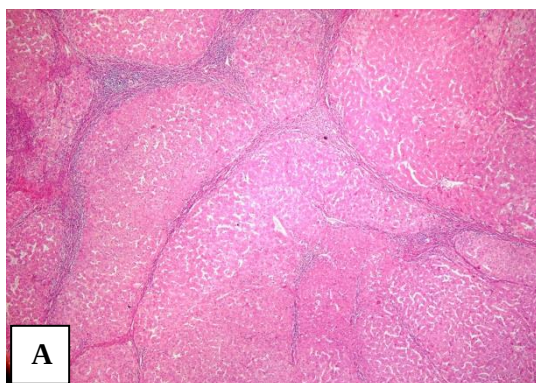
Tablo 20:HSP 70 sitoplazmik boyanmasının klinik ve histolojik bulgulara göre dağılımı

Klinik / Histolojik bulgular	HSP 70 sitoplazmik				Total	P
	negatif	1+	2+	3+		
Etyoloji:						
HBV/ HCV	2/0	2/0	2/1	7/0	13/1	0,07
HBV+HCV/ HBV+HDV	0	1	2	1	4	
Steatohepatit / Diğer	0/2	1/11	0/10	2/1	3/24	
Nodül tipi						p=0,0001*
SN / MRN / DO	1/0/1	6/2/1	3/5/2	0/0/0	10/7/4	
DDDN / YDDD	1/0	2/4	0/3	0/0	3/7	
Erken HSK / İleri HSK	1/0	0/0	1/1	0/11	2/12	
HSK Grade (İyi/Orta/Az)	0/2/0	1/0/1	0/2/0	3/1/2	4/5/3	0,19
Laennec Fibrozis Skoru 4A/4A+4b/4B+4c/4C	2/2/0/0	4/7/4/0	7/8/0/0	8/2/0/1	21/19/4/1	0,06
İnflamasyon portal/septal 0 / 1 / 2 / 3 / 4	0/0/3/1/0	0/2/10/3/0	0/3/5/6/1	1/1/4/5/0	1/6/22/15/1	0,57
İnterfaz aktivite 0 / 1 / 2 / 3 / 4	0/2/2/0/0	2/2/10/0/1	3/2/7/1/2	2/4/4/1/0	7/10/23/2/3	0,69
Nodül içi NİA Yok / Fokal / Belirgin	0/4/0	2/8/5	3/9/3	4/6/1	9/27/9	0,35
Asit (Yok / Var)	1/1	5/5	6/8	6/2	18/16	0,53
Varis (Yok / Var)	0/1	1/2	0/5	3/1	4/9	0,09
Kanama (Yok / Var)	0/1	4/1	7/2	5/1	16/5	0,33
Evre Kompanse/Dekompanse	0/2	4/6	4/10	5/3	13/21	0,28
Portal ven çapı (≤13 mm />13 mm)	1/1	8/2	9/4	2/3	20/10	0,44
Splenik ven çapı (≤10 mm />10 mm)	1/1	9/5	9/3	4/1	23/10	0,80
KC boyutu (N'den küçük/ N/ N'den büyük)	1/1/2	1/12/0	0/11/2	0/4/2	2/28/6	0,06
Dalak boyutu (≤13 cm />13 cm)	1/3	8/6	7/7	5/4	21/20	0,71
X ² P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı						

HSP-70 sitoplazmik boyanması ile yalnızca nodül tipleri ($p=0,0001^*$) arasında yüksek düzeyde anlamlı farklılık saptanırken; diğer bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Sitoplazmik HSP 70 boyanması ile nodül tipleri arasında, POST-HOC Bonferroni düzeltmeli Ki-kare testi ile tek tek karşılaştırma yapıldığında, ileri HSK ile erken HSK ve diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanırken; diğer grupların kendi arasında anlamlı fark bulunmadı (**Resim 11**). HSP 70 sitoplazmik boyanmasının nodül tiplerine göre dağılımı **Grafik 19**'da gösterilmiştir.



Grafik 19: HSP 70 sitoplazmik boyanmasının nodül tiplerine göre dağılımı



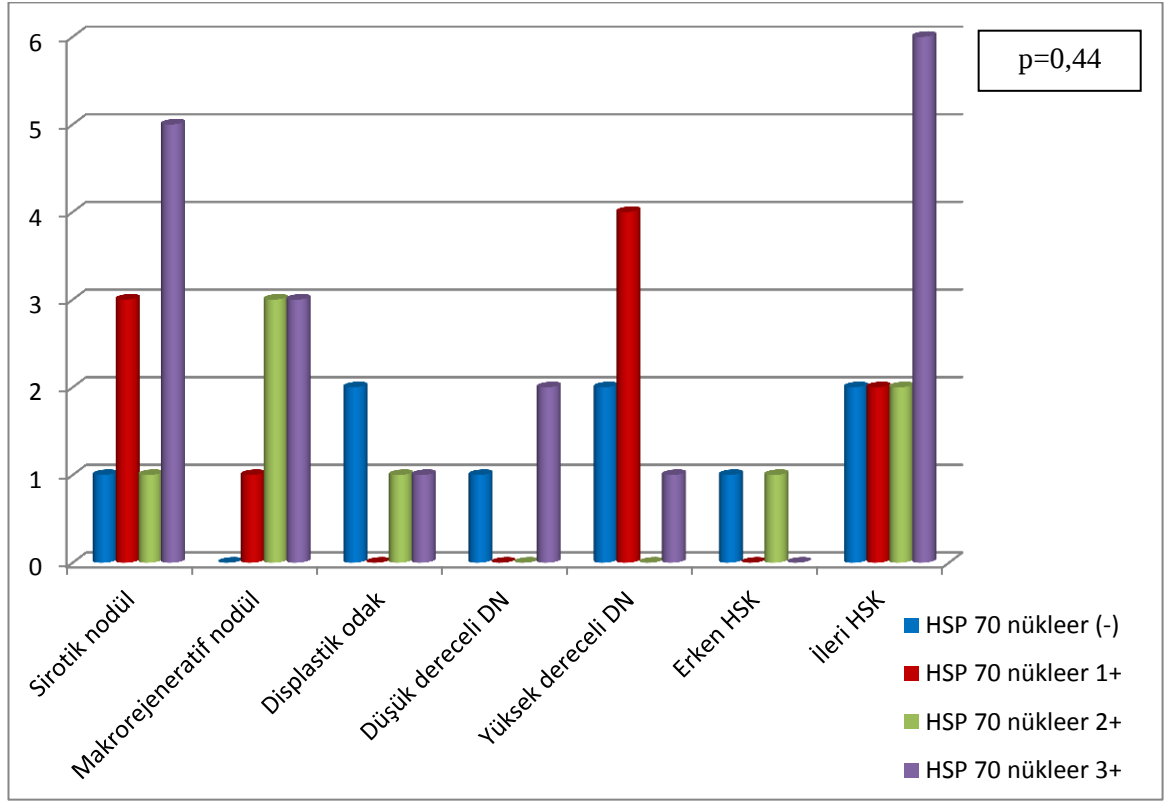
Resim 11: (A)Sirotik nodüllerde (B)HSP 70 ile zayıf sitoplazmik ve seyrek nükleer boyanma. (C)Düzensiz nodüler paternde gelişim gösteren küçük hücre değişikliği ile karakterli yüksek dereceli displastik nodülde (D)yaygın orta şiddette ve fokal kuvvetli sitoplazmik boyanma. (E)Erken HSK alanında (F)diffüz orta şiddette sitoplazmik ve fokal nükleer boyanma. (G)Geniş trabeküler patern gösteren iyi diferansiye HSK ve (H)HSP 70 ile nükleer boyanmanın eşlik etmediği diffüz kuvvetli sitoplazmik boyanma.

Nodüler lezyonlarda HSP 70 nükleer boyanmasının klinik ve histolojik bulgulara göre dağılımı **Tablo 21**'de gösterilmiştir. HSP 70 nükleer boyanması ile KC boyutu (**p=0,009**) arasında anlamlı fark saptanırken; nodül tipleri (**p=0,44**) ve diğer bulgular arasında anlamlı fark saptanmadı. KC boyutu alt grupları karşılaştırıldığında normal ile normalden büyük KC boyutuna sahip vakalar arasında HSP 70 nükleer boyanması açısından fark olduğu bulundu.

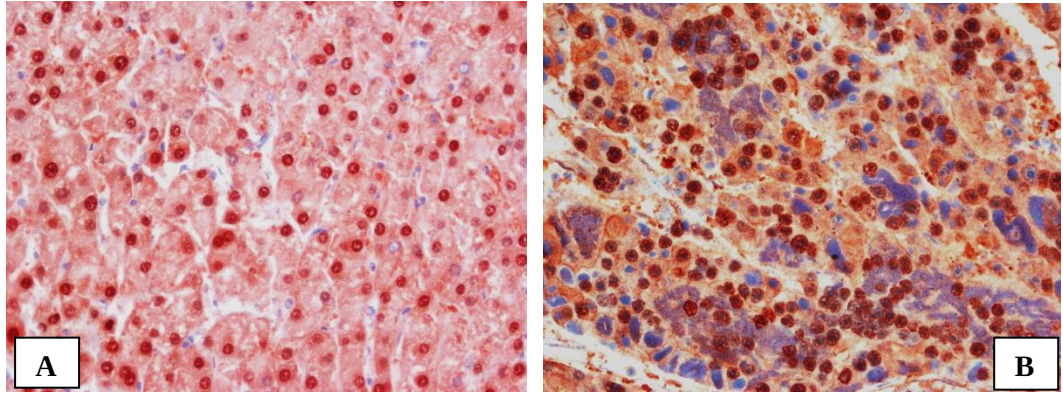
Nodül tiplerine göre HSP 70 nükleer boyanması her grupta değişen derecelerde ve şiddette saptandı (**Resim 12**). 3+ nükleer boyanan 18 nodülden 6'sı (%33,3) ileri HSK; 5'i (%27,8) SN, 3'ü (%16,7) MRN, 2'si (%11,1) DDDN, 1'i (%5,6) YDDN ve diğeri DO idi. 2+ nükleer boyanan 8 vakadan 3'ü (%37,5) MRN, 2'si (%25,0) ileri HSK, 1'i (%12,5) SN, 1'i (%12,5) erken HSK ve diğeri DO idi. 1+ nükleer boyanan 10 vakanın 4'ü (%40) YDDN, 3'ü (%30) SN, 2'si (%20) ileri HSK, 1'i (%10) MRN idi. İleri HSK'ın, YDDN ve DO'ların 2'sinde; SN, DDDN ve Erken HSK'ın birinde nükleer boyanma izlenmedi. HSP 70 nükleer boyanmasını nodül tiplerine göre tek tek karşılaştırdığımızda yalnızca MRN ile YDDN arasında anlamlı fark saptanırken(**p=0,02**), diğer grupların birbirleriyle arasında anlamlı fark saptanmadı. HSP 70 nükleer boyanmasının nodül tiplerine göre dağılımı **Grafik20**'de gösterilmiştir.

Tablo 21:HSP 70 nükleer boyanmasının klinik ve histolojik bulgulara göre dağılımı

Klinik / Histolojik bulgular	HSP 70 nükleer				Total	P değeri
	negatif	1+	2+	3+		
Etyoloji:						
HBV/ HCV	4/1	1/0	3/0	5/0	13/1	0,50
HBV+HCV/ HBV+HDV	0	1	1	2	4	
Steatohepatit / Diğer	0/4	2/6	0/4	1/10	3/24	
Nodül tipi						
SN / MRN / DO	1/0/2	3/1/0	1/3/1	5/3/1	10/7/4	0,28
DDDN / YDDD	1/2	0/4	0/0	2/1	3/7	
Erken HSK / İleri HSK	1/2	0/2	1/2	0/6	2/12	
HSK Grade (İyi/Orta/Az)	0/2/0	1/0/1	0/2/0	3/1/2	4/5/3	0,19
Laennec Fibrozis Skoru 4A/4A+4b/4B+4c/4C	3/5/0/1	6/3/1/0	4/3/1/0	8/8/2/0	21/19/4/1	0,68
İnflamasyon portal/septal 0 / 1 / 2 / 3 / 4	0/0/7/1/1	1/3/3/3/0	0/1/4/3/0	0/2/8/8/0	1/6/22/15/1	0,22
İnterfaz aktivite 0 / 1 / 2 / 3 / 4	0/4/4/0/1	4/0/5/0/1	1/3/3/0/1	2/3/11/2/0	7/10/23/2/3	0,16
Nodül içi NİA Yok / Fokal / Belirgin	0/8/1	4/4/2	1/5/2	4/10/4	9/27/9	0,36
Asit (Yok / Var)	2/4	6/1	3/3	7/8	18/16	0,24
Varis (Yok / Var)	0/1	0/2	1/2	3/4	4/9	0,61
Kanama (Yok / Var)	0/2	5/1	4/0	7/2	16/5	0,05
Evre Kompanse/Dekompanse	0/6	5/2	3/3	5/10	13/21	0,058
Portal ven çapı (≤13 mm />13 mm)	4/2	5/2	4/1	7/5	20/10	0,83
Splenik ven çapı (≤10 mm />10 mm)	5/1	6/3	4/2	8/4	23/10	0,88
KC boyutu (N'den küçük/ N/ N'den büyük)	1/3/5	1/7/0	0/6/1	0/12/0	2/28/6	0,009*
Dalak boyutu (≤13 cm />13 cm)	3/6	5/4	3/4	10/6	21/20	0,52
X² P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı						



Grafik 20: HSP 70 nükleer boyanmasının nodül tiplerine göre dağılımı



Resim 12: HSP 70 nükleer boyanmasına benign ve malign gruptan örnekler (A) Makrorejeneratif nodülde yaygın kuvvetli 3+ nükleer HSP 70 boyanması. (B) İyi diferansiye HSK'da yaygın kuvvetli 3+ HSP 70 boyanması.

HSP 70 sitoplazmik ve nükleer her ikisinin de pozitif olduğu vakaların nodül tiplerine göre ayrıntılı sonuçları **Tablo 22**'de gösterilmiştir.

Tablo 22: HSP 70 sitoplazmik ve nükleer her ikisinin de pozitif olduğu vakaların nodül tiplerine göre ayrıntılı sonuçları

Nodül tipi	SN (n=10)			MRN (n=7)			DO (n=4)		
	HSP 70 sitoplazmik			HSP 70 sitoplazmik			HSP 70 sitoplazmik		
HSP70 Nükleer	1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+
1+	3	-	-	1	-	-	-	-	-
2+	1	-	-	1	2	-	-	1	-
3+	2	3	-	-	3	-	1	-	-
SN: Sirotik nodül, MRN: Makrorejeneratif nodül, DO: Displastik odak									

Nodül tipi	DDDN(n=3)			YDDN(n=7)			Erken HSK(n=2)			İleri HSK(n=12)		
	HSP 70 sitoplazmik			HSP 70 sitoplazmik			HSP 70 sitoplazmik			HSP 70 sitoplazmik		
HSP70 Nükleer	1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+
1+	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	2
2+	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	2
3+	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	6
DDDN: Düşük dereceli displastik nodül, YDDN: Yüksek dereceli displastik nodül HSK: Hepatosellüler karsinom												

SNlerin 9'u (%90), MRNlerin hepsi, Doların 2'si(%50), DDDNlerin 2'si (%66,7), YDDNlerin 5'i (%71,4), erken HSKların 1'i (%50) ve ileri HSKların 10'unda (%83,3) hem nükleer hem sitoplazmik HSP 70 boyanması saptandı. En yüksek oran sirotik nodülde izlenirken, ardından sırasıyla ileri HSK, YDDN ve DDDN gelmektedir. Ancak sirotik nodüllerde boyanmalar 1+ sitoplazmik ve değişen derecelerde nükleer grubunda yığılma gösterirken; ileri HSK vakalarında 3+ sitoplazmik ve 3+nükleer grubunda yığılma göstermektedir. Sirozdan ileri HSK'a doğru gittikçe sitoplazmik ve nükleer boyanma derecelerinin arttığı gözlemlendi (**Tablo 22**).

5.TARTIŞMA

Siroz; histolojik olarak fibrozis ile çevrili rejeneratif nodüllerle karakterli, etyolojisi çok çeşitli kronik karaciğer hastalıklarının son dönemidir (28). Karaciğer mikroanatomisindeki yapısal bozulma, intrahepatik vasküler direncin artmasına, dolayısıyla portal hipertansiyon (PHT) ve PHT ilişkili komplikasyonların gelişmesine (asit, varis, kanama) neden olmaktadır (47). Nerdeyse 200 yıldır “geridönüşümsüz” ve “son dönem” olarak bilinmekte, bu nedenle etyolojinin çok önemli olmadığı ve beklenen yaşam süresinin kısa olduğu düşünülmekteydi (8).

Son yıllarda tedavi yaklaşımlarının gelişmesiyle, sirozun histolojik olarak bilinen sürecinde belirgin değişiklikler gözlenmiştir. Gün geçtikçe siroz hastalarının tümünde karaciğer yetmezliği ve portal hipertansiyon gelişimi olmadığı farkedilmiştir. Bunun yanısıra sirozun gerilediği düşünülmekte, hatta bazı araştırmacılar tarafından kabul görmektedir(8). Modern tedavi yöntemleriyle karaciğer fibrozisinin zamanla gerilediği pek çok çalışmada gösterilmiştir. Primer hastalığın tipine göre; virüs eradikasyonu (örn: kronik hepatit C) (68), viral replikasyonun inhibisyonu ile inflamatuvar sürecin kontrol altına alınması (örn: kronik hepatit B) (69), otoimmünitenin baskılanması (otoimmün hepatit)(70) ve alkol, demir gibi toksik ajanların uzaklaştırılması(71) ile fibrozis geri dönebilmektedir. Fibrozisin regresyonu presirotik ya da sirotik tüm karaciğerlerde görülebilmektedir (25).

Klinisyenler, siroz hastalarını önceden kompanse ve dekompanse diye 2 gruba ayırmaktaydı. Kompanse siroz hastaları, PHT ve komplikasyonlarının

olmadığı hastalar iken; asit, özefagus varis kanaması, hepatik ensefalopati ve/veya sarılık görülen hastalar dekompanse siroz hastalarıdır. Son yıllarda tedavi yaklaşımlarının değişmesi ve antifibrotik terapilerin gelişmesiyle daha dinamik olan bu süreci yansıtmaları için klinik olarak 4 evre yapılması önerilmiştir (2005 Baveno IV konsensus sınıflaması)(34).

Portal hipertansiyonun en önemli indirekt göstergesi hepatik venöz basınç gradienti (HVPG)dir. Kompanse dönemde HVPG evre 1’de 6 mm Hg’nın altında; Evre 2’de 6-10 mm Hg arasındadır. HVPG’nin 10 mm Hg üzerine çıkması ve kollaterallerin oluşmasına “klinik önemli PHT” denilmekte ve siroz komplikasyonları portal ven basıncı 10-12 mm Hg’ya ulaştığında gelişmektedir (72). HVPG ≥ 10 mm Hg olması özefagus varis gelişimi; HVPG ≥ 12 mm Hg olması hastanın dekompanse döneme girmesi açısından sınır değerlerdir (73). Aynı zamanda artmış HVPG hepatosellüler karsinom gelişme riski ile de korelasyon göstermektedir (74). Biyopsilerde küçük nodül ve kalın septa varlığının, artmış HVPG ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır (2, 3, 75, 76). Bu nedenle fibröz septa kalınlığı ilerlemiş kronik karaciğer hastalığının evresini gösteren bir işaret olarak düşünülebilir (75, 77, 78).

Klinisyenler, patoloğlardan siroz tanısı verirken tedaviye yön verebilmeleri için net bir tanı beklemektedir. İğne biyopsilerinde nodüllerin ve fibröz septaların varlığında siroz tanısı vermek kolaydır ancak, makronodüllerin varlığında ya da inkomplet septal sirozda tanı vermek her zaman mümkün değildir. Siroz tanısı verirken kullandığımız skrolama sistemlerinden İshak, Metavir, Budd gibi skrolama sistemleri sirozu tek bir kategoride ele almaktadır. Ancak “**siroz**”

teriminin altında çok geniş bir morfolojik çeşitlilik bulunmaktadır. Tüm bu gelişmelerin ışığında; siroz hastalarında farklı morfolojik bulguların gözlenmesiyle sirozun alt sınıflamasına ihtiyaç duyulmuştur. Laennec skorlama sistemi Metavirden modifiye sirozu 3 kategoriye (4A, 4B,4C) ayıran bir skorlama sistemidir. Laennec skorlamasında nodüllerin boyutu ve fibröz septaların kalınlığı göz önünde tutulmaktadır. Literatürde Laennec skorlaması ile ilgili yapılan az sayıda çalışmanın büyük kısmı iğne biyopsilerindedir ve rezeksiyon materyallerinde yapılmış tek bir çalışma vardır. İğne biyopsilerinde; izlenen fibröz septaların hepsi ince ise LFS 4A; en az 2 geniş septa varlığında LFS 4B ve en az 1 çok geniş septa varlığında LFS 4C olarak skorlanmaktadır. Ancak rezeksiyon materyallerinde skorlamanın nasıl olacağına yönelik bilgi birikimimiz henüz oluşmamıştır; belli segmentlerden alınan lamlar mı değerlendirilecek, yoksa vakaya ait tüm lamlar değerlendirilip baskın skor mu verilecek, ya da en fazla görülen skor mu dikkate alınacak, belirsizdir.

Bizim çalışmamıza total hepatektomi, kısmi rezeksiyon ve wedge biyopsilerden siroz tanısı alan 43 vaka dahil edilmiştir. Siroz hastalarının yaş ortalaması $46,1 \pm 20,3$ olup, yaş aralığı 3-88'dir. Hastaların 34'ü erkek, 9'u kadındır. Literatürdeki diğer çalışmalarda da erkek baskınlığı mevcuttur.

Rezeksiyon materyallerinde birden fazla skorun birarada görülmesi nedeniyle dominant skor ve eşlik eden bir üst kategori verilerek 5 alt grup yapılmış ve 4B ve 4C skorlarının görüldüğü vakaların neredeyse tamamında 4A

olan en alt skorun eşlik ettiği gözlenmiştir. Birden fazla skorun birarada görülmesi siroz patogenezi düşünüldüğünde doğal bir süreç olup, incelenen lam sayısının artmasıyla da doğru orantılı olabileceği düşünülmüştür. Laennec fibrozis skorları 3 grup olarak hastaların dağılımına baktığımızda %37,2'si F4A, %51,2 F4B, %11,6'sı F4C grubunda yer almaktadır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak, literatürde iğne biyopsilerinde yapılmış olan çalışmalarda, F4C skorunun daha sık olduğu dikkati çekmiştir. İğne traktının septa yönüne göre nasıl geçtiğinin, fibröz septa kalınlığını değerlendirmede önemli olabileceği düşünülmüştür. İğne traktı septaya paralel olacak şekilde geçmişse ve komşuluğundaki nodül boyutu net değerlendirilemezse “geniş bir septa” “çok geniş septa” olarak yorumlanabilir ve skor 4C'ye çıkabilir. Bunun yanısıra skorların dağılımında etyoloji de önemlidir. Alkol gibi mikronodüler siroz yapan nedenler fazla ise F4C kategorisi daha yüksek oranda görülecektir. S.U Kim ve arkadaşlarının rezeksiyon materyallerinde yaptığı çalışmada ise (79) F4B ve F4C kategorisindeki hasta dağılımları bizim çalışmamızla benzer oranlardadır. Tüm çalışmalara baktığımızda en fazla F4A kategorisinin dağılımının çeşitlilik gösterdiği gözlenmiştir. Bizde ve bazı çalışmalarda daha yüksek olmasının nedeninin ise F3 kategorisinin skorlamaya dahil edilmemesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Çalışmaya dahil edilen siroz vakalarımızın %64,3'ünü viral hepatitler (%42,9 HBV, %9,5 HCV ve %11,9 HBV+HCV ve HBV+HDV), %4,8'ini steatohepatit, %4,8'ini otoimmün hepatit ve %26,2'sini diğer nedenler (Wilson, Tirozinemi, Alfa-1 antitripsin eksikliği, kriptojenik siroz, v.b.) oluşturmaktadır.

Türkiye’de siroz etyolojisinde %60’lık oranı viral hepatitler oluştururken, 2. sırada kriptojenik vakalar gelmektedir. Bu nedenle çalışmamızdaki etyoloji dağılımı genel popülasyonla uyumludur. Çalışmamızda 2 steatohepatit vakasının biri alkol, diğeri NASH zemininde sirozdur. Steatohepatit vakalarına iğne biyopsilerinde daha sık rastlanırken rezeksiyon materyallerinde daha az sıklıkta görülmektedir.

Etyoloji ile LFS’ları arasında 5 grup yapıldığında anlamlı farklılık görülmezken; 3 grup yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,04$). Viral etyolojiler arasında Laennec skorları açısından fark bulunmazken, HBV ile diğeri grup arasında LFS açısından anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer grupta yer alan hastalıkların büyük kısmını mikronodüler sirozla giden çocukluk çağıının metabolik hastalıkları oluşturmaktadır. Viral etyolojiler ise başlangıçta makronodüler siroza neden olmakta ancak süreç ilerledikçe mikst patern ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda da F4A olan vakaların %66,7’si HBV iken; F4C vakalarının %40’ı HBV, %60’ı ise diğeri gruptadır. Dolayısıyla farklı etyolojideki hasta gruplarında LFS’larının farklılık göstermesi beklenen bir sonuçtur. Esas önemli olan aynı etyolojideki hasta gruplarında farklı fibrozis skorlarının prognostik önemi olup olmadığının ortaya koymaktır.

LFS ile rezeksiyon tipleri arasında da hem 5 grup, hem 3 grup karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,003/0,0001^*$). Bunun nedeni 4A dışındaki skorların nerdeyse tamamının total hepatektomi materyallerinde görülmesidir. Kısmi rezeksiyon, wedge biyopsi ve hazır blokta izlenen skorlar LFS 4A grubundadır. Sadece 4C grubundaki bir vaka HBV

zemininde gelişmiş HSK nedeniyle yapılan sağ hepatektomi materyalinde görülmüştür. Dolayısıyla materyalin boyutu ve incelenen lam sayısı arttıkça farklı ve yüksek skorları yakalama olasılığımız artmaktadır. Başka bir bakış açısıyla da total hepatektomi yani transplantasyon yapılan hastalar, zaten klinik evresi ileri / dekompanse hastalardır ve dolayısıyla yüksek skorları görme olasılığımız artmaktadır. Literatürde LFS ile biyopsi türleri arasında farklılık olup olmadığını araştıran başka çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda Laennec fibrozis skorlarının hem 5 alt grup, hem de 3 alt grubunun klinik ve radyolojik bulgularla karşılaştırılmasında; her iki grupta da asit, varis, kanama ve evre ile anlamlı farklılık ve orta-iyi düzeyde anlamlı ilişki saptanmıştır. 5 grup ile 3 grup arasında p değerleri karşılaştırıldığında asit, varis, kanama ve evre için “p” değerleri sırasıyla **0,01/0,006***, **0,05/0,001***, **0,02*/0,03** ve **0,002/0,0001*** bulunmuş olup, LFS 3 alt grubun klinik bulgularla daha yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca LFS 5 alt grup ile dalak boyutu ve etyoloji arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmamasına rağmen 3 grup yapıldığında anlamlı farklılık saptanmıştır. Dalak boyutu ve etyoloji için p değerleri sırasıyla **0,07/0,01*** ve **0,12/0,04*** bulunmuştur. Bu da gösteriyor ki 4B ve 4C gibi yüksek skorlar görüldüğünde, materyaldeki dağılım yüzdesinden bağımsız olarak kliniğe yansımaktadır. Dolayısıyla dominant skor ne olursa olsun, tanı kriterlerini karşılayan en yüksek skor fibrozis skoru olarak verilmelidir. Asit, varis ve kanama durumu ile LFS alt grupları kendi arasında karşılaştırdığımızda F4A ile F4A+4b ve F4B arasında anlamlı fark

saptanırken, F4B ile F4B+4C ve F4C arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Bunun nedeni bu gruplardaki hasta sayılarımızın az olmasından kaynaklanmaktadır. Benzer bir çalışmada da, 123 hastada LFS ile asit, varis, kanama ve evre arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Bunlara ek olarak HVPG ile LFS karşılaştırılmış ve F4A, 4B ve 4C vakalarda HVPG sırasıyla $8,1\pm2,6$, $12,4\pm3,3$ ve $16,3\pm4,0$ mmHg bulunmuştur. Fibrozis evresi arttıkça HVPG de artmaktadır ve Laennec grupları arasında HVPG açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir ($p<0,01$) (1). Başka bir çalışmada ise LFS yanısıra; nodül boyutu, septa kalınlığı, disse aralığında izlenen kollajen miktarı, portal alan kaybı ve santral ven kaybının oranları ile HVPG arasında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı farklılık saptanmıştır (47). Bizim çalışmamız retrospektif bir çalışma olup, hastane otomasyon sisteminden hasta bilgilerine ulaşılmıştır. İnvaziv bir tetkik olması nedeniyle rutinde tüm hastalara HVPG ölçümü yapılmadığı için LFS'leri ile karşılaştırılamamıştır. Bunun yerine portal hipertansiyonun göstergesi olabilecek, “Portal Sistem Doppler USG” ile saptanan portal ven çapı, splenik ven çapı, dalak boyutu ve kollateral varlığı gibi indirekt bulgular ile LFS'leri karşılaştırılmıştır. Dalak boyutu dışında diğer bulgular ile LFS hem 5 hem 3 alt grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamış, ki bu parametrelerin çok anlamlı olmadığı sonucuna varılmıştır. Dalak boyutu ile yalnızca LFS 3 alt grup arasında fark görülmesi de asit, varis, kanama gibi klinik bulgulara göre daha az prognostik öneme sahip olduğunu düşündürmüştür. LFS ile portal ven çapı ve splenik ven çapı arasında pozitif korelasyon bulunmaması ($r=0,17$ ve $0,09$), acaba portal ven basıncı ile portal ven

çapı korele değil mi sorusunu akla getirmektedir. Ancak USG verileri yapan radyoloğa ve işlemin optimalliğine göre değişmektedir ve kesin yorum yapmak mümkün değildir. HVPG ise nicel bir ölçüm olup, portal hipertansiyonu ve klinik yansımalarını gösteren en önemli indirek bulgudur.

LFSları yanısıra portal/septal inflamasyon, interfaz aktivite ve nodül içi nekroinflamatuvar aktivite dereceleri de skorlanmıştır. Portal/septal inflamasyon ve interfaz aktivite dereceleri ile etyoloji arasında yüksek oranda anlamlı farklılık saptanması literatür ile uyumlu olup, beklenen bir sonuçtur. Çünkü viral hepatitlerde, viral antijen yükü ile doğru orantılı olarak hepatosit hasarı ve inflamasyon / nekroinflamatuvar aktivite ön planda iken, metabolik hastalıkların büyük kısmında inflamasyon ya yoktur ya da hafif düzeydedir. Özellikle HCV ve HBV+HDV/HBV+HCV grubunda patogenezi ile uyumlu olarak inflamasyon ve interfaz dereceleri yüksek bulunmuştur. Portal/septal inflamasyon ve interfaz aktivite dereceleri ile klinik ya da radyolojik bulgular arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Benzer olarak 104 vaka üzerinde yapılan çalışmada da portal inflamasyon, periportal inflamasyon, safra duktus proliferasyonu, balonlaşma, yağlı değişiklik ve kolestaz bulguları ile HVPG arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir (47).

Nodül içi NİA değerleri ile asit, kollateral varlığı, dalak boyutu ve evre arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık; LFS, dalak boyutu, asit, varis, kanama arasında orta; inflamasyon, interfaz ve evre arasında iyi düzeyde pozitif

korelasyon saptanmıştır. Nodül içi NİA arttıkça, LFS'ları artmakta ve klinikte asit, varis, kanama görülme ihtimali, yani hastaların dekompanse döneme girme ihtimali artmaktadır. LFS'ları ile portal/septal inflamasyon ve interfaz aktivite arasında pozitif korelasyon bulunmazken, nodül içi NİA ile orta düzeyde korelasyon saptanması; nodül içi NİA düzeyinin en az fibrozis skorları kadar önemli olduğunu ve biyopsi raporlarında belirtilmesi gerektiğini göstermektedir. 2005 yılında yayınlanan, Nagula S. ve arkadaşlarının yaptığı 43 vakalık başka bir çalışmada ise septa kalınlığı, mikronodül varlığı, portal alan kaybı ve lobüler inflamasyon ile “klinik önemli portal hipertansiyon” arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken, interfaz aktivite ile saptanmamıştır. Bu çalışmada yalnızca septal kalınlık ve nodül boyutu klinik önemli PHT varlığını gösteren bağımsız iki parametre olarak bulunmuştur (2). Lobüler inflamasyon=nodül içi NİA nodülün anstabil, dolayısıyla da sirozun aktif dönemde olduğunu göstergesidir. Ortamda inflamasyonun varlığını sürdürmesi yeni vasküler tıkaçların ve parankimal kayıp lezyonlarının oluşmasına, dolayısıyla fibrozisin tetiklenmesine neden olmaktadır. Fibrozis düzeyi arttıkça, intrahepatik vasküler direnç daha çok artmaktadır. Sonuçta lobüler inflamasyon portal hipertansiyona zemin hazırlamaktadır.

Çalışmamızda yer alan 43 siroz vakasının 13'ünde (%30,2) siroz zemininde HSK gelişimi izlenmiştir. 12 ileri HSK vakasından 7'si (%58,3) HBV, 1'i (%8,3) HBV+HDV, 1'i (%8,3) HCV, 2'si (%16,7) steatohepatit ve diğeri tirozinemi (%8,3) zeminindedir. HSK'ların %80-90'ı siroz zemininde gelişmektedir. HBV enfeksiyonunun endemik olduğu bölgelerde siroz ve HSK

insidansı da yüksektir. Dünya geneline baktığımızda HCV enfeksiyonu HBV'den sonra gelmektedir ancak son yıllarda gelişmiş ülkelerde HSK gelişiminde HCV en ön sırayı almıştır (80, 81). Chiaramonte M ve arkadaşlarının 259 vaka üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada, ortalama 64,5 aylık takip süresince HBV+HCV koenfeksiyon olan vakaların %40,7'sinde, HCV hastalarının %20,5'unda ve HBV'lerin %9,1'inde HSK gelişimi saptanmıştır (82). Alkolik sirozlarda HSK insidansı daha düşüktür (81).

LFS ile siroz hastalarında tümör varlığı arasında anlamlı farklılık ya da anlamlı ilişki saptanmamıştır. Tümör içeren vakalarda nonsirotik KC parankimini değerlendirdiğimiz lam sayısı ortalama 5 (min-max; 1-12) iken, nontümöral vakalarda bu oran 8,5 (min-max; 1-25) bulunmuştur. 175 vakadan oluşan çalışmada LFS'ları ile hepatik dekompanse, HSK ve karaciğer nedeniyle ölüm oranları karşılaştırılmış; LFS ile dekompanse ve hepatosellüler karsinom gelişimi açısından anlamlı farklılık saptanırken, KC patolojisi nedeniyle ölüm oranlarında anlamlı farklılık saptanmamıştır. 175 vakanın 22'sinde (%12,6) HSK bulunmakta olup, bunların 2'si (%9,1) F3, 1'i (%4,5) F4A, 14'ü (%63,6) F4B ve 5'i F4C kategorisinde yer almaktadır(3). Bizim çalışmamızda HSK vakalarının LFS'na göre dağılımına baktığımızda 13 vakanın 8'i (%61,5) F4A, 4'ü (%21,1) F4A+4b ve 1'i (%7,7) F4C grubundadır. 2014 yılında yayınlanan, HBV zemininde HSK gelişmiş 92 hastanın rezeksiyon materyallerinde yapılan çalışmada, rekürrens görülen 45 hasta ile, görülmeyen 47 hasta arasında LFS'ları açısından anlamlı farklılık saptanmıştır. Bu çalışmada rekürrens olan gruptaki skorlar F3, F4A, F4B ve F4C'de sırasıyla; 5 (%11.1)/6 (%13.3)/ 26(%57.8) ve

8(%17.8); rekürrens olmayan gruptaki skorlar sırasıyla 19 (%46.4)/9 (%19.1)/17 (%36.2) ve 2 (%4.3) bulunmuştur(79). Rekürrens olmayan gruptaki fibrozis skorlarının dağılımı ile bizim skorlarımızın dağılımı benzer oranlardadır.

Siroz hastalarında ölüm riski, genel popülasyona göre, kompanse olanlarda 5 kat dekompanse olanlarda 10 kat artmıştır (5). Ölüm progresif karaciğer yetmezliği ve portal hipertansiyona ikincil gelişen komplikasyonlar yanısıra siroz zemininde gelişen HSK'a bağlıdır (6). Özellikle kompanse siroz hastalarında KC ilişkili ölümlerden HSK gelişimi sorumludur (81). Hepatokarsinogenez çok aşamalı bir süreçtir ve HSKların genelde displastik odak, displastik nodüller (düşük dereceli ve yüksek dereceli) ve erken HSK gibi premalign lezyonlar zemininde geliştiği gözlenmiştir (7). Siroz zemininde gelişen hepatosellüler nodüler lezyonlar; rejeneratif nodülden, displastik nodüllere ve hepatosellüler karsinoma doğru oldukça heterojen bir gruba kapsar. Modern görüntüleme yöntemleriyle artık asemptomatik olan çok küçük nodüler lezyonlar bile saptanabilmekte ve bu durum patologların işini daha da zorlaştırmaktadır (83). Bu lezyonların, özellikle de hepatokarsinogenez sürecinde birbirine oldukça yakın olan yüksek dereceli DN ile iyi diferansiye HSK'un ayırıcı tanısını yapmak siroz hastalarının yönetimi ve tedavi seçimi açısından oldukça önemlidir. Ancak iğne biyopsilerinde sadece histopatoloji ile bu iki lezyonu ayırmak mümkün değildir.

HSK tanısı için radyoloji, seroloji (AFP düzeyi) ve biyopsi birlikte değerlendirilmelidir. Bu sayede bazı olgulara biyopsi yapılmadan HSK tanısı

konulabilmekte ve cerrahi yapmadan kemoembolizasyon / radyoembolizasyon gibi tedavi yöntemleri uygulanabilmektedir. European Association for the study of the liver (EASL) algoritmasına göre; malignite kriterlerinden (>2 cm, AFP düzeyi >200 ve radyolojik görüntülemelerde malignite açısından tipik vasküler bulgular) herhangi ikisini taşıyan nodüller HSK olarak kabul edilmektedir. >2 cm, AFP düzeyi normal ve dinamik görüntülemelerde vasküler bulguları karakteristik olmayan nodüllere ve 1-2 cm arası tipik radyoloji bulguları olmayan nodüllere biyopsi önerilmektedir. (61, 62, 84).

HSK tanısının konfirmasyonu için yapılan biyopsi nodül ile birlikte çevre KC parankimi de içermelidir. Mikroskopik olarak erken evre (iyi diferansiye) HSK ile yüksek dereceli DN ayrımında; 2-3 hücre kalınlığında hepatosit kordonlarından oluşan trabeküler patern, küçük hücre değişikliği (KHD), asiner ya da pseudoglandüler yapılanma, şeffaf hücre/yağlı değişiklik erken iyi diferansiye HSK'yı düşündürse de kesin tanı "stromal invazyon"un gösterilmesi ile konulabilir. Bu nedenle biyopsi, nodül çevresi KC parankimini içermelidir. Stromal invazyonu değerlendirmek özellikle iğne biyopsilerinde her zaman mümkün değildir. Nodül çevresinde izlenen kolanjioler proliferasyon alanları stromal invazyon ile karışabileceği gibi, biyopsi invazyon alanına denk düşmemiş de olabilir. Tüm bu nedenlerden dolayı erken HSK tanısını desteklemek için bazı ek yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Histokimyasal olarak gümüş boyası ile retiküler çatıda fokal kayıp olması; immünohistokimyasal olarak ise Glypican-3, Glutamin sentetaz (GS) ve HSP-70 boyalarından herhangi ikisinin ya da üçünün

birlikte pozitifliği erken HSK tanısını desteklemektedir (7, 60, 63, 85). Literatürde bu üç belirteçle yapılan çalışmalara baktığımızda bu belirteçler içinde en spesifik ve sensitif olanı Glypican-3 olarak bulunmuştur. Glypican-3 HSKların büyük kısmında pozitif iken, normal KC ve benign nodüllerde negatiftir(86). Displastik nodüllerde ise fokal, zayıf, kanaliküler şekilde HSK'dan farklı boyanma paternleri görülmektedir. Glipican-3, Hepar-1 ve AFP ile karşılaştırıldığında da HSK tanısında daha spesifik ve sensitif olduğu görülmüştür (87, 88).

Bu çalışmada ise bu üç belirteçten ikisinin; GS ve HSP 70'in nodüler lezyonlardaki boyanma paternleri araştırıldı. 43 siroz vakasının 17'sinde saptanan toplam 45 adet nodüler lezyonda ortalama nodül çapı $2,3\pm2,6$; yalnızca HSKlarda ortalama nodül çapı $4,7\pm2,7$ idi. AFP düzeylerinin ortalaması da tüm nodüler lezyonlarda daha düşük iken, HSK vakalarında daha yüksek olup, 200 ng/ml'nin üzerindeydi. İleri HSKların hepsi 20 mm'nin üzerinde idi ve displastik odaktan HSK'a doğru gittikçe nodül çapı artmaktaydı. Erken HSK ve DNler ise 20 mm'nin altındaydı. Ancak bu demek değildir ki 20 mm'nin altında ileri HSK olamaz; hepatokarsinogenez sürecinde DO'tan HSK gelişimine kadar olan basamaklar birbirini sırayla takip etmek zorunda değildir. Displastik odak, sirotik nodül ya da düşük dereceli DN'den de dediferansiasyonla HSK gelişebilir ancak bunun olma ihtimali daha düşüktür. 20 mm sınırı çok sayıda çalışma sayesinde konulmuş bir sınırdır ve AFP düzeyleri ile birlikte değerlendirildiğinde pozitif prediktif değeri oldukça yüksektir. Nodüler lezyonların HSK'a dönüşme oranları

da farklıdır ve YDDN'e doğru gittikçe bu oran artmaktadır. Amaç erken aşamadaki bu lezyonları tanımak ve HSK'a dönmeden tedavi etmektir.

Bizim çalışmamızda **GS** sirotik, makrorejeneratif, düşük dereceli ve yüksek dereceli displastik nodüllerin tümünde ve displastik odaklarda negatif bulunurken; erken HSK vakalarının %50'si ve ileri HSK vakalarının %41,7'sinde pozitif saptandı. En yüksek oranda boyanma %75 ile iyi diferansiye HSK'larda izlenirken, grade arttıkça GS boyanma yüzdesinin azaldığı dikkati çekti. Tüm nodül tipleri arasında GS boyanması açısından anlamlı fark saptanmasına rağmen, tek başına erken HSK ile diğer nodül tipleri arasında anlamlı fark bulunmamış olması erken HSK grubundaki vaka sayısının az olmasından kaynaklanmaktadır. GS boyanması ile nodül tipleri dışında yalnızca portal ven çapı arasında anlamlı fark saptandı. Bu farkın nedeni GS pozitif olan vakaların yalnızca 2'sinin portal ven çapı bilgisine ulaşılmış olup, ikisinde de portal ven çapının 13 mm'nin üzerinde olmasından kaynaklanmaktadır. Ancak diğer pozitif olan vakaların portal ven çapı bilgisi olmadığından bu farkın anlamlılığı tartışmalıdır. Nodüler lezyonlarda GS ile yapılmış benzer çalışmalara baktığımızda; Luca Di Tomasso ve arkadaşlarının 2007 yılında 105 nodül (53 non-malign, 52 malign) üzerinde yaptığı bir çalışmada erken HSK vakalarının %70'inde ve ileri HSK vakalarının %69,81'inde diffüz (%50'nin üstünde); yüksek dereceli DN'lerin %13,6'sında ise fokal (%50'nin altında)GS pozitifliği saptanmıştır (64). Tremosini S. ve arkadaşlarının yaptığı prospektif bir çalışmada ise GS HSK nodüllerinin %50'sinde, non-malign nodüllerin ise %10'unda pozitif bulunmuştur (85). Bizim

çalışmamızda nonmalign nodüllerde neoplastik tipte boyanma izlenmedi ancak sirotik nodüllerin bir kısmında normalde olması gereken perivenüler alanlarda, bir kısmındada sirotik nodüllerin septalara yakın alanlarında ve nodül içinde dağınık şekilde boyanma dikkati çekti. Bazı nodüller ise tamamen negatifti. Benzer olarak Kirsten E. Fleming and Ian R. Wanless'in siroz ve çeşitli nonneoplastik karaciğer hastalıklarında yaptığı bir çalışmada; ağır siroz, kronik konjesyon ve zon 3 nekroz içeren vakalarda perivenüler GS ekspresyonunda kayıp izlenirken, aktif hepatosellüler hasarda (rejeksiyon gibi) diffüz GS ekspresyonu saptanmış. Ayrıca kronik hepatitlerde ve fulminan KC yetmezliği olan bazı vakalarda, küçük duktuslarda hepatik progenitör hücre lokalizasyonlarına uyan alanlarda GS ekspresyonu dikkati çekmiştir(66). Sirozda izlenen dağınık boyanmalar sirozun patogeneze düşünüldüğünde hepatik venlerin portal alanlara yaklaşmasına ya da obliterasyonla tamamen küçülmesine bağlı olabilir. Septalarda izlediğimiz boyanmalar ise belki de Kirsten E. Fleming and Ian R. Wanless'in hipotezindeki gibi aktive Hepatik progenitör hücrelerdeki boyanmalardır.

HSK gelişimi oldukça geniş moleküler heterojenite göstermektedir. En sık karşılaştığımız moleküler değişiklikler Wnt/ β -katenin sinyal yolağındaki mutasyonlardır. Hepatosellüler GS ekspresyonu Wnt/ β -katenin sinyal yolağı tarafından düzenlenmektedir. Neoplazilerde β -katenin mutasyonu sonucu GS transkripsiyon faktörleri aktive olmakta ve GS düzeyi artmaktadır (89). Dolayısıyla nükleer β -katenin ekspresyonu ile sitoplazmik GS ekspresyonu yüksek düzeyde korelasyon göstermektedir. GS enziminin son ürünü olan glutamin de

tümör hücrelerinin ana enerji kaynağını oluşturmaktadır (90). Rejenerasyonda ise Wnt sinyal yolağı aktive olmakta ve GS enzim aktivitesini stimüle etmektedir(91). Bizim çalışmamızda ve benzer çalışmalarda GS ekspresyonunun iyi diferansiye HSK’larda görülmesi ve diferansiasyon azaldıkça ekspresyon kaybının ortaya çıkması, Wnt/ β -katenin sinyal yolağındaki mutasyonların hepatokarsinogeneze, displaziden karsinom aşamasına geçişte erken dönemlerde rol oynadığının göstergesidir. Çalışmamızda yer alan “nodül içi nodül” görünümüne sahip, erken HSK zemininde iyi-orta derece diferansiye HSK vakasının, erken HSK alanı diffüz kuvvetli GS pozitifken, dediferansiye alanların bir kısmı zayıf diffüz pozitif, bir kısmı ise tamamen negatifti. Bu da gösteriyor ki HSK gelişiminde farklı diferansiasyon aşamalarında farklı moleküler yollar rol oynamaktadır. 2012 yılında Stephen M. Lagana ve arkadaşlarının intrahepatik kolanjiokarsinom (İH-KK) ve metastatik KC tümörlerinde yaptığı başka bir çalışmada ise; İH-KK’ların %76’sında, metastatik karsinomların ise %71’inde GS ekspresyonu saptanmıştır (92). Sonuçta GS’in tanısal amaçlı kullanımı yalnızca displazi/karsinom ayrımında sınırlıdır.

HSP 70 antiapoptotik bir protein olup, nükleositoloplazmik boyanma paterni göstermektedir. Çalışmamızda HSP 70 ile farklı nodül tiplerinde, birbiriyle korelasyon göstermeyen farklı yoğunlukta sitoplazmik ve nükleer boyanmalar izlendiği için ayrı ayrı skorlanarak istatistiksel analiz yapılmıştır. Örneğin HSK’da diffüz sitoplazmik HSP 70 boyanması izlenirken, nükleer boyanma izlenmemiş; ya da MRN’de yaygın nükleer boyanma mevcutken, zayıf sitoplazmik boyanma

dikkati çekmiştir. Biz nodüler lezyonların ayırımında HSP 70 sitoplazmik boyanmasını tek başına anlamlı bulurken, HSP 70 nükleer boyanmasını tek başına anlamlı bulmadık. Ancak hem sitoplazmik hem nükleer pozitif vakalarda boyanma oranının ve şiddetinin sirozdan HSK'ya doğru gittikçe arttığını gözlemledik. HSP 70 antiapoptotik bir protein olmasından dolayı hem neoplazide hem de rejenerasyonda rol almaktadır. Bu nedenle benign/malign çok geniş spektrumda boyanması bizi çok da şaşırtmamıştır. Literatüre göre; Chuma M. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada erken HSK, DN ve non-kanseröz dokularda 12600 gen analizi yapılmış ve bu genler arasında erken HSK'da en fazla ekspresyonu artan gen HSP-70 bulunmuştur. HSP 70 mRNA ekspresyon düzeyi nonkanseröz dokulardan erken HSK ve ileri HSK'a doğru gittikçe artmaktadır. İmmünohistokimyasal olarak HSP 70'in dokudaki ekspresyon oranlarına da bakılmış; kronik hepatit ve sirozlarda fokal/zayıf nükleer boyanma dışında boyanma görülmemiştir. Chuma M. ve arkadaşları bizden farklı olarak, HSP 70 sitoplazmik ve nükleer boyanmasının birbiriyle korelasyon gösterdiğini ve erken HSKların %80'inde pozitif olduğunu saptamışlardır(67). Bizim çalışmamızda da olduğu gibi ileri HSKlar erken HSKlara göre daha yaygın pozitiflik göstermektedir ancak diferansiasyonla HSP 70 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. Yüksek dereceli DNler ile Erken HSK'u ayırmak için HSP 70 ile çok sayıda çalışma yapılmış; GS, HSP 70 ve Glipican-3 boyalarının 2'li ve 3'lü kombinasyonlarına bakılmıştır (64, 93, 94). HSP 70, GS ve Glipican-3 paneli yüksek dereceli DN ile Erken HSK'ı ayırmada oldukça kullanışlıdır. Üçünün de pozitifliği erken HSK vakalarının yarısında

saptansa da displastik nodüllerin hiç birinde görülmemiştir. Üçünün de negatifliği ise yüksek dereceli DN'in büyük kısmı ile düşük dereceli DN'in hepsinde saptanmıştır(64). Bizdeki 2 erken HSK vakasının birinde hem GS pozitifliği hem de 2+sitoplazmik ve 2+nükleer HSP 70 pozitifliği saptandı. HSP 70'in sitoplazmik boyanması, ileri HSK vakaları ile diğer tüm nodüller arasında anlamlı farklılık gösterirken, erken HSK ile diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Bunun nedeni erken HSK vaka sayımızın az olmasında kaynaklanmaktadır. Biz ayrıca nodüler lezyonlarda HSP 70 nükleer boyanmasını literatüre göre daha geniş bir dağılımda saptadık. Sirotik nodüllerin %60'ı ile makrorejeneratif nodüllerin %85'inde en az 2+ nükleer boyanma mevcuttu. Özellikle alfa-1 antitripsin eksikliği ve tirozinemi zeminindeki sirotik ve MRN'lerde nükleer boyanmayı daha yaygın olarak izledik ancak istatistiksel olarak ne sitoplazmik ne de nükleer boyanmanın etyoloji ile arasında anlamlı fark vardı. HSP 70'in sitoplazmik boyanması ile nodül tipi dışında, klinik ya da histolojik hiçbir bulgu arasında anlamlı fark saptanmadı. HSP 70'in nükleer boyanması ile vakaların KC boyutu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Bu fark nükleer 3+ olan vakaların hepsinde de KC boyutunun normal olmasından kaynaklanmakta ancak klinik bir anlamı bulunmamaktadır. 2012 yılında Stephen M. Lagana ve arkadaşlarının intrahepatik kolanjiokarsinom (İH-KK) ve metastatik KC tümörlerinde yaptığı çalışmada ise; İH-KK'ların ve metastatik karsinomların ise %88'inde HSP 70 ekspresyonu saptanmıştır (92). Sonuçta aynı GS'da olduğu gibi tanısal amaçlı kullanımı yalnızca displazi/karsinom ayrımında sınırlıdır. Üstelik HSP 70 ekspresyonunu literatürden

farklı olarak benign lezyonlarda da yüksek oranda saptamamız HSP 70'in 2 cm'in altındaki nodüler lezyonları ayırmada daha az değerli ve daha kafa karıştırıcı olabileceğini düşündürmüştür. İmmünohistokimya, patolojinin her alanında olduğu gibi KC'in nodüler lezyonlarında da kesin tanı koydurucu olmayıp tanıyı destekleyicidir. Yani klinik ve histopatolojik özellikleri yüksek dereceli DN ile erken HSK aşamasında olan nodüller için HSP 70 boyanması bizi erken HSK tarafına yöneltirken; siroz zeminindeki herhangi bir nodülde farklı derece ve paternlerde karşımıza çıkan boyanmaların tanısal bir anlamı olmayacaktır. Bu lezyonların ayırımında literatürde olduğu gibi tek bir belirteç yerine GS, HSP 70 ve Glypican-3'ü içeren bir panel uygulanmalıdır.

Bizim çalışmamızın sınırlayıcı tarafı; rezeksiyon materyalimizin ve erken HSK vaka sayımızın az olmasıdır. Bu nedenle HSP 70+GS kombinasyonunun sensitivite ve spesifitesi değerlendirilememiş; yüksek dereceli displastik nodüllerle erken HSK ayırımında ekspresyonlar açısından fark saptanmamıştır. Ancak gözlemlerimiz literatürle benzer oranlardadır. Çalışmamızı değerli yapan ise henüz literatürde Laennec fibrozis skorları ile preneoplastik lezyonların ve immünohistokimyanın birlikte çalışıldığı yayın bulunmamaktadır. Rezeksiyon materyallerinde Laennec skorlamasının yapıldığı ise 2. çalışmadır. İlki 2014 yılında S.U Kim ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (79). Hastalarımızın tümünde klinik bilgilere ulaşamamış olsak da Laennec fibrozis skorları ve histolojik parametrelerle klinik arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır.

Sonuç olarak; hem iğne biyopsileri, hem de rezeksiyon materyallerinde fibrozis miktarı, dolayısıyla Laennec fibrozis skorları klinik ve radyolojik bulgularla korelasyon göstermektedir. “Uluslararası karaciğer çalışma grubu” artık siroz teriminin kullanımdan kalkması ve yerine “ileri evre kronik karaciğer hastalığı” tanımının kullanılmasını önermiştir. Ayrıca patoloji raporlarında nekroinflamatuvar aktivitenin derecesi, hepatosellüler karsinom gelişimi açısından risk faktörleri (küçük / büyük hücre değişikliği gibi) varsa belirtilmelidir. Terminoloji değişikliği yapmak, özellikle de “siroz” gibi çok geniş kullanım alanına sahip medikal terimlerde oldukça zor olmaktadır. Bu konuda patologların ve klinisyenlerin fikirbirliğine varması ve hastaları multidisipliner bir yaklaşımla ele alması gerekmektedir.

Kronik KC hastaları için prognozu ve tedaviyi belirlemede en önemli 2 faktör etyolojiyi ve evreyi belirlemektir. Evre hastalığa spesifik olarak belirlenmelidir (aynı skorlama sistemi tüm hastalıklar için uygun değildir) ancak tek başına iğne biyopsisi ile evreyi söylemek kolay değildir. Bu nedenle klinikopatolojik yaklaşımla hastaların ele alınıp değerlendirilmesi daha uygundur (76). Etiyolojiyi belirlemek, hem tedavi cevabının değerlendirilmesini, hem de HSK’u erken saptamak için yeni stratejiler geliştirmemizi kolaylaştıracaktır. Çünkü kronik karaciğer hastalığına neden olan farklı etyolojilerde neoplazi gelişim insidansı da farklılık göstermektedir. Çalışma grubu ayrıca, fibroziste gerileme olan biyopsilere “Regresyon bulguları gösteren ileri evre kronik KC” tanımlamasının; klinik olarak belirgin PHT olan kronik KC hastalarına ise “son dönem” tanımının kullanılmasını önermiştir.

6.SONUÇLAR

1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında Ocak 2006 ile Ocak 2014 yılları arasında, siroz tanısı alan toplam 50 rezeksiyon materyali saptandı. Çalışmaya dahil edilen 43 siroz vakasının %79,1'i erkek, %20,9'u kadındı. Ortalama yaş $46,1 \pm 20,3$ idi. Hastaların %34,4'ü kompanse, %64,6'sı dekompanse evreydi. %30,2'i vakada tümör saptandı.

2. Siroz etyolojisinde en sık viral nedenler, viral nedenler içinde de HBV saptandı. Gelişmiş ülkelerde HBV'ye karşı aşılamanın artışıyla HCV enfeksiyonu ön sıraları alırken, bizim ülkemizin bu konuda da gelişmekte olan ülkeler arasındaki yerini koruduğu görüldü.

3. Rezeksiyon materyallerinin 29'u (%67,4) total hepatektomi idi. Rezeksiyonlarda birden fazla skor birarada görüldüğü için ara kategorileri de belirlemek adına Laennec fibrozis skorlaması hem 5 hem 3 alt grup şeklinde yapıldı (**4A**, 4A+4b, **4B**, 4B+4c, **4C**). Rezeksiyon türü ile LFS'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Bunun nedeni 4A dışındaki yüksek skorların hepsinin total hepatektomi materyallerinde olmasıydı. İncelenen lam sayısının artmasının yüksek skorları saptamada yararlı olabileceği düşünüldü.

4. Siroz vakalarını, Laennec skorlama sistemine göre yeniden sınıflandırdığımızda 5 alt grupta en sık 4A+4b kategorisinde rastlanırken, 3 alt grupta 4B kategorisi en sıklıkla. En düşük skor olan F4A skorunun neredeyse tüm vakalarda eşlik ettiği görüldü.

5. HBV hastalarında ve diğer başlığı altında toplanan heterojen grupta her skora rastlanmış olup, LFS 3 alt grup ile etyoloji arasında anlamlı fark saptandı.

6. LFS hem 5 hem 3 alt grup ile hastaların asit, varis, kanama durumu ve evre arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Üç grup karşılaştırmasında bu fark daha yüksek düzeyde idi ve bu sonuç bize yüksek skorun varolmasının, yaygınlığından daha önemli olduğunu gösterdi.

7. LFS ile nodül içi NİA, kanama ve dalak boyutu arasında orta; asit, varis, kollateral oluşumu ve evre arasında iyi düzeyde pozitif korelasyon saptanması; LFSu arttıkça PHT'a bağlı komplikasyonların arttığını gösterdi.

8. LFSları yanısıra portal/septal inflamasyon, interfaz aktivite ve nodül içi NİA dereceleri de skorlanarak klinik bulgularla karşılaştırıldı. Portal/septal inflamasyon ve interfaz aktivite dereceleri ile etyoloji arasında anlamlı fark saptanmasına rağmen; klinik bulgularla saptanmadı.

9. Nodül içi NİA ile asit, kollateral oluşumu, dalak boyutu ve evre arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken; etyoloji ve diğer parametreler arasında saptanmadı.

10. İnflamasyon ile evre arasında orta; nodül içi NİA ve interfaz aktivite arasında iyi düzeyde pozitif korelasyon saptandı. İnterfaz aktivite ile varis, kanama ve evre arasında orta düzeyde; inflamasyon ve nodül içi NİA arasında iyi düzeyde korelasyon saptandı. Nİ-NİA ile LFS, dalak boyutu, asit, varis, kanama arasında orta; inflamasyon, interfaz ve evre arasında iyi düzeyde pozitif

korelasyon saptandı. Nodül içi NİA düzeyinin en az fibrozis skoru kadar önemli olduğu ve biyopsi raporlarında belirtilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

11. Kırküş siroz vakasından 17'sinde toplamda 45 adet (7 makrorejeneratif nodül, 4 displastik odak, 3 düşük dereceli displastik nodül, 7 yüksek dereceli displastik nodül, 2 erken HSK ve 12 ileri HSK) nodüler lezyon saptandı.

12. Nodül çapı ile nodül tipi arasında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı fark ve pozitif korelasyon bulunması nodül çapının displaziden ileri HSK'a doğru gittikçe arttığının gösterdi. İleri HSK'ların ortalama çapı, tüm nodüler lezyonların 2 katı idi.

13. Hastaların ortalama AFP düzeyleri de tüm nodül vakalarında normal sınırlar içinde iken; ileri HSK vakalarında 200'ün üstünde saptandı.

14. İleri HSK vakalarının %58,3'ü HBV zemininde gelişmiştir. Erken HSK olan 2 vakanın biri HBV; diğeri tirozinemi zeminindedir. Tirozinemi vakalarının her ikisinde de çok çeşitli nodül tiplerine rastlanmıştır (MRN, DDDN, YDDN, erken HSK, ileri HSK gibi).

15. Glutamin sentetaz ve HSP 70'in sitoplazmik boyanması ile nodül tipleri arasında anlamlı fark saptanırken; HSP 70'in nükleer boyanması arasında anlamlı fark saptanmadı. İleri HSK'ların farklı derecelerinde GS ya da HSP 70 boyanması açısından fark görülmedi.

16. GS'ın tüm benign lezyonlarda, displastik nodüller de dahil nonneoplastik paternde boyanması, erken HSKları saptamada önemli bir belirteç

olduğunu göstermiş ancak erken HSK vaka sayısının az olması nedeniyle sağlıklı istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.

17. HSP 70'in nükleer boyanmasına benign ve malign tüm nodüler lezyonlarda değişen derecelerde rastlandığı için, tek başına erken HSK tanısında yeri olmadığı ve daha az güvenilir olduğu sonucuna varılmıştır.

18. İmmünohistokimyasal pozitif sonuçlarla Laennec fibrozis skorları, histolojik parametreler ve klinik arasında belirgin bir anlamlı fark saptanmadı.

18. **Sonuç olarak;** siroz vakalarını sınıflamanın klinik ve prognostik önemi bizim çalışmamız tarafından da desteklenmiştir. 2 cm'in altındaki nodüler lezyonlara tanı verirken literatürde de yer aldığı gibi HSP 70, GS ve Glipican-3'ü içeren panel uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

7.KAYNAKLAR

1. Kim MY, Cho MY, Baik SK, Park HJ, Jeon HK, Im CK, et al. Histological subclassification of cirrhosis using the Laennec fibrosis scoring system correlates with clinical stage and grade of portal hypertension. *J Hepatol*. 2011 Nov;55(5):1004-9.
2. Nagula S, Jain D, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G. Histological-hemodynamic correlation in cirrhosis-a histological classification of the severity of cirrhosis. *J Hepatol*. 2006 Jan;44(1):111-7.
3. Kim SU, Oh HJ, Wanless IR, Lee S, Han KH, Park YN. The Laennec staging system for histological sub-classification of cirrhosis is useful for stratification of prognosis in patients with liver cirrhosis. *J Hepatol*. 2012 Sep;57(3):556-63.
4. Burt AD, MacSween RNMPotl, Portmann B, Ferrell LD. MacSween's pathology of the liver. 6th ed. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2012.
5. Fleming KM, Aithal GP, Card TR, West J. All-cause mortality in people with cirrhosis compared with the general population: a population-based cohort study. *Liver Int*. 2012 Jan;32(1):79-84.
6. Kumar V. Robbins and Cotran's pathologic basis of disease. 8th ed. / Vinay Kumar. ed. Philadelphia, Pa. ; London: Saunders; 2010.
7. Park YN. Update on precursor and early lesions of hepatocellular carcinomas. *Arch Pathol Lab Med*. 2011 Jun;135(6):704-15.
8. Hytioglou P, Snover DC, Alves V, Balabaud C, Bhathal PS, Bioulac-Sage P, et al. Beyond "cirrhosis": a proposal from the International Liver Pathology Study Group. *Am J Clin Pathol*. 2012 Jan;137(1):5-9.
9. Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, Poulsen HE, Scheuer PJ, Sobin LH. The morphology of cirrhosis: definition, nomenclature, and classification. *Bull World Health Organ*. 1977;55(4):521-40.
10. F. K. The anatomy and physiology of the liver. *Philos Trans R Soc Lond*. 1833.
11. Rappaport AM, Borowy ZJ, Loughheed WM, WN. L. Subdivision of hexagonal liver lobules into a structural and functional unit. Role in hepatic physiology and pathology. *Anat Rec*. 1954.
12. Matsumoto T, Komori R, Magara T. A study on the normal structure of human liver, with special reference to its angioarchitecture. . *Jikeikai Med J* 1979.
13. Matsumoto R, M. K. The unit-concept of hepatic parenchyma – a reexamination based on angioarchitectural studies. . *Acta Pathol Jpn* 1982.
14. Mills SE. Histology for pathologists. 3rd ed. / editor, Stacey E. Mills. ed. Philadelphia ; London: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
15. Alison MR, Islam S, Lim S. Stem cells in liver regeneration, fibrosis and cancer: the good, the bad and the ugly. *J Pathol*. 2009 Jan;217(2):282-98.
16. Roskams T, Katoonizadeh A, Komuta M. Hepatic progenitor cells: an update. *Clin Liver Dis*. 2010 Nov;14(4):705-18.
17. Libbrecht L. Hepatic progenitor cells in human liver tumor development. *World J Gastroenterol*. 2006 Oct 21;12(39):6261-5.
18. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008 May;134(6):1655-69.
19. Ramachandran P, Iredale JP. Liver fibrosis: a bidirectional model of fibrogenesis and resolution. *QJM*. 2012 Sep;105(9):813-7.

20. Parola M, Pinzani M. Hepatic wound repair. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2009;2(1):4.
21. Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2011 Apr;25(2):195-206.
22. Nath B, Szabo G. Hypoxia and hypoxia inducible factors: diverse roles in liver diseases. *Hepatology*. 2012 Feb;55(2):622-33.
23. Paternostro C, David E, Novo E, Parola M. Hypoxia, angiogenesis and liver fibrogenesis in the progression of chronic liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2010 Jan 21;16(3):281-8.
24. Wanless IR, Huang W. Vascular Disorders. In: Burt A, Portmann B, Ferrell L, editors. *MacSween's Pathology of the Liver*. 6th ed. Edinburg: Churchill-Livingstone-Elsevier; 2012. p. 601-43.
25. Wanless IR, Nakashima E, Sherman M. Regression of human cirrhosis. Morphologic features and the genesis of incomplete septal cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med*. 2000 Nov;124(11):1599-607.
26. Ferrell L. Liver pathology: cirrhosis, hepatitis, and primary liver tumors. Update and diagnostic problems. *Mod Pathol*. 2000 Jun;13(6):679-704.
27. Hall A, Germani G, Isgro G, Burroughs AK, Dhillon AP. Fibrosis distribution in explanted cirrhotic livers. *Histopathology*. 2012 Jan;60(2):270-7.
28. Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, Poulsen HE, Scheuer PJ, Sobin LH. The morphology of cirrhosis. Recommendations on definition, nomenclature, and classification by a working group sponsored by the World Health Organization. *J Clin Pathol*. 1978 May;31(5):395-414.
29. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol*. 2000;32(1 Suppl):19-31.
30. Lee RG. *Diagnostic liver pathology*. St. Louis ; London: Mosby; 1994.
31. K1014Djiro M. *Pathology of hepatocellular carcinoma*. Malden, Mass. ; Oxford: Blackwell; 2006.
32. Schinoni MI, Andrade Z, de Freitas LA, Oliveira R, Parana R. Incomplete septal cirrhosis: an enigmatic disease. *Liver Int*. 2004 Oct;24(5):452-6.
33. Kim MY, Baik SK, Yea CJ, Lee IY, Kim HJ, Park KW, et al. Hepatic venous pressure gradient can predict the development of hepatocellular carcinoma and hyponatremia in decompensated alcoholic cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Nov;21(11):1241-6.
34. de Franchis R. Evolving consensus in portal hypertension. Report of the Baveno IV consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *J Hepatol*. 2005 Jul;43(1):167-76.
35. Özdemir S GM. Karaciğer sirozu. İç Hastalıkları Ders Kitabı II. İstanbul: İstanbul, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, ; 1996.
36. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995 Jun;22(6):696-9.
37. Lefkowitz JH. Liver biopsy assessment in chronic hepatitis. *Arch Med Res*. 2007 Aug;38(6):634-43.
38. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol*. 1991 Nov;13(3):372-4.
39. Batts KP, Ludwig J. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. *Am J Surg Pathol*. 1995 Dec;19(12):1409-17.

40. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996 Aug;24(2):289-93.
41. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1994 Jul;20(1 Pt 1):15-20.
42. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999 Sep;94(9):2467-74.
43. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005 Jun;41(6):1313-21.
44. Kutami R GN, Wanless IR, et al. The Laennec grading system for assessment of hepatic fibrosis: validation by correlation with wedged hepatic vein pressure and clinical features [abstract]. *Hepatology*. 2000;32:407a.
45. Wanless IR, Sweeney G, Dhillon AP, Guido M, Piga A, Galanello R, et al. Lack of progressive hepatic fibrosis during long-term therapy with deferiprone in subjects with transfusion-dependent beta-thalassemia. *Blood*. 2002 Sep 1;100(5):1566-9.
46. Cheong JY, Um SH, Seo YS, Shin SS, Park RW, Kim DJ, et al. A practical scoring system for predicting cirrhosis in patients with chronic viral hepatitis. *Hepatogastroenterology*. 2012 Nov-Dec;59(120):2592-7.
47. Rastogi A, Maiwall R, Bihari C, Ahuja A, Kumar A, Singh T, et al. Cirrhosis histology and Laennec staging system correlate with high portal pressure. *Histopathology*. 2013 Apr;62(5):731-41.
48. Ng CH, Chan SW, Lee WK, Lai L, Lok KH, Li KK, et al. Hepatocarcinogenesis of regenerative and dysplastic nodules in Chinese patients. *Hong Kong Med J*. 2011 Feb;17(1):11-9.
49. van Meer S, de Man RA, Siersema PD, van Erpecum KJ. Surveillance for hepatocellular carcinoma in chronic liver disease: evidence and controversies. *World J Gastroenterol*. 2013 Oct 28;19(40):6744-56.
50. Roncalli M, Park YN, Di Tommaso L. Histopathological classification of hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis*. 2010 Jul;42 Suppl 3:S228-34.
51. Libbrecht L, Desmet V, Roskams T. Preneoplastic lesions in human hepatocarcinogenesis. *Liver Int*. 2005 Feb;25(1):16-27.
52. Lee JS, Heo J, Libbrecht L, Chu IS, Kaposi-Novak P, Calvisi DF, et al. A novel prognostic subtype of human hepatocellular carcinoma derived from hepatic progenitor cells. *Nat Med*. 2006 Apr;12(4):410-6.
53. Marchio A, Terris B, Meddeb M, Pineau P, Duverger A, Tiollais P, et al. Chromosomal abnormalities in liver cell dysplasia detected by comparative genomic hybridisation. *Mol Pathol*. 2001 Aug;54(4):270-4.
54. Plentz RR, Park YN, Lechel A, Kim H, Nellessen F, Langkopf BH, et al. Telomere shortening and inactivation of cell cycle checkpoints characterize human hepatocarcinogenesis. *Hepatology*. 2007 Apr;45(4):968-76.
55. Libbrecht L, Desmet V, Van Damme B, Roskams T. The immunohistochemical phenotype of dysplastic foci in human liver: correlation with putative progenitor cells. *J Hepatol*. 2000 Jul;33(1):76-84.
56. Lee RG, Tsamandas AC, Demetris AJ. Large cell change (liver cell dysplasia) and hepatocellular carcinoma in cirrhosis: matched case-control study,

pathological analysis, and pathogenetic hypothesis. *Hepatology*. 1997 Dec;26(6):1415-22.

57. Terris B, Ingster O, Rubbia L, Dubois S, Belghiti J, Feldmann G, et al. Interphase cytogenetic analysis reveals numerical chromosome aberrations in large liver cell dysplasia. *J Hepatol*. 1997 Aug;27(2):313-9.

58. Robinson P. Hepatocellular carcinoma: development and early detection. *Cancer Imaging*. 2008;8 Spec No A:S128-31.

59. Terminology of nodular hepatocellular lesions. *Hepatology*. 1995 Sep;22(3):983-93.

60. Sakamoto M. Early HCC: diagnosis and molecular markers. *J Gastroenterol*. 2009;44 Suppl 19:108-11.

61. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2005 Nov;42(5):1208-36.

62. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol*. 2001 Sep;35(3):421-30.

63. Shafizadeh N, Kakar S. Diagnosis of well-differentiated hepatocellular lesions: role of immunohistochemistry and other ancillary techniques. *Adv Anat Pathol*. 2011 Nov;18(6):438-45.

64. Di Tommaso L, Franchi G, Park YN, Fiamengo B, Destro A, Morengi E, et al. Diagnostic value of HSP70, glypican 3, and glutamine synthetase in hepatocellular nodules in cirrhosis. *Hepatology*. 2007 Mar;45(3):725-34.

65. Tsai JH, Jeng YM, Pan CC, Lu SW, Kuo YJ. Immunostaining of glutamine synthetase is a sensitive and specific marker for diagnosing focal nodular hyperplasia in needle biopsy. *Pathology*. 2012 Dec;44(7):605-10.

66. Fleming KE, Wanless IR. Glutamine synthetase expression in activated hepatocyte progenitor cells and loss of hepatocellular expression in congestion and cirrhosis. *Liver Int*. 2013 Apr;33(4):525-34.

67. Chuma M, Sakamoto M, Yamazaki K, Ohta T, Ohki M, Asaka M, et al. Expression profiling in multistage hepatocarcinogenesis: identification of HSP70 as a molecular marker of early hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2003 Jan;37(1):198-207.

68. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2002 May;122(5):1303-13.

69. Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, Hann HW, Woessner M, Stephenson SL, et al. Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology*. 2003 Jan;124(1):105-17.

70. Czaja AJ, Carpenter HA. Decreased fibrosis during corticosteroid therapy of autoimmune hepatitis. *J Hepatol*. 2004 Apr;40(4):646-52.

71. Falize L, Guillygomarc'h A, Perrin M, Laine F, Guyader D, Brissot P, et al. Reversibility of hepatic fibrosis in treated genetic hemochromatosis: a study of 36 cases. *Hepatology*. 2006 Aug;44(2):472-7.

72. Garcia-Tsao G, Friedman S, Iredale J, Pinzani M. Now there are many (stages) where before there was one: In search of a pathophysiological classification of cirrhosis. *Hepatology*. 2010 Apr;51(4):1445-9.

73. Sempoux C, Rahier J. Commentary: "Cirrhosis or not cirrhosis": should we discontinue the term? *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2012 Oct;36(5):405-7.

74. Ripoll C, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace N, Burroughs A, et al. Hepatic venous pressure gradient predicts development of hepatocellular carcinoma independently of severity of cirrhosis. *J Hepatol.* 2009 May;50(5):923-8.
75. Germani G, Burroughs AK, Dhillon AP. The relationship between liver disease stage and liver fibrosis: a tangled web. *Histopathology.* 2010 Dec;57(6):773-84.
76. Germani G, Hytioglou P, Fotiadu A, Burroughs AK, Dhillon AP. Assessment of fibrosis and cirrhosis in liver biopsies: an update. *Semin Liver Dis.* 2011 Feb;31(1):82-90.
77. Wanless IR CJ. Cirrhosis. In: Odze RD GJ, editor. *Surgical pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas.* Philadelphia: PA: Saunders; 2009.
78. Calvaruso V, Burroughs AK, Standish R, Manousou P, Grillo F, Leandro G, et al. Computer-assisted image analysis of liver collagen: relationship to Ishak scoring and hepatic venous pressure gradient. *Hepatology.* 2009 Apr;49(4):1236-44.
79. Kim SU, Jung KS, Lee S, Park JY, Kim DY, Ahn SH, et al. Histological subclassification of cirrhosis can predict recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *Liver Int.* 2014 Feb 1.
80. Monto A, Wright TL. The epidemiology and prevention of hepatocellular carcinoma. *Semin Oncol.* 2001 Oct;28(5):441-9.
81. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology.* 2004 Nov;127(5 Suppl 1):S35-50.
82. Chiamonte M, Stroffolini T, Vian A, Stazi MA, Floreani A, Lorenzoni U, et al. Rate of incidence of hepatocellular carcinoma in patients with compensated viral cirrhosis. *Cancer.* 1999 May 15;85(10):2132-7.
83. Wanless IR. Liver biopsy in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis.* 2005 May;9(2):281-5, vii.
84. Lencioni R. Surveillance and early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis.* 2010 Jul;42 Suppl 3:S223-7.
85. Tremosini S, Forner A, Boix L, Vilana R, Bianchi L, Reig M, et al. Prospective validation of an immunohistochemical panel (glypican 3, heat shock protein 70 and glutamine synthetase) in liver biopsies for diagnosis of very early hepatocellular carcinoma. *Gut.* 2012 Oct;61(10):1481-7.
86. Capurro M, Wanless IR, Sherman M, Deboer G, Shi W, Miyoshi E, et al. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2003 Jul;125(1):89-97.
87. Yamauchi N, Watanabe A, Hishinuma M, Ohashi K, Midorikawa Y, Morishita Y, et al. The glypican 3 oncofetal protein is a promising diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Mod Pathol.* 2005 Dec;18(12):1591-8.
88. Li B, Liu H, Shang HW, Li P, Li N, Ding HG. Diagnostic value of glypican-3 in alpha fetoprotein negative hepatocellular carcinoma patients. *Afr Health Sci.* 2013 Sep;13(3):703-9.
89. Cadoret A, Ovejero C, Terris B, Souil E, Levy L, Lamers WH, et al. New targets of beta-catenin signaling in the liver are involved in the glutamine metabolism. *Oncogene.* 2002 Nov 28;21(54):8293-301.
90. Long J, Lang ZW, Wang HG, Wang TL, Wang BE, Liu SQ. Glutamine synthetase as an early marker for hepatocellular carcinoma based on proteomic

analysis of resected small hepatocellular carcinomas. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2010 Jun;9(3):296-305.

91. Apte U, Singh S, Zeng G, Cieply B, Virji MA, Wu T, et al. Beta-catenin activation promotes liver regeneration after acetaminophen-induced injury. *Am J Pathol.* 2009 Sep;175(3):1056-65.

92. Lagana SM, Moreira RK, Remotti HE, Bao F. Glutamine synthetase, heat shock protein-70, and glypican-3 in intrahepatic cholangiocarcinoma and tumors metastatic to liver. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2013 May;21(3):254-7.

93. Di Tommaso L, Destro A, Seok JY, Balladore E, Terracciano L, Sangiovanni A, et al. The application of markers (HSP70 GPC3 and GS) in liver biopsies is useful for detection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2009 Apr;50(4):746-54.

94. Lim SO, Park SG, Yoo JH, Park YM, Kim HJ, Jang KT, et al. Expression of heat shock proteins (HSP27, HSP60, HSP70, HSP90, GRP78, GRP94) in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinomas and dysplastic nodules. *World J Gastroenterol.* 2005 Apr 14;11(14):2072-9.

8.ÖZET

“SİROZ VAKALARININ LAENNEC SKORLAMA SİSTEMİNE GÖRE YENİDEN SINIFLANDIRILMASI, HİSTOLOJİK PROGRESYON BELİRTEÇLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE SİROZ ZEMİNİNDE GELİŞEN PREKANSERÖZ LEZYONLARIN VE HEPATOSELLÜLER KARSİNOMUN GLUTAMİN SENTETAZ VE HSP 70 BELİRTEÇLERİ İLE KÖKENİNİN VE GELİŞİM PATERNİNİN ORTAYA KONMASI”

Siroz etyolojisi ve kliniği çeşitlilik gösteren son dönem karaciğer hastalığıdır. Güncel histolojik evreleme sistemleri sirozu tek bir kategoride değerlendirmektedir. Son yıllarda karaciğer yetmezliği ve portal hipertansiyon kliniği gelişen hastalarda, bazı belirleyici histolojik bulgular olduğu ve sirozun etyolojiye yönelik tedavi ile gerileyebildiği vurgulanmış; ve sirozun histolojik alt klasifikasyonuna ihtiyaç duyulmuştur.

Bu çalışmada siroz tanısı almış 43 rezeksiyon materyalinde, Laennec fibrozis skorlarının klinik ve radyolojik parametrelerle ilişkisi araştırılmıştır. Ayrıca siroz zemininde gelişen prekanseröz lezyonlarda ve hepatosellüler karsinomda Glutamin sentetaz ve HSP 70 belirteçleri değerlendirilmiştir. Laennec fibrozis skorları ile hastaların asit, varis, kanama durumu ve evre arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Nodül içi nekroinflamatuvar aktivite derecesi ile asit, kollateral oluşumu, dalak boyutu ve evre arasında; portal/septal inflamasyon ve interfaz aktivite derecesi ile etyoloji arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Siroz hastalarından 17’sinde saptanan toplam 45 adet nodüler lezyonda GS ve HSP 70 sitoplazmik boyanması ile nodül tipleri arasında anlamlı fark saptanmış, ancak HSP 70 nükleer

boyanması ile fark saptanmamıştır. Nodül çapları ile hastaların AFP düzeyinin sirotik nodülden hepatosellüler karsinoma doğru ilerledikçe arttığı dikkati çekmiş olup, nodül çapı ile nodül tipleri arasında anlamlı fark saptanmıştır.

Sonuçta, rezeksiyon materyallerinde de iğne biyopsilerinde olduğu gibi Laennec Fibrozis skorlarının, klinik verilerde anlamlı farklılıklar gösteren alt grupları temsil ettiği görülmüştür. Sirozun alt klasifikasyonunun prognoz ve tedaviye cevabın belirlenmesinde yararlı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca 2 cm'in altındaki nodüler lezyonlara tanı verirken literatürde de yer aldığı gibi HSP 70, GS ve Glipican-3'ü içeren immünhistokimyasal panel uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Siroz, Laennec, Displazi, Hepatosellüler Karsinom, İmmünhistokimya

9.SUMMARY

“ RE-CLASSIFICATION OF CIRRHOSIS BY LAENNEC SCORING SYSTEM, INVESTIGATION OF HISTOLOGIC PROGRESSION MARKERS AND EVALUATION OF THE EXPRESSION PROFILES OF GLUTAMINE SYNTHETASE AND HSP 70 IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA AND PRECANCEROUS LESIONS BY IMMUNOHISTOCHEMISTRY ”

Cirrhosis is the end result of chronic liver disease which has etiologic and clinic diversity. Current histologic staging systems evaluate cirrhosis in a single category. Recently regression in fibrosis has been noticed and some highlighted histologic features has been realized in cirrhotic patients suffering from portal hipertension and liver failure. Therefore a new histologic classification of cirrhosis has been challanged.

In this study, 43 resection materials having cirrhosis had been enrolled. The Laennec fibrosis scores were applied and found to be correlated with clinical and radiological parameters. Furthermore, Glutamine synthetase and HSP 70 stainings were evaluated in the materials having precancerous lesions and hepatocellular carcinoma. Laennec fibrosis scores were significantly correlated with the presence of ascites and variceal bleeding. Statistically significant differences were detected in between the degree of intranodular necroinflammatory activity and decompansation parameters. There were also statistically significant differences in between the etiology and degree of portal inflammation and interface activity. A total of 45 nodular lesions were detected in 17 patients. The cytoplasmic staining of GS and HSP70 in these nodules with

showed significant differences according to the type of the nodules. However nuclear staining of HSP70 was not significant. The size of the nodule and AFP levels were found to be increased through progression of benign nodule to HCC.

As a conclusion, Laennec fibrosis scores were found to be correlated significantly with the clinical subgroups of cirrhosis. Subclassification of cirrhosis is thought to be useful in determining the prognosis and evaluating the response to treatment. Furthermore, GS and HSP 70 are found to be useful markers in the diagnosis of nodular lesions smaller than 2 cm.

Keywords: Cirrhosis, Laennec, Dysplasia, Hepatocellular carcinoma, Immunohistochemistry

10.ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: Ayşe Armutlu

Dogum Yeri ve Tarihi: Çorum, 22 Temmuz 1984

Eğitim Durumu:

İlkokul: İskilip Azmimilli İlköğretim Okulu 1990-1995

Ortaokul: İskilip Cumhuriyet Ortaokulu 1996-1998

Lise: Çorum Anadolu Öğretmen Lisesi 1998-2002

Üniversite: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2002-2009

Uzmanlık Eğitimi: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı,
Ankara 2009-...

Yabancı dili: İngilizce

Üyesi olduğu bilimsel kuruluşlar

Ankara Patoloji Derneği

Türk Patoloji Derneği