

Neonatal kolestazda histopatolojik ayırıcı tanı

Histopathologic differential diagnosis of neonatal cholestasis

Hülya TOSUN YILDIRIM¹, Gülden DİNİZ¹, Safiye AKTAŞ¹, Ragıp ORTAÇ¹, Malik ERGİN¹, Şeref TARGAN², Mustafa BAK²

¹Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Patoloji Laboratuvarı, İzmir

²Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Pediatri Bölümü, İzmir

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada kolestaz saptanan yenidoğanlardaki karaciğer biyopsi bulgularının değerlendirilmesi ve biliyer atrezi ile neonatal hepatit prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi'nde 1992 ile 2011 yılları arasında neonatal kolestaz nedeniyle karaciğer biyopsisi yapılan 153 bebek (0-4 ay) retrospektif olarak incelenmiştir. Bebeklerin biyopsi yapıldığı tarihte gün olarak yaşı, cinsiyeti ve radyolojik inceleme bulguları benzeri parametrelerin birbiriyle ilişkisi değerlendirilmiştir.

Bulgular: Olguların 93'ü erkek (%60,8), 60'ı kız (%39,2) olup, ortalama yaş 73,8±30,5 gün (10-120 gün) bulunmuştur. Yüz on yedi olguda (%76,5) ayırıcı tanı tek biyopside yapılmıştır. Histopatolojik olarak 82 bebek (%53,6) neonatal hepatit, 71 bebek (%46,4) biliyer atreziyle uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Kasai operasyonu biliyer atrezili 23 olguda (%32,4), karaciğer transplantasyonu 11 olguda (%15,4) uygulanmıştır. Olguların yaşı ile hastalık arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,010).

Tartışma: Bu çalışmada 0-4 aylık neonatal kolestazlı bebeklerin karaciğer biyopsi bulgularının kapsamlı profili çıkarılmıştır. Bu hastalıklarda ayırıcı tanı için ipuçları tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Neonatal kolestaz, ayırıcı tanı, karaciğer biyopsisi

ABSTRACT

Aim: We aimed to evaluate liver biopsy findings of neonatal patients with cholestasis and to determine the prevalence of biliary atresia and neonatal hepatitis.

Material and Methods: We retrospectively reviewed liver biopsy findings of 153 newborn (0-4 months) patients with neonatal cholestasis between 1992 and 2011 at İzmir Dr. Behçet Uz Children's Hospital. The relationship among some parameters such as age, sex and findings of radiological investigations was assessed.

Results: This series consisted of 93 (60.8%) boys and 60 (39.2%) girls with a mean age of 73.8±30.5 days (10-120 days). Differential diagnosis was made with only one biopsy in 117 cases (76.5%). Histopathologically 82 children (53.6%) were diagnosed as neonatal hepatitis and 71 children (46.4%) as biliary atresia. Kasai operation was performed in 23 children (32.4%) with biliary atresia and transplantation was performed in 11 children (15.4%). There was a statistical significant relationship between the age of children and diagnosis (p=0.010).

Discussion: In the present study, a comprehensive picture of the liver biopsy findings of newborn babies with neonatal cholestasis was revealed. The clues of differential diagnosis in these disorders were discussed.

Key words: Neonatal cholestasis, differential diagnosis, liver biopsy findings

Alındığı tarih: 31.07.2012

Kabul tarihi: 13.09.2012

Yazışma adresi: Doç. Dr. Gülden Diniz, PhD,
Kıbrıs Şehitleri Cad. 51/11, Alsancak-35220-İzmir
e-mail: agdiniz@windowslive.com

GİRİŞ

Kolestaz; safranın oluşumunda, sekresyonunda veya drenajındaki bozukluk sonucu ortaya çıkar ⁽¹⁾. Kolestazın en kolay saptanan bulgusu safra içeriğindeki bilirubinin birikimi sonucu ortaya çıkan sarılıktır. Bilirubin, hem halkası bulunduran hemoglobin, myoglobin, sitokrom, katalaz gibi proteinlerden kaynaklanır ⁽²⁾.

Neonatal sarılık; yenidoğan döneminde karşılaşılan, birçok hastalığa eşlik edebilecek ve ileri tetkikleri gerektiren bir durumdur. Öncelikle sarılığa yol açan patolojinin prehepatik olup olmadığının belirlenmesi şarttır. Bu amaçla serum total, direkt ve indirekt bilirubin düzeyi ölçülür. Neonatal kolestaz olarak tanımlanan tablo direkt (konjuge) bilirubin artışıyla karakterizedir. Hepatitis B, CMV enfeksiyonu ve kızamıkçık benzeri bazı enfeksiyonlar ve konjenital metabolizma bozuklukları da neonatal kolestaza yol açar. Metabolizma hastalıkları olarak da en sık α 1-antitripsin eksikliği, galaktozemi ve safra asiti sentez defektleri bu tabloya neden olabilir. Ancak, unutulmaması gereken mitokondrial DNA mutasyonları gibi ultrastrüktürel hastalıklar, hatta perinatal asfiksi benzeri durumların da benzer tabloya yol açabileceğidir ⁽³⁻¹⁰⁾.

Neonatal kolestazların değerlendirilmesinde benimsenen algoritmayı Kuzey Amerikan Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği (North American Society for Pediatric Gastroenteroloji, Hepatology and Nutrition/ NASPGHAN) 2004 yılında yayınlamıştır ve hâlâ dünyada yaygın olarak kabul görüp uygulanmaktadır ⁽¹¹⁾. Bu algoritmaya göre öncelikle konjuge hiperbilirubinemi tanımına açıklık getirilmiş ve total bilirubin düzeyi 5 mg/dl düzeyine dek olan yenidoğanlarda 1 mg/dl'in üzerindeki; total bilirubin düzeyi 5 mg/dl'nin üzerinde olanlarda ise bu değer %20'sini aşan konjuge bilirubin düzeyi konjuge hiperbilirubinemi olarak kabul edilmiştir. Eğer 2 haftalık bebekte konjuge bilirubin düzeyi kabul edilen sınırı geçiyorsa ileri değerlendirme basamaklarına geçilir. Anne sütüyle beslenen

yenidoğanlarda, fizyolojik anne sütü sarılığı gözlenebileceğinden, ileri tetkik aşaması 1 hafta daha ertelenebilir ⁽³⁻¹¹⁾.

Bu çalışmada 1992-2011 yılları arasındaki 20 yıllık sürede İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'nda incelenen, 0-4 aylık neonatal kolestazlı bebeklerin karaciğer biyopsi tanıları retrospektif olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar literatür bulgularıyla kıyaslanmıştır. Bu değerlendirme sırasında histopatolojik ve klinik özelliklerin uyumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Retrospektif tanımlayıcı tipte olan bu çalışmaya, İzmir Behçet Uz Çocuk Hastanesi patoloji biriminde 1992-2011 yılları arasında incelenen karaciğer biyopsileri arasında, yenidoğan ve çocuk servislerine yatırılan, 0-4 ay arası sarılıklı 153 bebekten alınan biyopsiler dâhil edilmiştir. Biyopsinin alındığı tarihte olguların gün olarak yaşı, cinsiyeti, kaç kez biyopsi gönderildiği, Kasai operasyonu uygulanıp uygulanmadığı benzeri bilgiler göz önünde bulundurularak veri toplama formu oluşturulmuş ve verilerin analizi SPSS 9.05 programında yapılmıştır. Tüm bulguların birbiriyle ilişkisinin değerlendirilmesinde Spearman Korelasyon Analizi ve Mann Whitney U testi uygulanmış; $p < 0.05$ sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

Karaciğer dokularından hazırlanan parafin bloklardan ortalama 3-5 mikron kalınlıkta kesitler alınıp, standart olarak Hematoksilin-Eosin (H&E), Periodik asit schiff (PAS), diastazlı PAS (dPAS), Gomori trikrom, Gomori retikülin, Pearl Prusya mavisini boyamaları uygulanmıştır. Işık mikroskopik incelemelerde total portal alan sayısı, fibrozis, ekstramedüller hematopoez ve kanaliküler kolestaz varlığı, dev hücre oluşumu, yangısal hücre profili benzeri değişiklikler açısından değerlendirme yapılmıştır.

BULGULAR

Biyopsi uygulanan 153 hastanın yaş dağılımı

10-120 gün arasında olup, yaş ortalaması $73,8 \pm 30,5$ gündü. Olguların 93'ü erkek (%60,8) 60'ı (%39,2) kızdı. En fazla biyopsi 2004 yılında (n=19), en az biyopsi 1995 yılında (n=3) incelenmişti. Olguların %76,5'unda (n=117) tek bir karaciğer biyopsisi tanı için yeterli bulundu. Radyolojik incelemeler sonucu ağırlıklı olarak biliyer atrezi düşünülüp, cerrahi girişim uygulanan 23 olguda, intraoperatif kama biyopsileriyle de tanı gerçekleştirildi. Yalnızca 13 olguda (%8,5) biyopsi yinelenmesi gerekti. Tek biyopside tanı konamayıp, arada kalınan ve biyopsi yinelenmesi istenen olguların 7'si neonatal hepatit, 6'sı ekstrahepatik safra yolları obstrüksiyonuyla uyumlu olarak değerlendirildi. Histopatolojik olarak 82 olgu (%53,6) neonatal hepatit lehine tanı aldı. Hem neonatal hepatit (n=51, %62,2'si) hem de biliyer atrezi tanısı (n=42, %59,2) alan bebeklerin çoğu erkekti. Biliyer atrezi tanısı alanların 23'üne (%32,4) Kasai operasyonu, 11'ine (%15,4) karaciğer transplantasyonu uygulandı. Transplantasyona giden olguların 4'üne daha önce Kasai operasyonu uygulanmıştı. Çalışmamıza hasta izlem sonuçları dâhil edilmediğinden, tanıdan sonra tedavilerini ve takiplerini başka merkezlerde sürdüren hastalar belirlenemedi. Olguların özellikleri Tablo 1'de özetlendi (Tablo 1). Tüm serideki kız ($74,8 \pm 27,9$ gün) ve erkek ($73,2 \pm 32,2$ gün) bebeklerin yaş ortalaması arasında belirgin fark yoktu. Buna karşılık neonatal hepatitli olguların ortalama yaşı $67,7 \pm 28,5$ gün bulunurken, biliyer atrezili olguların biyopsi tarihindeki ortalama yaşı $81 \pm 31,4$ idi. Mann Whitney U testinde tanı ile hasta yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki ($p=0,010$) saptandı.

Tablo 1. Olguların tanılarına göre dağılımları.

Tanı	Neonatal hepatit	Biliyer atrezi
Cins	51 erkek (%62,2) 31 kız (%37,8)	42 erkek (%59,2) 29 kız (%40,8)
Yaş (gün)	$67,78 \pm 28,5$	$81,04 \pm 31,4$
Biyopsi sayısı	Tek 75 (%91,5), birkaç 7 (%8,5)	Tek 42 (%59,2), birkaç 6 (%8,5) intraoperatif kama biyopsi 23 (%32,4)

TARTIŞMA

Ekstrahepatik safra yolları atrezisi (biliyer atrezi); safra kanallarının inflamatuvar fibrotik bir süreçle progresif destrüksiyonuyla karakterize bir tablo olup, yaklaşık 10 bin canlı doğumda bir görülen bu hastalığın etiolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Olguların yalnızca küçük bir bölümü safra kanalının morfogenezindeki defekt sonucu gelişir. Daha sık görülen perinatal formunun etiolojisinde başta reovirus ve rotavirus olmak üzere viral infeksiyonlar, immün sistem kaynaklı safra kanal hasarı ve otoimmünite suçlanmaktadır⁽¹²⁻¹⁶⁾. Perinatal formunun etiopatogenezi ne olursa olsun, bebek yenidoğan döneminde sarılık varlığı ve renksiz dışkılama dışında sorunsuzdur. Oysa neonatal hepatit olgularında altta yatan sepsis, üriner infeksiyon, asfiksi, metabolik ve mitokondrial hastalık benzeri etkene bağlı olarak emme, düşük doğum ağırlığı, prematüre doğum gibi sağlık kuruluşlarına erken başvurmayı gerektirecek bulgular daha sıktır. Bu nedenle biliyer atrezide ailelerin sosyoekonomik gelişmişlik düzeyine bağlı olarak tanıda gecikme durumu daha olası görünmektedir. Çalışmamızda da olguların histopatolojik tanılarındaki yaşlarında, benzer bir süre farkı dikkati çekmektedir. Neonatal hepatitli olguların biyopsi yapıldığı tarihteki ortalama yaşı $67,7 \pm 28,5$ gün bulunurken, biliyer atrezili olguların biyopsi tarihindeki ortalama yaşı $81 \pm 31,4$ idi. Mann Whitney U testinde tanı ile hasta yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki ($p=0,010$) saptandı.

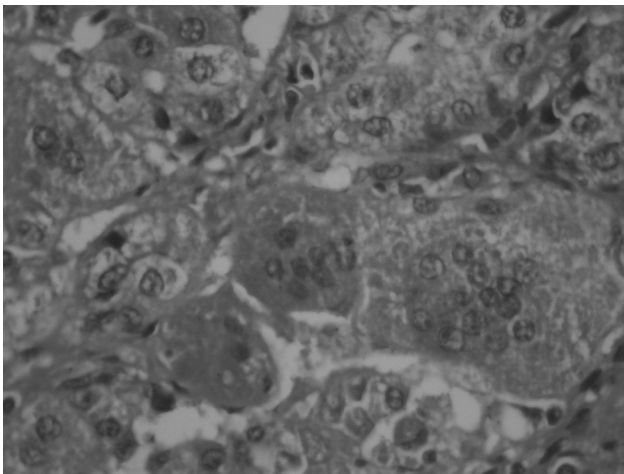
Neonatal kolestaz varlığında temel ayırıcı tanı; 2 aydan önce Kasai porto-enterostomisi yapılabilirse kendi karaciğeriyle daha uzun yaşam şansı olan biliyer atrezi ile birçok etkene bağlı gelişebilen ve acil cerrahi girişim gerektirmeyen neonatal hepatit arasındadır. Değişik çalışmalarda ilk 2 ayda Kasai operasyonu yapılanlarda sağkalım %90, 2-3 ay arası yapılanlarda %50, 3 aydan büyük opere edilenlerde %15 civarında bildirilmektedir⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Serimizdeki Kasai operasyonu uygulanan biliyer atrezi olgularının yalnızca 9'unda (%39,1) operasyon 2 ayıktan

daha küçük, 10'u (%43,4) 3 aylıktan büyüktü. Kasai portoenterostomisi yapılan 23 olgunun 4'üne izleyen 0-5 yıl içinde transplantasyonu gerçekleştirildi. Transplantasyon yapılanlardan yalnızca 1'i tanı anında 2 aylık olup, 6 yılı aşkın süredir sağ ve izlemedir. Diğer 3 olgu da tanı anında 3 aydan büyük olup, 2'si transplantasyon sonrası 2 yıl içinde kaybedilmiştir.

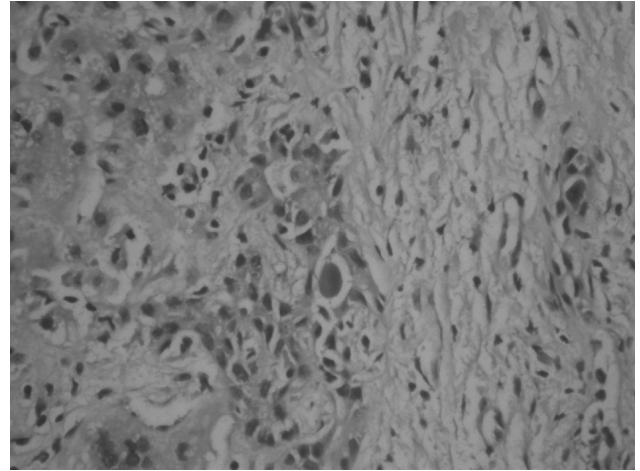
Neonatal kolestaz ayırıcı tanısında en başta yapılacak non-invazif inceleme abdominal ultrason incelemesi olup, serimizde tüm olgulara uygulanmıştır. Bu inceleme Caroli Hastalığı, safra taşı veya çamuru, koledok kisti benzeri durumların da hızla tanınması için idealdir ⁽¹⁻³⁾. Serimizdeki olguların 3'ünde (%2,1) koledok kisti saptanıp, cerrahi girişim uygulanmıştır.

Patolojik inceleme için yeterli doku örneğinin gönderilmesi önemlidir. Alınan biyopside genellikle 8-10 portal alan bulunması istenir. Beşin altında portal alan bulunması durumunda biyopsi yetersiz kabul edilir ^(1,2). Çalışmamızda yalnızca 1 biyopsi (%0,7) yetersiz olarak raporlanmış ve biyopsi yinelenmesi istenmiştir. Ancak, klinik ve laboratuvar bulgular açısından neonatal hepatit lehine değerlendirilen 35 günlük erkek olgudan yeniden biyopsi alınmamıştır.

Neonatal kolestaza yol açan etken ne olursa olsun, mikroskobik bulgular benzerdir. Bu nedenle, histopatolojik bulguların varlığını ve şiddetini skorlamak ayırıcı tanıya yardımcıdır ^(1,2,17,18). Çalışmamızda incelenen biyopsilerin hepsinde hepatositlerde değişik



Resim 1. Neonatal hepatit olgusunda belirgin dev hücre oluşumu (HEEx 400).



Resim 2. Biliyer atrezide proliferatif duktuslar ve portal alanındaki safra duktusu içinde safra tıkaçları (HEEx100).

derecelerde ödem, multinükleasyon, kolestaz ve portal inflamasyon saptandı. Lobüler inflamasyon değişik şiddette olup, ayırıcı tanı açısından katkı sağlamadı. Neonatal hepatit lehine yorumlanan olgularda multinükleer dev hepatositler (Resim 1) ve retiküler çatı değişiklikleri daha belirgindi. Atrezilerde ise kolestaz daha şiddetli olup, duktuler reaksiyon daha baskın bir bulguydu. Tüm olgularda karaciğer parankiminde, hepatositlerin sitoplazmalarında ve sinüzoidlerde safra birikimi izlendi. Portal alanlarda ödem, safra yolu epiteli üzerinde polimorf lökositler ve duktuler proliferasyon gibi bulguların varlığı ve portal alanda safra duktusları içerisinde safra tıkaçı görülmesi (Resim 2) ise biliyer atrezi lehine yorumlandı. Fibröz portal genişleme ve safra duktus proliferasyonu, ekstrahepatik safra yolları atrezisinde beklenen bulgular olduğundan uygulanan Gomori trikrom bağ dokusu boyası ile bu özellikler irdelendi. Arada kalınan olgularda sitokeratin 7 ile immün histokimyasal inceleme duktuler proliferasyonu belirgin olarak izlememizi sağladı ⁽¹⁹⁾. Ancak, yine de 13 olguda (%8,5) tek biyopsi ile kesin tanı konulamadı ve biyopsi tekrarı gerekti. Tek biyopside tanı konamayan olguların dağılımı dengeli olup, yinelenen biyopsilerde neonatal hepatit ve biliyer atreziyle uyumlu olarak değerlendirilen olgular aşağı yukarı eşit sayıdaydı.

Farklı araştırmacılar tarafından da belirtildiği gibi, neonatal kolestazlı olguların histopatolojik ince-

lemesinde gri zonu oluşturan ara olgular vardır ve ayırıcı tanı ancak yinelenen biyopsilerle mümkün olabilmektedir. Aslında biyopsi tekrarının nedeni, biyopsilerdeki histopatolojik değişikliklerin şiddetinde farklılık olup olmadığını gözlemektir. Çünkü neonatal hepatitlerde bulguların şiddetinde gerileme olmasa bile progresyon beklenmez. Oysa biliyer atrezide tipik olarak progresyon gözlenir.

Sonuç olarak, biliyer atrezinin en önemli özelliklerinden birisi siroza doğru kesinlikle ilerleme olduğundan, ayırıcı tanıda zorluk yaşanan olgularda biyopsinin yinelenmesi tanıda en yararlı yol olarak görülmektedir⁽¹⁵⁻¹⁹⁾. Çalışmamızdaki en büyük eksiklik olguların retrospektif kesitsel ele alınması olup, neonatal kolestaza yol açan patolojilerde histopatolojik ayırıcı tanı ipuçlarına ancak olguların izleminin de yapıldığı daha geniş serilerde ulaşılabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Crawford JM. Liver and biliary tract. In: Robbins and Cotran Pathologic basis of disease. China, Elsevier-Saunders, 2005: 877-937.
2. Stocker T, Husain AN, Dehner LP, Chandra RS. The Liver, Gallbladder and Biliary Tract In: Pediatric Pathology, Philadelphia, Lippincott, William and Wilkins, 2001, p917-1033.
3. Diniz AG. Yaşam Fabrikası. In: Cansel'in Otobiyografisi. Ankara, Başak Matbaası, 2009: 200-249.
4. Sokol RJ, Mack C. Etiopathogenesis of biliary atresia. *Semin Liver Dis* 2001;21(4):517-24. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2001-19032> PMID:11745039
5. Kul M, Tunç T. Neonatal Kolestaz. *Turkiye Klinikleri J Pediatr* 2009;18(2):105-16.
6. Öztürk Y, Çabuk N, Büyükgebiz B. Neonatal Kolestazda Yaklaşım. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2000;20(3):178-186.
7. Lee WS, Chai PF. Clinical features differentiating biliary atresia from other causes of neonatal cholestasis. *Ann Acad Med Singapore* 2010;39(8):648-54. PMID:20838708
8. Vajro P, Amelio A, Stagni A, Paludetto R, Genovese E, Giuffrè M, DeCurtis M. Cholestasis in newborn infants with perinatal asphyxia. *Acta Paediatr* 1997;86(8):895-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.1997.tb08619.x>
9. Fellman V, Kotarsky H. Mitochondrial hepatopathies in the newborn period. *Semin Fetal Neonatal Med* 2011;16(4):222-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2011.05.002> PMID:21680270
10. Gartner LM, Herschel M. Jaundice and breastfeeding. *Pediatr Clin North Am* 2001;48(2):389-99. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-3955\(08\)70032-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-3955(08)70032-4)
11. Moyer V, Freese DK, Whittington PF, Olson AD, Brewer F, Colletti RB, Heyman MB. Guideline for the evaluation of cholestatic jaundice in infants: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;39(2):115-28. <http://dx.doi.org/10.1097/00005176-200408000-00001> PMID:15269615
12. Yamaguti DC, Patrício FR. Morphometrical and immunohistochemical study of intrahepatic bile ducts in biliary atresia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011;23(9):759-65. <http://dx.doi.org/10.1097/MEG.0b013e32832e9df0>
13. Balamourougane P, Dattagupta S, Bhatnagar V. Evaluation of ultrastructural changes by electron microscopy in neonatal cholestasis. *Trop Gastroenterol* 2009;30(3):167-70. PMID:20306754
14. Changho S, Ahmed AA. Neutrophils in biliary atresia. A study on their morphologic distribution and expression of CAP37. *Pathol Res Pract* 2010;206(5):314-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2010.02.001> PMID:20399025
15. Sharma S, Das P, Dattagupta S, Kumar L, Gupta DK. Liver and portal histopathological correlation with age and survival in extra hepatic biliary atresia. *Pediatr Surg Int* 2011;27(5):451-61. <http://dx.doi.org/10.1007/s00383-010-2845-5> PMID:21253752
16. Chardot C. Biliary atresia. *Orphanet J Rare Dis* 2006;1:28. Doi: 10.1186/1750-1172-1-28. <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1172-1-28> PMID:16872500 PMCid:1560371
17. Lee WS, Looi LM. Usefulness of a scoring system in the interpretation of histology in neonatal cholestasis. *World J Gastroenterol* 2009;15(429):5326-5333.
18. Aktas S, Diniz G, Ortac R. Quantitative analysis of ductus proliferation, proliferative activity, Kupffer cell proliferation and angiogenesis in differential diagnosis of biliary atresia and neonatal hepatitis. *Hepatogastroenterology* 2003;50(54):1811-3. PMID:14696411
19. Azar G, Beneck D, Lane B, Markowitz J, Daum F, Kahn E. Atypical morphologic presentation of biliary atresia and value of serial liver biopsies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;34(2):212-5. <http://dx.doi.org/10.1097/00005176-200202000-00020> PMID:11840042