

Kolesistektomilerde örnek sayısının artırılması ile histopatolojik bulguların korelasyonu

The correlation of the histopathological findings by increasing the sample size in cholecystectomies

Filiz BOLAT¹, Fazilet KAYASELÇUK¹, Tarık Zafer NURSAL², Nebil BAL¹, İlhan TUNCER³

Başkent Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı¹, Başkent Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı², Başkent Üniversitesi Hastanesi, Patoloji Bölümü³, ANKARA

ÖZET

Kronik kolesistit ve kolelitiazis, en sık görülen safra kesesi hastalıklarıdır. Bu lezyonlar, safra kesesinde hiperplastik ve displastik epitelyal lezyonlara eşlik ederler. Rutin patoloji laboratuvarlarında kolesistektomi materyallerinden genellikle üç örnek alınmaktadır. Biz örnek sayısının artırılması ile hiperplazi, metaplazi, displazi sıklığında artış olup olmadığını ve intestinal metaplazi ile displazi arasındaki ilişkiyi araştırdık.

Bu çalışmada 75 kolesistektomi materyali haritalanarak incelendi ve malignite öncüsü epitelyal değişiklikler değerlendirildi. Kronik kolesistit ve kolelitiazis nedeniyle kolesistektomi yapılan olgular 25'erli üç gruba ayrıldı. İlk grupta safra kesesi boyun-gövde ve fundustan birer örnek, ikinci grupta aynı yerlerden ikişer örnek alındı. Son grupta ise safra kesesi haritalanarak materyalin tamamı takibe alındı. Biyopsi spesmenlerine Hemotoksilen- Eosin (HE), müsin profilini belirlemek için histokimyasal olarak nötral müsin, PAS/Alcian Blue (pH 2.5) ve High Iron Diamine (HID) (pH 2.5) boyaları uygulandı. Tüm örneklerde psödotipik gland metaplazisi, intestinal metaplazi, displazi, hiperplazi ve inflamasyon varlığı ve tipi değerlendirildi.

Safra kesesinde örnekleme sayısında artım ile metaplazi ($p<0.001$), displazi ($p<0.001$), epitelyal hiperplazi ($p=0.003$), inflamasyon ($p=0.003$) görülme oranlarında artım izlendi. İnflamasyon arttıkça metaplazi ($p<0.001$), epitelyal hiperplazi ($p=0.002$) görülme oranında artım saptandı. Metaplazi ile displazi arasında istatistiksel olarak anlam saptanmadı.

Bu bulgular ışığında, günlük patoloji rutininde en sık karşılaşılan spesimenlerden biri olan kolesistektomi materyallerinde örnekleme sayısının artırılması metaplazi, displazi ve erken karsinom saptama oranlarında ciddi artış sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: Örnek sayısının artırılması, safra kesesi, prekanseröz lezyonlar

Yazışma Adresi: Dr. Filiz Bolat, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

SUMMARY

The chronic cholecystitis and cholelithiasis are the most common pathologies seen in gallbladder disease, accompanying hyperplastic and dysplastic lesions. Generally three samples are taken from the cholecystectomized materials in routine pathology laboratories. We investigate whether there would be an increase in the frequency of hyperplasia, metaplasia and dysplasia diagnosis by increasing the sample size. We also looked into the relation between intestinal metaplasia and dysplasia. In this study 75 cholecystectomized materials were examined and checked for the premalignant epithelial changes.

Seventy five cholecystectomized patients with history of chronic cholecystitis and cholelithiasis were put into three groups of equal size-25 each. A single sample when taken from each neck-corporis and fundus of the gallbladder in the first group, two samples were taken from each site in the second group. In the last group the gallbladder was mapped and examined as a whole. Hematoxylin-eosin (HE), neutral mucin (to signify mucin profile histochemically), PAS-Alcian blue (pH 2.5) and High-Iron-Diamine (HID) (pH 2.5) were used in all biopsy samples. In all samples we looked into the existence and type of pseudopyloric gland metaplasia, intestinal metaplasia, dysplasia, hyperplasia and inflammation.

By increasing the sample size in gallbladder we saw an increase in the rate of metaplasia ($p<0.001$), dysplasia ($p<0.001$), epithelial hyperplasia ($p=0.003$), and inflammation ($p=0.003$) statistically. As the inflammation increases the incidence of metaplasia ($p<0.001$) and epithelial hyperplasia ($p=0.002$) were also increasing. There was no significance association between metaplasia and dysplasia.

Given these findings, increasing the sample size in cholecystectomy materials- being the most common specimens in daily pathology routines will increase the diagnosis rates of metaplasia, dysplasia and early carcinoma significantly.

Key words: Increase sample size, gallbladder, precancerous lesions

GİRİŞ

Kronik kolesistit çoğunlukla (95%) safra kesesi taşları ile birlikte. Sıklıkla kadınlarda ve beşinci, altıncı dekatta görülür. Normalde safra kesesi uniform, tek tabakalı yüksek kolumnar epitel ile döşeli olup, sülfomüsin içerir, müköz gland ve goblet hücreleri içermez. Safra kesesinde metaplastik değişiklikler, gastrik (pilorik ve yüzey epiteli) ve intestinal metaplazi olmak üzere başlıca iki tiptedir. Skuamöz metaplazi ise oldukça nadirdir (1,2). Pilorik gland (psödopilorik, antral ya da müköz gland) metaplazisi en sık görülen metaplazi tipi olup, kolesistektomi materyallerinde %66-84 oranında bulunur. Metaplastik pilorik glandlar genellikle lamina propria'da sınırlı olup bazen kas tabakasına ilerlerler. Pilorik gland metaplazileri nötral müsin, psödopilorik gland metaplazileri ise değişken oranda nötral müsin ve daha az oranda sialo ve sülfomüsin içerirler. İntestinal metaplazide ise normal yüzey epitelinin yerine intestinal özellikteki, goblet hücresi, absorptif kolumnar hücre, paneth hücresi ve birçok tipte endokrin hücre geçer. İntestinal metaplazideki goblet hücreleri tipik olarak sialomüsin içerirler (1,2).

Papiller hiperplazi %5-22 oranında kolelitiazise eşlik eder. Papiller epitelyal hiperplazi, nadiren primer tipte olup, daha sık olarak kolesistit, kolelitiazis, adenomatöz hiperplazi, ülseratif kolit, primer sklerozan kolanjit gibi inflamatuvar hastalıklara sekonder olarak görülür. Mikroskopik olarak, kalabalıklaşmış mukozal foldlar ve iyi gelişmiş papiller yapılar mevcuttur (1,2).

Displazi, epitelde değişik derecelerde psödostratifikasyon, nükleer atipi, polarite kaybı ve mitotik figürler ile karakterizedir. Histolojik olarak, displazi hücresel ve yapısal atipisine göre hafif ve/veya şiddetli olmak üzere iki, ya da hafif-orta-şiddetli olmak üzere üç grade'de sınıflandırılır. Safra kesesinde tek başına ya da adenoma veya karsinoma ile birlikte bulunabilir (1,3-5).

Kolesterolozis, kolesterol esterleri ve trig-

liseridlerin subepitelyal birikimi ile karakterizedir. Kolesistektomi materyallerinde %20 oranında bulunur. Kolesterolozis hemen her zaman villöz mukozal hiperplazi ile birlikte ve makrofolajlar bu uzamış villus yapılarında bulunurlar (1).

Kolesistitlerde makroskopik özellikler obstrüksiyon derecesi, inflamasyon ve fibrozise bağlı olarak değişmektedir. Duvar kalınlığı değişken olup, genellikle inflamasyon şiddetine bağlı olarak artmaktadır (1,2). Kronik kolesistit ve kolelitiazis nedeniyle çıkartılan safra kesesi materyallerinin mikroskopik incelenmesinde, metaplazi, hiperplazi, adenoma, atipik hiperplazi ve karsinoma in situ gibi malignite öncüsü çeşitli mukoza değişiklikleri görülmektedir (1,3-7).

Günlük rutinde en çok karşılaşılan safra kesesi materyallerinden makroskopik özellik yoksa çoğu laboratuvarında boyun-gövde-fundus-tan birer adet olmak üzere üç örnek alınmaktadır. Bu çalışmada örnek sayısının artmasıyla prekanseröz epitelyal lezyonların görülme sıklığında artış olup olmadığı amaçlanmıştır.

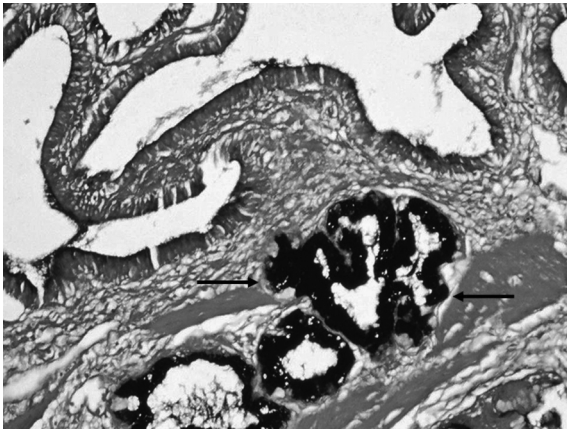
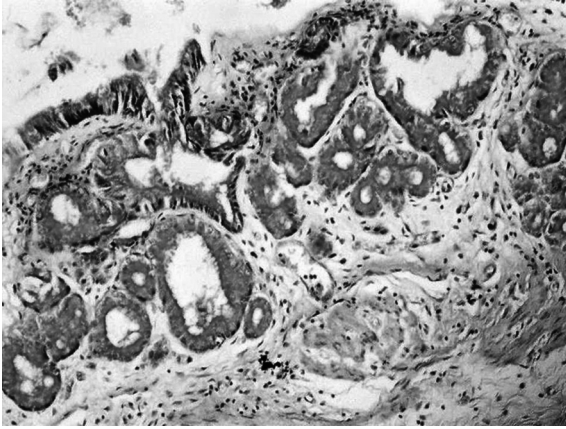
GEREÇ ve YÖNTEM

Kronik kolesistit ve kolelitiazis nedeniyle kolesistektomi yapılan 75 olgu randomize olarak 25'erli üç gruba ayrıldı. İlk grupta safra kesesi boyun-gövde ve fundusundan birer örnek, ikinci grupta aynı yerlerden ikişer örnek alındı. Son grupta ise safra kesesi haritalanarak materyalin tamamı takibe alındı. Tüm olgulara ait parafin bloklarından 4 µm kalınlığında kesitler yapıldı ve HE boyalı preparatlar hazırlandı. Tüm örnekler, safra kesesi epitelinde hiperplazi, displazi, kolesterolozis, inflamasyon varlığı açısından değerlendirildi. İnflamasyon içeren örneklerde inflamasyon hücrelerinin tipi ve yoğunluğu (yok, hafif ve şiddetli), displazi derecesi (yok, var), kolesterolozis (yok, var) not edildi. Aynı parafin bloklardan hazırlanan 4 µm kalınlığındaki kesitlere histokimyasal yöntem ile müsin profilini belirlemek için, nötral müsin,

PAS/Alcian Blue (pH: 2.5) ve High Iron Diamine (HID) (pH: 2.5) boya ları uygulandı. Tüm örneklerde psödopilorik gland metaplazisi, intestinal metaplazi varlığı araştırıldı ve derecelendirildi (yok veya var). Kaydedilen tüm sonuçlar SPSS programı ile Chi-Square testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

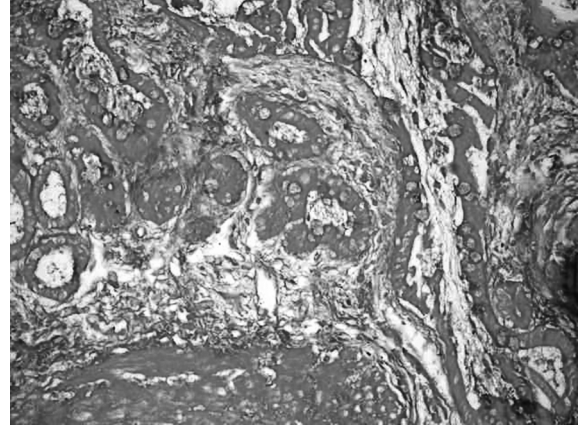
BULGULAR

Çalışma grubunda yer alan toplam 75 olgunun 51'i (%68) kadın, 24'ü (%32) erkek hasta idi. Kadınların yaş ortalaması 49.3, erkeklerin yaş ortalaması 54.7 idi. Kolesistektomi materyallerinin 49'unda (%65.3) taş izlendi, 26 olguda (%34.7) taş yoktu. Safra keselerinin 14'ünde (%18.7) duvar kalınlığı 0.5 cm ve üstünde, 61 olguda (%81.3) duvar kalınlığı 0.5 cm' nin altındaydı.



Resim 1. Safra kesesinde tunica propria'da psödopilorik gland metaplazisi, a) Müsin ve b) HID (x200).

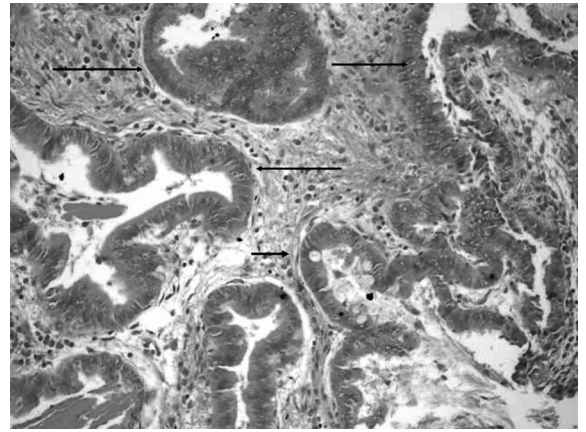
Elli bir olguda (%68) safra kesesi epitelinde metaplazi saptandı. Bunlardan 28 olguda (%37.3) psödopilorik gland metaplazisi, 11 olguda (%14.6) intestinal metaplazi, 12 olguda ise (%16) psödopilorik glandüler ve intestinal metaplazi birlikte görüldü (Resim 1A-1B, Resim 2). Gruplar arasında metaplazi değerlendirildi.



Resim 2. Safra kesesi epitelinde intestinal metaplazi (PAS/Alcian Blue x200).

Tablo 1. Kolesistektomi materyallerinde örnek alma sıklığı ile displazi ve metaplazi ilişkisi.

	Metaplazi		Displazi		Toplam
	Yok	Var	Yok	Var	
Grup 1	16	9	22	3	25
Grup 2	5	20	23	2	25
Grup 3	3	22	11	14	25
Toplam	24	51	36	19	75



Resim 3. Safra kesesi epitelinde displazi (uzun oklar) ve intestinal metaplazi (kısa ok) (HE x200).

ğinde, ilk grupta dokuz olguda (%17.6), ikinci grupta 20 olguda (%39.2), üçüncü grupta 22 olguda (%43.1) metaplazi saptandı. Her üç grupta da gruplar arasında metaplazi görülme oranında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.001$) (Tablo 1).

Safra kesesinde epitelyal hiperplazi, ilk grupta altı olgu (%8), ikinci grupta altı olgu (%8), üçüncü grupta 16 olgu (%21.3) olmak üzere toplam 28 olguda (%37.3) görüldü. Bir ve ikinci grup ile üçüncü grup arasında epitelyal hiperplazi görülme oranı istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.003$).

Biz 19 olguda (%25.3) epitelde displazi saptadık (Resim 3). İlk grupta üç olgu (%4), ikinci grupta iki olgu (%2.7), üçüncü grupta 14 olgu (%18.7) displazi içermekteydi. Bir ve ikinci grupta displazi arasında fark yok iken, safra kesesinin tamamının örneklediği üçüncü grupta displazi oranı diğer iki gruptan yüksek bulundu ($p<0.001$) (Tablo 1).

İnflamasyon açısından bakıldığında, ilk grupta 16 (%21.3), ikinci grupta 11 (%14.7), üçüncü grupta üç olguda (%4) hafif şiddette inflamasyon görüldü. Şiddetli inflamasyon 23 olguda (%30.7) izlendi. İlk grupta dört olgu (%5.3), ikinci grupta dokuz olgu (%12), üçüncü grupta ise 10 olguda (%13.3). İlk grupta hafif şiddette inflamasyon daha fazla iken, üçüncü grupta şiddetli inflamasyon daha fazla görülmekteydi ve birinci grupla, ikinci ve üçüncü grup arasında şiddetli inflamasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.003$).

Kolesterolozis 14 olguda (%18.7) görüldü. İlk grupta yedi olgu (%9.3), ikinci grupta iki olgu (%2.7), üçüncü grupta beş olguda (%6.7) saptandı ve anlamlı istatistiksel fark bulunmadı. Değişkenler birbirleriyle karşılaştırıldığında inflamasyon arttıkça, metaplazi ($p<0.001$) ve epitelyal hiperplazi ($p=0.002$) görülme oranında ve duvar kalınlığında ($p<0.001$) artım saptandı. Metaplazi ile displazi, metaplazi ile epitelyal hiperplazi görülme oranında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı.

TARTIŞMA

Safra kesesinin karsinomları oldukça nadir görülen tümörlerdir ve tüm kanserlerin %0.3-0.7'sini oluştururlar. Genellikle altıncı dekattan sonra görülür (1,5). Genetik ve çevresel risk faktörleri karsinom gelişiminde önemlidir; ancak patogenezi tam belli değildir. Genetik olarak da iki ana morfolojik yol safra kesesi karsinomu gelişiminde önemli olup, sıklıkla displazi-karsinom sekansı ve daha az oranda adenom-karsinom sekansını içerir (6,7). Displazide görülen moleküler değişiklikler, karsinomlarda görülenlerle benzerdir, oysa safra kesesi adenomlarında bu tür moleküler değişiklikler mevcut değildir (6). Displazi-karsinom sekansında ve erken evre safra kesesi karsinogenezinde, p53 gen inaktivasyonu, K-ras onkogen aktivasyonu, siklin D1 aşırı salınımı karakteristiktir (8-11). Buna karşın, tümör progresyonu ve metastazı gibi ileri evre safra kesesi karsinogenezinde ise p27Kip1 salınımının azaldığı gösterilmiştir (12).

Tanısı genellikle ileri evrelerde konulan bu tümörlerde tanı zamanında sıklıkla tümör kas tabakasını geçmiştir. Erken evrede safra kesesinde küçük ya da flat epitelyal lezyonların tanınması ve biyopsi için örneklenmesi zordur. Bu nedenle cerrahi olarak çıkarılan safra kesesi materyallerinin histopatolojik olarak incelenmesi önemlidir (3).

Safra keselerinde en sık psödopilorik gland metaplazisi, ikinci sıklıkta ise intestinal metaplazi görülmektedir. Mukhopadhyay ve ark.'ları, retrospektif olarak inceledikleri 400 safra kesesi olgusunda %59.5 antral tip metaplazi ve %9.8 oranında ise intestinal tip metaplazi saptamışlardır (6). Duarte ve ark.'ları, kendi serilerinde %95.1 antral tip metaplazi, %58.1 intestinal metaplazi bulmuşlardır, bu çalışmada antral ve intestinal metaplaziye 50 yaşın üstündeki olgularda daha sık rastlanmıştır (7). Biz kendi olgularımızda metaplazi ve yaş ile anlamlı bir ilişki saptamadık. Tsutsumi ve ark.'ları, metaplazi açısından inceledikleri 25 olguda psö-

dopilorik gland metaplazisinin daha yaygın olduğunu ve özellikle atrofik epitelde belirgin olduğunu belirtmişlerdir (13). Biz de psödopilorik gland metaplazisini intestinal metaplaziye göre daha sık bulduk. Metaplazi ile epitelyal hiperplazi arasında bir ilişki saptamadık. Psödopilorik gland metaplazisi ve intestinal metaplazinin safra kesesinde uzun süren inflamasyona bağlı olarak geliştiği bilinmektedir (1-3). Biz de şiddetli inflamasyon olan olgularda metaplaziye daha sık rastladık.

Safra kesesinde papiller epitelyal hiperplazi daha seyrek görülür ve genellikle pilorik gland ve intestinal metaplaziye eşlik eder (1-3). Tanno ve ark.'ları, pankreatiko-duktal birleşme yeri hastalıklarında, epitelyal hiperplazi ile artmış hücrel proliferatif aktivitenin mukozada mutasyonlara neden olmak suretiyle kanser riskinin artırdığını belirtmişlerdir (11). Duarte ve ark.'ları, çalışmalarında %46.9 olguda epitelde hiperplazi saptamışlardır (7). Çalışmamızda %37.3 olguda epitelyal hiperplazi görüldü.

Epitelyal displazi ya da karsinoma in situ, karsinom gelişiminde en önemli lezyonlardır (8,14). Bu nedenle kolesistektomi materyallerinde displazinin tanımlanması önemlidir. Çeşitli serilerde kolesistektomi materyallerinde displazi görülme oranı %1 ile %34 arasında değişmektedir (1-7,15). Çalışmamızda %25.3 olguda displazi izlenmekteydi. Özellikle tüm kesenin örneklendiği grupta %18.7 oranında displazi saptandı ve bunun diğer iki gruptan daha yüksek olduğu bulundu.

Karsinom ve displaziye sıklıkla metaplastik lezyonlar (intestinal ve pilorik gland) eşlik eder (1-5). Hansel ve ark.'ları, çalışmalarında safra kesesinde metaplastik epitelde (%63), displastik epitelde (%90) ve safra kesesi karsinomlarında (%98) kısalmış telomeraz aktivitesi saptamışlardır (16). Maesawa ve ark.'ları, yaptıkları çalışmada safra kesesinde aberan maspin salınımını intestinal metaplazi ve karsinom alanlarında bulmuşlar ve intestinal metaplazinin karsinom gelişiminde önemli olduğunu belirtmişlerdir (17). Mukhopadhyay ve ark.'ları, ise

antral tip metaplazi ile intestinal metaplazi arasında ve intestinal metaplazi ile displazi arasında anlamlı ilişki saptamışlardır (6).

Ancak biz displazi sıklığı ile metaplazi görülme arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulmadık, olgu sayısının artırılması veya geniş serilerle çalışılması bu ilişkinin gösterilmesini sağlayabilir.

Değişik çalışmalarda kronik kolesistitlerdeki epitelyal değişikliklerin materyalin örnekleme ve incelenen histolojik kesit sayısı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (7,18). Safra kesesinin tümü haritalanarak alınan olgularda, örnek sayısı az veya örnekleme hatası olanlara göre epitelyal lezyonların dağılımı ve sıklığı artmaktadır (18). Duarte ve ark.'larının da belirttiği gibi rutin tek histolojik örnekleme ile displazinin saptanması ya çok az ya da yetersizdir. Örnek sayısının artırılması ile displazi görülme oranı daha çok artacaktır (7).

Bizim çalışmamızda da örnekleme sayısının artırılması ile kansere öncü veya eşlik eden lezyonların saptanma oranında artış görüldü. Günlük rutinde tüm safra kesesinin örnekleme olasılığı olmasa da en az 6-7 örnek alınması ve displazi saptanırsa tüm kesenin örnekleme oranının daha pratik ve yararlı olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Saul SC. Gallbladder and Extrahepaticbiliary Tree. In Stenberg SS (eds) Diagnostic Surgical Pathology. 3rd ed. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 1999, 1629-1670.
2. Albores-Saavedra J, Vardaman CJ, Vuitch F. Non-neoplastic polypoid lesions and adenomas of the gallbladder. Pathol Annu 1993;28:145-177.
3. Sasatomi E, Tokunaga O, Miyazaki K. Precancerous conditions of gallbladder carcinoma: overview of histopathologic characteristics and molecular genetic findings. J Hepatobiliary Pancreat Surg 2000;7:556-567.
4. Roa I, de Aretxabala X, Araya JC, Roa J. Preneoplastic lesions in gallbladder cancer. J Surg Oncol 2006;93:615-623.
5. Albores-Saavedra J, Alcántra-Vazquez A, Cruz-Ortiz H, Herrera-Goepfert R. The precursor lesions of invasive gallbladder carcinoma. Hyperplasia, atypical hyperplasia and carcinoma in situ. Cancer 1980; 45:919-927.
6. Mukhopadhyay S, Landas SK. Putative precursors of gallbladder dysplasia: a review of 400 routinely resected

- ted specimens. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:386-390.
7. Duarte I, Llanos O, Domke H, Harz C, Valdivieso V. Metaplasia and precursor lesions of gallbladder carcinoma. Frequency, distribution, and probability of detection in routine histologic samples. *Cancer* 1973; 72:1878-1884.
 8. Wistuba II, Gazdar AF, Roa I, Albores-Saavedra J. p53 protein overexpression in gallbladder carcinoma and its precursor lesions: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1996;27:360-365.
 9. Sasatomi E, Tokunaga O, Miyazaki K. Precancerous conditions of gallbladder carcinoma: overview of histopathologic characteristics and molecular genetic findings. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2000;7:556-567.
 10. Hui AM, Li X, Shi YZ, Takayama T, Torzilli G, Ma-kuuchi M. Cyclin D1 overexpression is a critical event in gallbladder carcinogenesis and independently predicts decreased survival for patients with gallbladder carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000;6:4272-4277.
 11. Tanno S, Obara T, Fujii T, Mizukami Y, Shudo R, Nishino N, et al. Proliferative potential and K-ras mutation in epithelial hyperplasia of the gallbladder in patients with anomalous pancreaticobiliary ductal union. *Cancer* 1998;83:267-275.
 12. Hui AM, Li X, Shi YZ, Torzilli G, Takayama T, Ma-kuuchi M. p27(Kip1) expression in normal epithelia, precancerous lesions, and carcinomas of the gallbladder: association with cancer progression and prognosis. *Hepatology* 2000;31:1068-1072.
 13. Tsutsumi Y, Nagura H, Osamura Y, Watanabe K, Yanaihara N. Histochemical studies of metaplastic lesions in the human gallbladder. *Arch Pathol Lab Med* 1984;108:917-921.
 14. Kanoh K, Shimura T, Tsutsumi S, Suzuki H, Kashiwabara K, Nakajima T, et al. Significance of contracted cholecystitis lesions as high risk for gallbladder carcinogenesis. *Cancer Letters* 2001;169:7-14.
 15. Dowling GP, Kelly JK. The histogenesis of adenocarcinoma of the gallbladder. *Cancer* 1986;58:1702-1708.
 16. Hansel DE, Meeker AK, Hicks J, De Marzo AM, Lillemoe KD, Schulick R, et al. Telomere length variation in biliary tract metaplasia, dysplasia, and carcinoma. *Mod Pathol* 2006;19:772-779.
 17. Maesawa C, Ogasawara S, Yashima-Abo A, et al., Aberrant maspin expression in gallbladder epithelium is associated with intestinal metaplasia in patients with cholelithiasis. *J Clin Pathol* 2006;59:328-330.
 18. Albores-Saavedra J, Henson DE. Tumors of the gallbladder and extrahepatic bile ducts. In: *Atlas of Tumor Pathology*, 2nd series, Fascicle 22. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1986.