



T.C.

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**HEPATOSELLÜLER KARSİNOMDA EZH2, BMI-1, HSP70,
CAP2 VE GLUTAMİN SENTETAZ PROTEİNLERİNİN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI
VE BULGULARIN AGRESİF KLİNİK DAVRANIŞTAKİ
ROLÜNÜN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Elif ÇALIŞ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Figen DORAN

ADANA-2013



T.C.

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**HEPATOSELLÜLER KARSİNOMDA EZH2, BMI-1, HSP70,
CAP2 VE GLUTAMİN SENTETAZ PROTEİNLERİNİN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI
VE BULGULARIN AGRESİF KLİNİK DAVRANIŞTAKİ
ROLÜNÜN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Elif ÇALIŞ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Figen DORAN

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

TF2012LTP22

ADANA-2013

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca kendimi geliştirmemde anlayış ve sabrını esirgemeyen, tecrübeleri ve bilgileriyle karşılaştığım tüm zorlukları aşmamda sonsuz desteğiyle daima yanımda olan sayın danışman hocam Prof. Dr. Figen DORAN'a çok teşekkür ederim.

Eğitim sürecinde bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. İlhan TUNCER, Prof. Dr. Suzan ZORLUDEMİR, Prof. Dr. Gülfiliz GÖNLÜŞEN, Prof. Dr. Melek ERGİN, Prof. Dr. Derya GÜMÜRDÜLÜ, Prof. Dr. Aysun UĞUZ, Prof. Dr. Şeyda ERDOĞAN, Yard. Doç. Dr. Arbil AÇIKALIN ve Yard. Doç. Dr. Emine KILIÇ BAĞIR'a teşekkür ederim.

Bulguların istatistiksel değerlendirilmesindeki yardımları için Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Gülşah SEYDAOĞLU'na teşekkür ederim.

İmmünohistokimyasal çalışmalardaki özverili çalışmaları ile teknisyen Kezban BOSTANER ve Gülafer KORKUT'a teşekkür ederim.

Laboratuvar aşamasında kesitlerin zahmetsizce elde edilmesindeki rolü nedeniyle tüm patoloji teknik elemanlarına, özellikle Sinan ÖZBULAT'a teşekkür ederim.

Asistanlık süresince birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamı TF2012LTP22 nolu proje olarak destekleyen Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne maddi katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi asistanlığım sırasında da bana her bakımdan destek olan sabır ve anlayış gösteren aileme teşekkür ederim.

Dr. Elif ÇALIŞ

Adana, 2013

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar LİSTESİ.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
KISALTMALAR LİSTESİ	V
ÖZET ve ANAHTAR KELİMELER	VI
ABSTRACT and KEYWORDS	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğerin Mikroanatomisi	3
2.2. Hepatosellüler Karsinom.....	5
2.2.1. Tanım ve Epidemiyoloji	5
2.2.2. Hepatosellüler Karsinomun Risk Faktörleri	6
2.2.2.1. Hepatit B ve Hepatit C Virüsü.....	8
2.2.2.2. Aflatoksin	11
2.2.2.3. Alkol	11
2.2.2.4. Non-alkolik Steatohepatit.....	12
2.2.3. Hepatokarsinogenezisin Moleküler Mekanizmaları	12
2.2.3.1. Hepatokarsinogenez Süreci	12
2.2.3.2. Hepatokarsinogenez Sürecinde Yer Alan Sinyal Yolakları	13
2.2.4. Prekanseroz Değişiklikler	15
2.2.4.1. Sitolojik Atipi-Displazi.....	16
2.2.4.2. Displastik Odaklar	18
2.2.4.3. Displastik Nodüller.....	18
2.2.5. Hepatosellüler Karsinomda Makroskopi	19
2.2.6. Erken Hepatosellüler Karsinom	21
2.2.7. Hepatosellüler Karsinom Histolojisi.....	24
2.3. Kombine Hepatosellüler Kolanjiyo-Karsinom	28
2.4. Hepatosellüler Karsinom, Fibrolamellar Varyant.....	28
2.5. EZH2, Bmi-1, HSP 70, CAP2 VE Glutamin Sentetaz Proteinleri.....	29
2.5.1. EZH2 ve Bmi-1.....	29
2.5.2. HSP70	31
2.5.3. Glutamin Sentetaz	31
2.5.4. Siklaz İlişkili Protein 2.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Materyal Seçimi	33
3.2. İmmünohistokimyasal Çalışma.....	33
3.3. İmmünohistokimyasal Çalışmanın Değerlendirilmesi	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. Klinikopatolojik Bulgular	37
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	39
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇLAR.....	59
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	69

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1. Kronik Karaciğer Hastalığında Görülen Nodüler Lezyonlar	15
Tablo 2. Karaciğerde Displastik Lezyonlar- IWP 1995.....	16
Tablo 3. Makroskopik Egge Sınıflaması.....	19
Tablo 4. Sirozda Nodüllerin Ayırıcı Tanısı.....	22
Tablo 5. Nodüler Tip Küçük HSK ve Belli-Belirsiz Nodüler Küçük HSK Arasındaki Farklılıklar. 24	
Tablo 6. HSK Olgularının Klinik ve Histopatolojik Özellikleri	36
Tablo 7. Yaş Grubuna Göre Cinsiyet Dağılımı	37
Tablo 8. Demografik Değişkenlere Göre Sağkalım Tablosu	38
Tablo 9. Patolojik Değişkenlerin Dağılımı	39
Tablo 10. İmmünohistokimyasal Değişkenlerin Dağılımı	40
Tablo 11. HSP70 Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması	41
Tablo 12. GS Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması.....	43
Tablo 13. CAP2 Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması	46
Tablo 14. EZH2 Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması.....	48
Tablo 15. Bmi-1 Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması.....	49
Tablo 16. Sağkalım Tablosu.....	50

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. Hepatik lobül ve asinüsün şematizasyonu (zon 1, zon 2, zon 3).....	3
Şekil 2. Hepatik zonal bölgelerin histolojik görüntüsü (H&E X40)	4
Şekil 3. Sirotik görünümde karaciğer	7
Şekil 4. Sirotik karaciğer kesit yüzeyi	8
Şekil 5. Hepatosellüler karsinomda moleküler patogenezis	13
Şekil 6. Büyük hücre değişiklikleri.....	17
Şekil 7. Küçük hücre değişiklikleri.....	17
Şekil 8. Hepatosellüler karsinom, Nodüler tip.....	19
Şekil 9. Hepatosellüler karsinom, Masif tip.....	20
Şekil 10. Hepatosellüler karsinom, Diffüz infiltratif tip	21
Şekil 11. Hepatokarsinogenezisde meydana gelen makroskopik ve mikroskopik lezyonlar.	23
Şekil 12. Dilate safra kanalları içerisinde izlenen safra pigmenti.....	25
Şekil 13. Hepatosellüler karsinom, trabeküler patern (H/E X100)	26
Şekil 14. Hepatosellüler karsinom, asiner (psödoglandüler) patern (H/E X100)	26
Şekil 15. Hepatosellüler karsinom, Solid patern (H/E X200)	27
Şekil 16. Hepatosellüler karsinom, fibrolamellar varyant (H/E X200)	29
Şekil 17. HSP70 sitoplazmik güçlü pozitiflik (X200).....	41
Şekil 18. HSP70 sitoplazmik orta derecede pozitiflik (X200).....	42
Şekil 19. HSP70 sitoplazmik zayıf pozitiflik (X200).....	42
Şekil 20. Glutamin Sentetaz sitoplazmik güçlü pozitiflik (X200).....	44
Şekil 21. Glutamin Sentetaz sitoplazmik orta düzeyde pozitiflik (X200)	44
Şekil 22. Glutamin Sentetaz sitoplazmik zayıf pozitiflik (X200).....	45
Şekil 23. CAP2 sitoplazmik güçlü pozitiflik (X200)	46
Şekil 24. CAP2 sitoplazmik orta düzeyde pozitiflik (X200)	47
Şekil 25. CAP2 sitoplazmik zayıf pozitiflik (X200)	47
Şekil 26. EZH2 nükleer pozitiflik (X200).....	49
Şekil 27. BMI1 nükleer boyanma (X200).....	50

KISALTMALAR LİSTESİ

AF	: Aflatoksin
CAP2	: Cylase-associated protein 2
DN	: Displastik nodül
E	: Erkek
EZH2	: Enhancer of zeste homolog 2
FLHSK	: Fibrolamellar varyant Hepatosellüler karsinom
GS	: Glutamin sentetaz
HBV	: Hepatit B virüsü
HCV	: Hepatit C virüsü
HSH	: Hepatik Stellat Hücre
HSK	: Hepatosellüler karsinom
HSP70	: Heat shock protein 70
İHK	: İmmünohistokimya
IL6	: İnterlökin 6
IWP	: International Working Party
K	: Kadın
N/S	: Nükleus/sitoplazma
NK	: natural killer
WHO	: World Health Organization

ÖZET

Hepatosellüler Karsinomda EZH2, Bmi-1, HSP70, CAP2 ve Glutamin Sentetaz Proteinlerinin İmmünohistokimyasal Yöntemle Araştırılması ve Bulguların Agresif Klinik Davranıştaki Rolünün Değerlendirilmesi

Giriş-Amaç: Hepatosellüler karsinom, genel olarak kronik karaciğer hastalığı veya siroz zemininde gelişen, dünya genelinde en ölümcül olan tümörler arasında ön sıralarda yer alan, karaciğerin primer bir tümörüdür. Dünyada 5. en sık görülen kanser olup, kansere bağlı ölümlerde 3. sırada yer almaktadır. Bu çalışmada Hepatosellüler karsinomda EZH2, Bmi-1, HSP70, GS ve CAP2 proteinlerinin ekspresyonunu ve agresif klinik davranış üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2007-2012 yılları arasında incelenen 50 Hepatosellüler karsinom olgusu dahil edildi ve immünohistokimyasal yöntem ile EZH2, Bmi-1, HSP70, GS ve CAP2 antikorları uygulandı.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen hastaların 41'i (% 82) erkek, 9'u (% 18) kadındı. Hastaların 29'u eks olmuştur ve tahmini yaşam süreleri 30 ± 3 (24-37) ay olarak belirlenmiştir. Hastaların 22'sinde (% 44) damar invazyonu mevcut olup invazyon olan grupta ortalama yaşam süresi 16 ± 3 ay iken, invazyon izlenmeyen grupta ise 36 ± 4 ay idi ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.019$). Glutamin Sentetaz ile 22 olguda (% 44) düşük düzeyde, 28 olguda (% 56) yüksek düzeyde ekspresyon saptanmıştır. Ekspresyon düzeyleri yüksek olgularda, tahmini yaşam süresi 15 ± 2 ay iken; GS'in düşük düzeyde ekspresyon gösterdiği olgularda ortalama yaşam süresi ise 38 ± 4 ay olarak belirlenmiştir ($p=0,018$). Bmi-1 ile 32 (% 64) vakada düşük, 18 vakada (% 36) yüksek düzeyde ekspresyon görülmüştür. Bmi-1 ile yaşam süresi karşılaştırıldığında ekspresyon düzeyi yüksek olan grupta ortalama yaşam süresinin daha kısa olduğu saptanmıştır ($p=0,008$). Bmi-1 sonuçları ile tümör çapı kıyaslandığında, Bmi-1 ekspresyon düzeyi yüksek olan grupta tümör çapının daha büyük olduğu saptanmıştır ($p=0.037$). Damar invazyonu olan grubun Bmi-1 ekspresyon düzeyinin daha yüksek olduğu görülmüştür ($p=0.004$). EZH2 ile 36 olguda (% 72) düşük düzeyde, 14 olguda (% 28) yüksek düzeyde ekspresyon izlenmiştir. Düşük düzeyde ekspresyon izlenen 36 hastanın 23'ü, yüksek düzeyde ekspresyon izlenen 14 hastanın ise 6'sının eks olduğu öğrenilmiştir. EZH2 ekspresyon düzeyleri ile hastaların yaşam süreleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,034$).

Tartışma-Sonuç: Bu çalışma GS, EZH2 ve Bmi-1'in Hepatosellüler karsinom tanısında ve takibinde prognostik bir gösterge olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Bu proteinlerin ekspresyon düzeyi arttıkça yaşam süresinin kısaldığı görülmüştür. GS, EZH2 ve Bmi-1 ekspresyonu ile HSK gelişimi ve malign davranışı arasında açık bir ilişki olduğu saptanmıştır. Böylece, GS, EZH2 ve Bmi-1, HSK'a karşı yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde hedef moleküller olabilir.

Anahtar Sözcükler: Hepatosellüler karsinom, GS, EZH2, Bmi-1, İmmünohistokimya

ABSTRACT

Research Over EZH2, Bmi-1, HSP70, CAP2 and Proteins of Glutamin Synthetase With Immunohistochemical Method for the case of Hepatocellular Carcinoma and Evaluation of the Symptoms and their Role in the Agressive Clinical Behaviour

Introduction-Objective: Hepatocellular carcinoma, generally developing with chronical liver disease or on the basis of cirrhosis; it is the tumor that takes place in the very first rows among the most deadly tumors that are encountered in the world as primary tumor of liver. Being the 5th most encountered cancer type in the world, it takes place in the third row of deaths caused by cancer. In this study for the hepatocellular carcinoma, we aimed to evaluate EZH2, Bmi-1, HSP70, GS and CAP2 proteins' expression and its effect over aggressive clinical behaviour.

Material and Method: Some 50 of hepatocellular carcinoma cases that have been examined between 2007 and 2012 in the Department of Pathology of Medical Faculty of Cukurova University were included into this research and EZH2, Bmi-1, HSP70, GS and CAP2 antibodies have been applied with the immunohistochemical method.

Symptoms: 41 (82 %) of the patients who took place in the research were men and 9 (18 %) were women. 29 of the patients have died and their life time has been figured as 30 ± 3 (24-37) months. Vein invasion has existed in 22 (44%) of the patients; while average life time for those who were in the group with invasion was 16 ± 3 months, and for those who did not have invasion, the figure was 36 ± 4 months and this outcome ($p=0.019$) has statistically been found meaningful. With Glutamine Synthetase (GS), low level of expression was found in 22 (44 %) of the cases, and high level of expression in 28 (56%) of the cases. For the cases with high level of expression, the estimated average life time was 15 ± 2 months; and for the cases with low level of expression with GS, this figure was found as 38 ± 4 months ($p=0.018$). With Bmi-1, low level of expression was found in 32 (64%) of the cases, and high level of expression in 18 (36%) of the cases. When Bmi-1 and life time was compared, the average life time for the group with high level of expression was found to be shorter ($p=0.008$). When Bmi-1 results and tumor diameter were compared, the tumor diameter was found to be bigger for the group with high level of expression ($p=0.037$). The level of Bmi-1 expression for the group with vein invasion was found to be higher ($p=0.004$). With EZH2, low level of expression was found in 36 (72 %) of the cases, and high level of expression, in 14 (28 %) of the cases. It is learned that 23 of 36 patients with low level expression, and 6 of 14 patients with high level expression have died. The correlation between EZH2 expression levels and life time of the patients is statistically meaningful ($p=0.034$).

Discussion-Conclusion: This study has shown that it can be used as an indicator for the diagnosis of Hepatocellular carcinoma and its prognostic follow-up with GS, EZH2 and Bmi1. It has been seen that the higher the level of these proteins' expression, the shorter the life time gets. It is found that there is a clear positive correlation between GS, EZH2 and Bmi-1 expression and HSK developement and its malign behaviour. Thereby, GS, EZH2 and Bmi-1 can be target molecules in the developement of novel treatment strategies against HSK.

Keywords: Hepatocellular carcinoma, GS, EZH2, Bmi-1, Immunohistochemical

1. GİRİŞ

Hepatosellüler karsinom (HSK) dünyada 5. en sık görülen kanser olup, kansere bağlı ölümlerde de 3. sırada yer almaktadır.⁵ Türkiye'deki HSK'nın görülme sıklığı konusunda tam olarak sayısal bir veri yoktur. Ancak kronik viral hepatit hastalıklarının sık görülmesi nedeni ile HSK insidans ve prevalansının da hızla arttığı düşünülmektedir.^{6,7} Hepatokarsinogenezisde viral enfeksiyonların, alkolik karaciğer hastalıklarının ve nonalkolik steatohepatitin patogenezi iyi bilinmesine rağmen, HSK'daki kötü prognozun hangi mekanizmalara bağlı olduğu tam olarak anlaşılmamıştır.⁷

Hepatosellüler karsinom tanısı genel olarak, serum markerları, bir ya da daha fazla görüntüleme yöntemi ve histolojik doğrulama gerektirmektedir. Karaciğerin rezerv hücre kapasitesinin büyük olması nedeniyle hastalar genel olarak geç tanı alırlar. Klinik semptomlar ileri evreye kadar belirgin ve özgün değildir. HSK'de ortalama sağkalım süresi 6-20 ay arasındadır.⁵⁻⁷

Hepatosellüler karsinom gelişimindeki en önemli olay karaciğerdeki rejenerasyondur. Etken ne olursa olsun karaciğerde ilk önce inflamasyon görülür. İnflamasyondan sonra sırasıyla fibrozis ve rejenerasyon gelişir. Fibrozis ve rejenerasyon sirozun en önemli patofizyolojik göstergeleridir. Rejenerasyon nodüllerinden displastik odak gelişir. Bu odak displastik nodüle ilerler. Düşük dereceli displastik nodül, yüksek dereceli displastik nodüle ve sonuçta erken HSK gelişir. Karsinomaya progresyonun göstergesi ise stromal invazyon, venöz invazyon ve metastazların varlığıdır.¹³

EZH2 ve Bmi-1 proteinleri polycomb grup genlerinin bir üyesidir ve artmış ekspresyonu invaziv büyüme paterni ve malign klinik davranış ile ilgilidir. Polycomb grup proteinlerin up-regülasyonu tümör gelişimi ile yakından ilişkilidir. EZH2'nin malign lenfoma ve multipl myeloma gibi bazı tümörlerin patogenezinde rol oynadığı bildirilmiştir.^{86,87} Bmi-1 başlangıçta lenfomalarda protoonkogen olarak belirlenmiştir. Artmış Bmi-1 ekspresyon düzeylerinin lenfomalarda ve aynı zamanda çeşitli tipteki lösemilerde ve solid organ tümörlerinde, kötü prognozu gösterdiği bildirilmiştir.^{88,90}

Heat shock protein 70 (HSP70) ise bir protein ailesinin üyesidir. Hücrelerin ani sıcaklık değişiklikleri, anoksi, reaktif oksijen metabolitlerinde artış ve glukoz düzeylerinde değişiklikler gibi çevresel faktörlere maruz kaldığında üretilir.⁹²

Tümörigenezisde hücre siklusu ve apoptozisin düzenlenmesinde rol oynarlar. Çoğu HSK' nin etyolojisinde rol alan hepatit B/hepatit C virüslerinin karaciğeri infekte etmesi sonucu ortaya çıkan kronik inflamasyon ve fibrozis, hücrede stres meydana getirerek HSP'lerinin sentezlenmesine neden olur. HSP70'in aşırı ekspresyonu ile tümör boyutu, vasküler invazyon ve yüksek histolojik grade arasında korelasyon vardır. HSP70 ekspresyonu arttıkça hastalıklı sağkalım sürelerinin kısaldığı saptanmıştır.^{92,94}

Cytase-associated protein 2 (CAP2), ras geninin kontrolü altında adenil siklaz aktivitesinin regülasyonu ile ilişkili bir proteindir.⁹⁷ İmmünohistokimyasal olarak CAP2, prekanseröz lezyonlarla karşılaştırıldığında erken evre HSK'da aşırı eksprese olmaktadır. Bu nedenle CAP2 karaciğerde, kanseröz lezyonları prekanseröz lezyonlardan ayırmada ve erken tanıda kullanımı bilinmektedir. Non-kanseröz karaciğer dokusu, prekanseröz lezyonlar ve erken HSK karşılaştırıldığında CAP2'nin erken HSK'da aşırı eksprese edildiği görülmüştür. CAP2 aşırı ekspresyonu; erken HSK ile karşılaştırıldığında progrese HSK'da daha fazla görülmektedir, bu durum multistep karsinogenezde bu proteinin bir katılımı olduğunu düşündürmektedir sonucuna varılmıştır.⁹⁸ Ancak CAP2 ekspresyonunun hepatokarsinogenezis yanı sıra rejenerasyon ile de ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir.⁹⁹

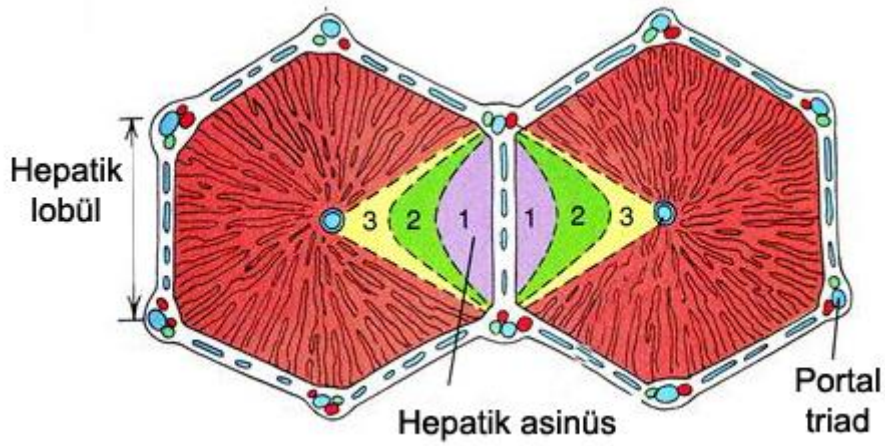
Glutamin sentetaz (GS) β -kateninin hedef genidir, artmış ekspresyonu β -katenin gen mutasyonu ile ilişkilidir. Nükleer β -katenin translokasyonu ve GS immünboyanması tümörde aktif sinyalleme belirteçleri olarak kullanılabilir.⁹³ Bu gen mutasyonu HSK patogenezisinde rol oynamaktadır. GS ekspresyonu saptanan hastalarda, sağkalım sürelerinin kısaldığı görülmüştür.⁹⁶

Tek başına morfolojik kriterler özellikle iğne biyopsisinde yüksek grade displastik nodül ve erken evre HSK ayırımında sorun teşkil etmektedir. Stromal invazyon en güvenilir malignite kriterlerinden birisidir ancak biyopsi spesmenlerinde bu bulgu görülmeyebilir. Bu nedenle erken evre HSK'da morfolojik özelliklerin yanısıra yapılacak immünohistokimyasal tetkikler içerisinde yer alan HSP70, EZH2, Bmi-1, CAP2 ve GS markerlarının ekspresyon düzeyleri bu tümörlerin klinik davranışına ışık tutmaktadır.^{88,89,92,97,98}

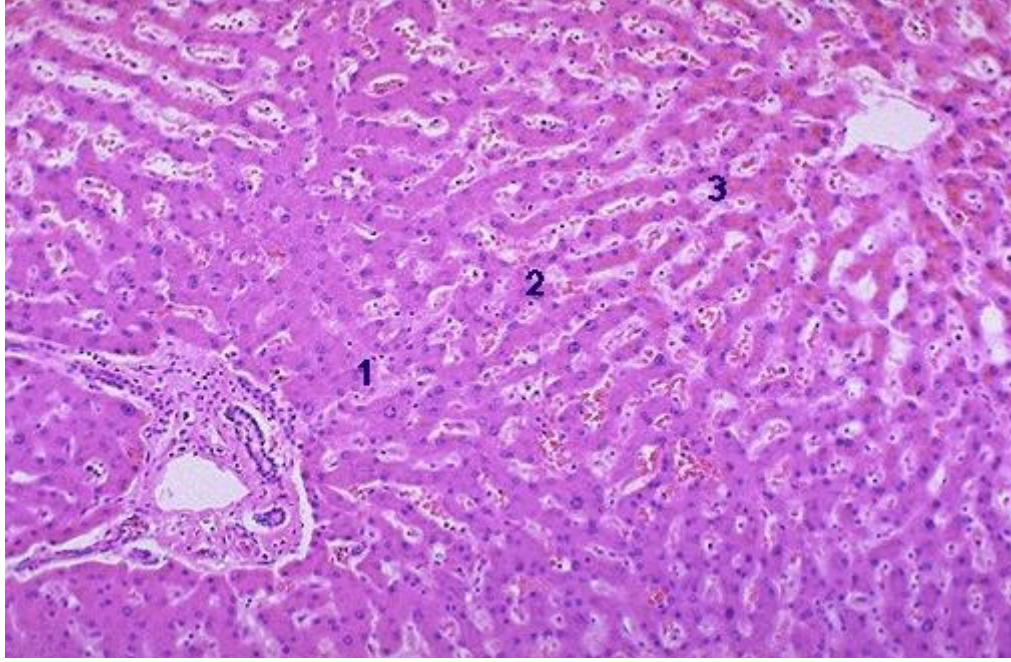
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğerin Mikroanatomisi

Karaciğer mikroanatomisinde birçok yapısal ve işlevsel birimler mevcuttur. Bunlar arasında hepatik lobül ve hepatik asinüs yapıları karaciğer değerlendirmesinde esastır. Klasik karaciğer lobülü 6 portal alan tarafından kuşatılmıştır ve bu lobülün ortasında terminal hepatik ven dalı (santral ya da sentrlobüler ven) bulunur. Portal bölgelerdeki üç önemli anatomik yapı; portal venül, hepatik arteriol ve safra kanalıdır.¹ Karaciğer, kan getiren venlerin terminal bir dalı ile kanlanan parankim bölgesinin bir karaciğer birimi (hepatik asinüs) olarak kabul edilmesiyle fonksiyonel olarak da sınırları keskin olmayan 3 bölgeye ayrılır; periportal bölge: Zon 1, perivenüler bölge (santral bölge): Zon 3, iki bölge arasındaki ara bölge: Zon 2 (Şekil 1 ve 2).²



Şekil 1. Hepatik lobül ve asinüsün şematizasyonu (zon 1, zon 2, zon 3).



Şekil 2. Hepatik zonal bölgelerin histolojik görüntüsü (H&E X40) ²

Karaciğer parankim hücresi ya da hepatositler, santral yerleşimli, tek çekirdekli, poligonal sitoplazmalı bir hücrelerdir. Lobül içerisinde hepatositler santrale doğru yönelim gösteren tek sıralı dizilim halindedirler. Her hepatositin sinuzoidal kanla temas eden iki yüzü vardır. Hepatositlerin birbirine bakan yüzleri ise intersellüler safra kanaliküllerini oluşturmak üzere özelleşmiştir. Bu yapıların hücreler arası ve sinuzoidal boşluklarla ilişkisi yoktur.

Hepatositin sinuzoidal yüzü ile sinüzoidal döşeyici hücreler arasında kalan ve rutin hematoksilen-eozin preparatlarda seçilemeyen dar boşluk, Disse mesafesi olarak isimlendirilir. Kan ile hepatosit arasındaki madde alışverişi bu boşluklarda gerçekleşir. Hepatik sinüzoidler farklı hücre tipleri ile kaplıdır. Sinüzoidal endotel hücreleri sitoplazmalarında fenestrasyon (delikçikler) bulundurlar. Sinüzoidal endotel hücre fenestrasyonlarından Kupfer hücrelerinin mikrovillüs uzantılarının Disse aralığına doğru çıkıntı yaptığı ve bu şekilde hepatosit mikrovillüsü ile temasda olduğu gözlenmiştir. Kupffer hücreleri, lümene doğru kabaran, pek çok uyarana prolifer olup büyüeyen, mononükleer fagositik sistem üyesi olan hücrelerdir. Bazı sinüzoidlerin içinde *natural killer* (NK) fenotipinde intrahepatik lenfositler bulunabilir, bunlara ‘Pit Hücresi’ adı verilir.

Kasılabilme yeteneğine sahip, perisinüzoidal ‘perisit’ler olan Hepatik Stellat Hücreler (HSH) Disse aralığında bulunur. Bu hücreler daha önce Ito hücreleri yada liposit olarak adlandırılırdı. HSH sitoplazmasında vitamin-A içeren lipid damlacıkları bulunan inaktif bir hücredir; iltihabi ya da doğrudan toksik hasarla myofibroblast benzeri aktif hücrelere dönüşerek lobül içi fibrozise neden olur. HSH rutin preperatlarda çok zor görülebilen bir hücredir. İmmünohistokimyasal olarak Sinaptofizin antikoruyla hem inaktif hem de aktif HSH; düz kas aktini antikoruyla ise aktif HSH’ler gösterilebilir.^{1,2}

2.2. Hepatosellüler Karsinom

2.2.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Hepatosellüler karsinom, karaciğerin hepatosellüler orjinli malign tümörüdür ve en sık görülen primer karaciğer kanseridir. Dünyada en çok görülen kanser türleri arasında 5. sıradadır ve kansere bağlı ölümlerde akciğer ve mide kanserlerinden sonra 3. sırada yer almaktadır.³ HSK görülme sıklığı her yıl artma eğiliminde olup Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) ve Avrupa’da son 20 yılda görülme sıklığının iki kat arttığı bildirilmiştir.⁴ ABD’de yeni vakaların tahmini insidansı yılda 500.000-1.000.000 arasındadır ve her yıl 600.000 ölüme neden olmaktadır.^{3,4}

Hepatosellüler karsinomun küresel dağılımı, hastalığın kökenindeki faktörler nedeni ile coğrafi seçicilik ve heterojenite gösterir. HSK olgularının çoğu (> % 80) 100.000 kişide 20 den fazla insidans oranı ile Sahra-altı Afrika ve Doğu Asya’da görülmektedir. İspanya, İtalya ve Yunanistan gibi Güney Avrupa ülkeleri orta insidans (100.000 kişide 10-20) düzeylerine sahip olma eğiliminde iken, Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika ve Güney Amerika’da HSK insidansı düşük oranlardadır (100.000 kişide <5).³ HCV sıklığının tüm dünyada artmasıyla özellikle endüstrileşmiş toplumlarda HSK sıklığında artış görülmektedir.^{4,5}

Türkiye’de ise kronik hepatit hastalıkları sıklığı ile birlikte HSK’nın insidansının ve prevalansının hızla arttığı görülmektedir.⁶ Türkiye’nin Avrupa ülkelerine coğrafi yakınlığı nedeniyle, HBV taşıyıcılığı açısından komşu Avrupa ülkelerine benzerliği söz konusudur. Türkiye HSK’ların görülme sıklığı açısından orta insidans grubunda yer almaktadır.^{7,8} Ülkemizde HSK etiyolojisinin % 65’ini HBV ve HCV enfeksiyonları oluşturmaktadır.⁹ Türkiye HBV’nin endemik olarak görüldüğü bir

ülkedir, HBV taşıyıcılık oranı % 5-10 arasındadır. Hepatit C insidansı ise % 1.5'dur.⁷ Sağlık Bakanlığı verilerine göre HSK görülme sıklığı 0.83/100.000 olarak belirlenmiştir.⁹ HSK gelişiminden, gelişmekte olan ülkelerde en çok HBV enfeksiyonları sorumlu iken, gelişmiş ülkelerde HCV enfeksiyonları ve alkol kullanımı ile HSK arasında daha belirgin bir ilişki mevcuttur.¹⁰

Dünya'da HSK erkeklerde daha sık görülmektedir.¹⁰ İsviçre'de E/K oranı 4/1, İtalya ve Fransa'da 5/1 dir. Çin'de E/K oranı 3/1, Gambiya'da 2.8/1 ve Zimbabwe'de 2.4/1'dir. Bu oranlardan da anlaşıldığı gibi bazı Avrupa ülkelerinde erkekler daha çok etkilenirken, gelişmekte olan ülkelere E/K oranı eşitlenme eğilimi göstermektedir.^{11,12} Erkeklerin karaciğer kanserinde yüksek oranlara sahip olmasının nedenleri çeşitli etyopatogenetik mekanizmalar ile açıklanabilir. Erkeklerde HBV ve HCV ile enfekte olma oranı ve karsinogenlere (sigara ve alkol) maruz kalma oranları daha yüksektir. Testesteron oranının HSK ile korele olduğu gösterilmiştir ve bu durum HSK gelişiminde cinsiyet hormonlarının olası rolünü işaret etmektedir.¹⁴ Testesteron, androjen reseptör sinyali artırır, karaciğer hücre proliferasyonunu teşvik eder.¹⁵ Ayrıca hepatokarsinogenezisde görülen cinsiyet farklılıklarının interleukin 6 (IL6) ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kadınlarda östrojen, IL6 aracılığıyla inflamasyonu baskılayıp, karaciğer hasarını ve tümörün yayılma hızını azaltmaktadır.^{12,13}

Hepatosellüler karsinom insidansı yaşla birlikte artar. En yüksek prevalans 65 yaş üzerinde görülmektedir.^{14,16} Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'da HSK 50 yaş altında nadir görülmesine rağmen son 20 yılda daha genç yaşlara doğru bir insidans kayması dikkati çekmektedir.¹⁷

2.2.2. Hepatosellüler Karsinomun Risk Faktörleri

HSK gelişimi için major risk faktörü karaciğer sirozudur. HSK'ların % 80'den fazlası sirotik karaciğer zemininde gelişmektedir. Sirotik hastalarda HSK'nın yıllık insidansı % 1-6'dır.⁸ Karaciğer sirozu dışında HSK oluşumu için belirlenen diğer risk faktörleri ise; viral (HBV, HCV), toksik (alkol ve aflatoksin), metabolik (diabet, non-alkolik steatohepatit, herediter hemokromatozis) ve immün ilişkili hastalıklar (primer bilier siroz ve otoimmün hepatit) olarak sıralanmaktadır.^{16,18}

Risk faktörlerinin etkisine maruz kalan hepatositlerde uzun süreli hasar meydana gelmektedir. HBV ve HCV hepatositleri enfekte ederek yol açtıkları hasara ek olarak

viral enfeksiyona bağlı immun yanıt oluşturması nedeniyle de karaciğer dokusunda inflamasyon oluşturmaktadır.^{6,19} Hepatosit nekrozu, inflamasyon ve sağlam hepatositlerdeki rejeneratif çoğalma uzun süreler boyunca devam etmektedir. Risk faktörlerinin yol açtığı inflamatuvar yanıt ve oksidatif stres karaciğerin stromasını ve mikroçevresini değiştirmekte ve siroz gelişimine neden olmaktadır. Hepatositlerde değişen mikroçevre içinde rejenerasyon amacıyla çoğalma hızı artmaktadır. Hem etyolojik faktörlerin hem de inflamasyonun etkisiyle, rejenerasyon zemini, zamanla genetik değişime yol açmaktadır. Böylece sirotik karaciğer dokusu içinde fibrotik stromayla çevrilmiş, rejenere hepatositlerden oluşan nodüller oluşmaya başlamaktadır (şekil 3 ve 4). Bu nodüller hiperplastik nodüllere daha sonra da büyüme hızı kontrolü kaybı ve genomik instabilite gelişimiyle displastik nodüllere sonuçta HSK’a dönüşmektedir. Zamanla hücrelerin diferansiyasyon derecesi düşmekte ve hepatosit fonksiyonları kaybolmaya başlamaktadır.²⁰



şekil 3. Sirotik görünümde karaciğer



Şekil 4. Sirotik karaciğer kesit yüzeyi

2.2.2.1. Hepatit B ve Hepatit C Virüsü

HBV ve HCV farklı genetik mekanizmalarla HSK gelişimine yol açmaktadırlar.²¹ HBV bir DNA virüsüdür. Bu virüs için hepatokarsinogenezisde tanımlanmış üç farklı yol mevcuttur;

a) HBV DNA sı konak genomuna entegre olarak kromozom instabilitesine yol açmaktadır,

b) Genoma integrasyon nedeniyle belirli yerlere insersiyonel mutasyonlar olmakta ve endojen genler aktive olmaktadır,

c) HBV viral proteinlerinin eksprese edilmesi yolu ile (özellikle HBx proteini) hücre proliferasyonunu modüle edebilmektedir. Bu yolla özellikle p53 ile etkileşimi önemli rol oynamaktadır.²¹

HCV ise bir RNA virüsüdür. Konak genomuna entegre olmaz fakat viral proteinleri hepatokarsinogenezisde rol oynamaktadır. HCV'nin core, NS3 ve NS5a proteinleri posttranskripsiyonel olarak p21 ekspresyonunu inhibe eder. NS4a ve NS4b de translasyonel inhibisyonla aracılık eder ve muhtemelen bazı proteinlerin degradasyonunu artırır. HCV core proteini hücre proliferasyonu, apoptoz ve immünolojik yanıtları p53 ve Wnt-1 ile etkileşime girerek modüle eder.²¹

Karaciğer kanserleri, HCV ilişkili sirozlu hastalarda, non-viral etkili kronik karaciğer hastalıklarından daha yüksek prevelansda görülmektedir.²² Sadece birkaç vakada non-sirotik karaciğer zemininde HCV-ilişkili HSK rapor edilmiştir. Bu durum virusun mutajenik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.⁵ HCV prevelansı coğrafik bölgeye göre değişmektedir. Afrika ve Asya ülkelerinde yüksek HCV prevelansı bildirilirken, Kuzey Amerika, Avrupa ve Avustralya'da genellikle düşük oranlar bildirilmiştir.^{5,22} Mısır dünyada HCV prevelansının en yüksek olduğu ülkedir ve bu ülkede baskın olarak genotip 4 görülmektedir.²²

Akut HCV enfeksiyonlarının % 70 den fazlası kronikleşir ve kronik HCV li hastalarda yaklaşık % 27 oranında siroz ve % 25 oranında HSK ortaya çıkmaktadır.²³ HCV genellikle kişiler arası transfüzyon ve intravenöz ilaç kullanımı gibi parenteral yol ile bulaşır. Diğer taraftan HCV'nin cinsel ya da vertikal yol ile geçişi çok nadirdir.²⁴

HCV, kompleks genetik değişkenliği nedeni ile dünya çapında yayılmaktadır. Farklı genetik izolatlar, genotip ve subtiplere sınıflandırılmıştır. Her biri nükleotid dizisi bakımından farklı olan 6 ana genotipi vardır. Ek olarak aynı genotip içinde yaklaşık olarak % 20-25 oranında nükleotid sekansı farklı olan birkaç alt tipi tespit etmek mümkün olmuştur (örneğin a,b,c).²⁵

HCV genotipleri, coğrafik dağılım ve antiretroviral tedaviye cevap konusunda belirgin farklılıklar gösterirler. Genotip 1 Kuzey Amerika ve Avrupa'da yaygın olarak bulunurken, Genotip 2; Japonya ve Çin'de sık görülür. Genotip 4 Mısır'da yaygındır, Genotip 5 ise neredeyse sadece Güney Afrika'da bulunur. Genotip 6 genellikle Güneydoğu Asya'da sınırlıdır.²⁵⁻²⁷ Mevcut veriler HCV genotiplerinin, antiretroviral tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde önemli olduğunu ancak hastalığın progresyonunu ya da şiddetini anlamlı ölçüde etkilemediğini belirtmektedir.²⁴ Diğer taraftan genotip 3 genellikle steatohepatit ile ilişkilendirilmiştir.^{26,27}

HCV enfeksiyonunun doğal seyri çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Kiyosawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada HCV ile infekte kan transfüzyonu sonrasında kronik hepatit gelişmesi için geçen sürenin 13 yıl olduğu bildirilmiştir.³¹ Bu periyod, Amerika'da Tong ve arkadaşlarının çalışmasında bu süreç yaklaşık 10 yıl olarak belirlenmiştir ve aynı hastalarda siroz gelişim süresinin ise 20 yıl olduğu bildirilmiştir.²⁷ Bu çalışmalarda HSK gelişimi, Amerika'da 28, Japonya'da ise 29 yıllık bir süreden sonra oluşmaktadır.^{26,27} HCV infekte hastalarda HSK gelişimi için yıllık risk, altta yatan

karaciğer hastalığının varlığı ve şiddeti ile doğru orantılıdır. Ayrıca bu fibrotik progresyon, enfeksiyon sırasındaki ileri yaş, erkek cinsiyet, HCV'nin genotipi ve alkol tüketim oranı ile de ilişkilidir.²² HCV ile enfekte bireylerin % 80 kadarında akut dönemde virüs ortadan kaldırılamaz ve kronik HCV'ye progresyon olur. Devam eden kronik hepatit zeminindeki inflamasyon, hepatosit rejenerasyonuna, sonuç olarak siroza progresyona yol açar. Bu sırada kromozomal hasar oluşabilmekte ve hepatokarsinogenezis başlayabilmektedir.^{28,29}

Kronik HBV enfeksiyonu; virüs endemisi ve vertikal geçişin sık olduğu Asya ve Avrupa'da HSK'un önde gelen nedenidir.³⁰ Prospektif kohort çalışmalar HBV ile kronik olarak enfekte kişilerde HSK gelişim riskinin 5 ila 100 kat arttığını göstermektedir.¹⁴

HBV yüzey antijeni (HBsAg) ve kor antijeni (HBcAg) aktif enfeksiyonu; "e" antijen varlığı yüksek replikasyon düzeyini göstermektedir. Bu belirteçlerin kan düzeyi kronik enfeksiyon sırasında azalır. Malignite riski; replikatif faz sonrasında gelişen karaciğer hücre hasarına bağlı olarak gelişen kronik hepatit ve siroz ile ilişkilidir.³⁰

Kronik HBV enfeksiyonunun yaygın olduğu bölgeler, Afrika'nın bir çok bölgesi, Güneydoğu Asya ve Çin'dir. Bu bölgedeki HBV ile ilişkili HSK insidansı % 2.7 olarak bildirilmiştir.³⁰ Batı Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya'da virus nadir görülür. Virus prevelansı Japonya, Hindistan, Ortadoğu ve Akdeniz ülkelerinde ise orta düzeydedir. Japonya'da HBV ile ilk karşılaşmadan sonra HSK oluşumu için ortalama geçen süre 50 yıldır.²⁶ İnsanların çoğu doğumda enfektelidirler, bu yüzden Japonya'da HBV ilişkili siroz Batı Ülkeleri ve Kuzey Amerika'dan daha erken dönemde ortaya çıkmaktadır.^{26,30}

Ülke veya bölgeler arasındaki tümör insidansının farklılığı, genellikle HBsAg taşıyıcılık oranındaki farklılıklarla benzerlik gösterir.³¹

HBV Genotipleri

HBV'nin birçok genotipi (A-H) saptanmıştır. HBV genotipleri farklı coğrafi ve etnik dağılımlara sahiptir: Genotip A ve D Afrika, Avrupa ve Hindistanda baskındır, Genotip B ve C Asya'da, Genotip E Batı Afrika'da, Genotip F Orta ve Güney Amerika'da hakimdir. ABD'de siyah ve beyaz popülasyonda Genotip A ve D daha sık görülürken, Genotip B ve C Asya kökenli kişiler arasında sıklık gösterir.³²

HBV genotiplerinin klinik sonuçları etkileyeceği tahmin edilmektedir. Örneğin Asya da yapılan çalışmalarda Genotip C enfeksiyonu ile şiddetli karaciğer hastalığı, siroz, ve HSK arasında daha belirgin bir ilişki varken; Genotip B’de zayıf bir ilişki izlenmiştir. Batı Avrupa ve Kuzey Amerika’da Genotip D’li bireylerde karaciğer hastalığı veya HSK insidansı Genotip A’ya göre daha sıktır.³²

HSK, aşılama programları kullanılarak önlenmesi mümkün olan ilk kanser türüdür. Küresel bir bakış açısıyla HBV enfeksiyon yükünün, 1980’den beri artan HBV aşılama kampanyaları nedeniyle düşmesi beklenmektedir.^{33,34}

2.2.2.2. Aflatoksin

Aflatoksin (AF), dünyanın belirli bölgelerinde primer karaciğer kanserinde önemli bir ajan olduğu düşünülmektedir. *Aspergillus* türü (*A flavus* ve *A parasiticus*) mantarlar tarafından üretilen bir mikotoksin olan AF, sıcak ve nemli koşullarda depolanmış mısır ve fıstık gibi gıdaların üzerinde kolayca yetişir. Özellikle bazı Afrika ve Asya bölgelerinde HSK için önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Aflatoksinler, yaklaşık 20 fungal metabolitden oluşur. Aflatoksin B1 karsinojen olarak en güçlü majör gruptur.³⁵

AF bir kez yutulduğunda aktif ara ürünlere metabolize olur, AFB1-exo-8,9-epoksid DNA ya bağlanarak hasar meydana getirir. AFB1 in karsinojenik etkisi, p53 tümör süpressör geninde serin 249 daki mutasyonlar sonucu olmaktadır.³⁶

2.2.2.3. Alkol

Alkol alımı ile HSK riski arasında doz-etki ilişkisi bulunmamaktadır ancak bazı uzmanlar günlük tüketimin 50-75 gr arasında olmasının HSK için kanıtlanmış risk olduğunu kabul etmektedir.³⁷ Hepatokarsinogenezisde alkolün direkt etkisi gösterilmemiştir ancak tekrarlayan hasar yoluyla yaygın fibrozis ve siroz oluşumunu indirekt olarak etkilemektedir.³⁸ Alkolün neden olduğu kromozomal kayıp, oksidatif stres, karaciğerdeki retinoik asit seviyesindeki azalma, DNA metilasyonu ve kişisel genetik yatkınlık HSK’a yol açan alkol nedenleri olarak kabul edilmektedir.^{37,38}

2.2.2.4. Non-alkolik Steatohepatit

Non-alkolik steatohepatit (NASH) az alkol tüketen veya hiç alkol tüketmeyen bireylerde, histolojik olarak inflamasyonla birlikte görülen makroveziküler steatozu tanımlamak için kullanılan bir terimdir.³⁹ Batılı ülkelerde obezite ve diyabet oranının artması nedeniyle NASH insidansı da yükselmektedir. NASH hastalarının % 20'si siroza ilerleyebilir ve siroz sonrası HSK gelişebilir.⁴⁰ Hedgehog (Hh) aktivasyon yolağının ve NKT (natural killer T) hücrelerinin NASH ilişkili karaciğer fibrozisinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Yağ birikimi nedeniyle oluşan hasara karaciğerin cevabı bu hücreler tarafından düzenlenmektedir. *Bugianesis*, karaciğer NKT hücrelerinin aktivasyonunun çözünür faktörler ürettiği ve hepatik stellat hücrelerin miyofibroblastik aktivasyonunu içeren bir mekanizma aracılığıyla fibrojenin indüklediğini kanıtlamıştır.⁴¹

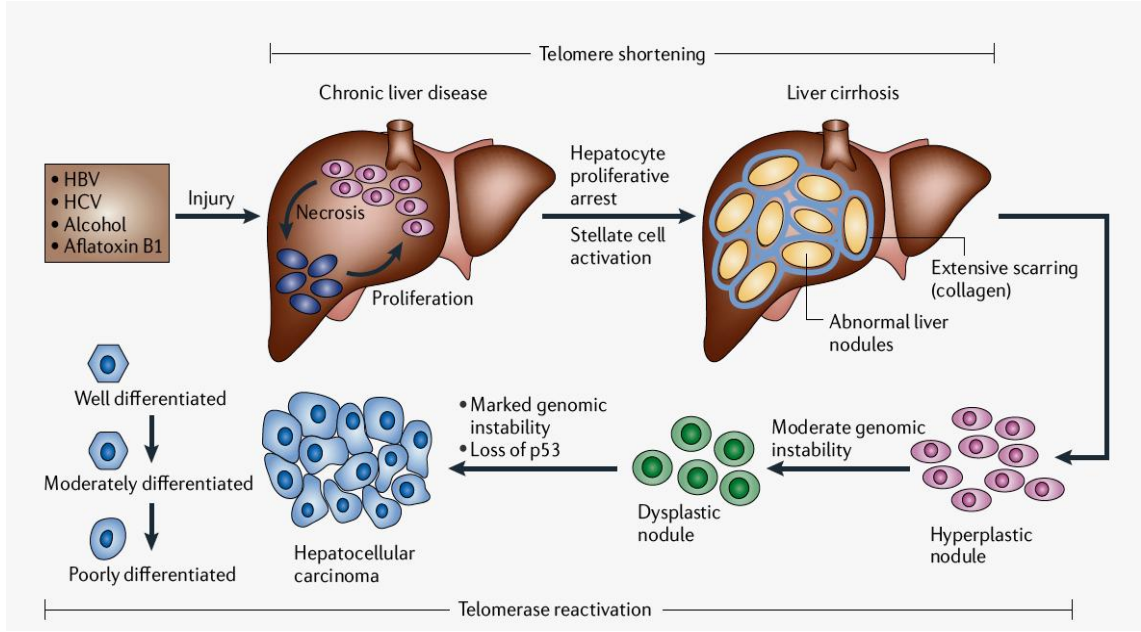
2.2.3. Hepatokarsinogenezin Moleküler Mekanizmaları

2.2.3.1. Hepatokarsinogenez Süreci

Hepatosellüler karsinogenezin çok basamaklı bir süreç olduğu ve bu süreçte dış uyaranların hepatositlerde genetik değişikliklere yol açarak hücre proliferasyonu ve klonal popülasyonların oluşumuna neden olduğu bilinmektedir.²⁰ HSK gelişmesine neden olan moleküler mekanizmalar iyi bilinmemekle birlikte, moleküler düzeydeki çalışmalar hepatokarsinogenezin moleküler mekanizmasının anlaşılmasını kolaylaştırmaktadır.⁴²

Hepatokarsinogenez; kromozomal, genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimini içeren çok basamaklı bir süreçtir (Şekil 5).⁴³⁻⁴⁵ Bu değişiklikler, hücre siklusunu kontrol eden bazı önemli sinyal yolları, proliferasyonu ve hücre döngüsü ile ilgili proteinleri etkiler.

Hepatosellüler karsinomda moleküler çalışmalar, hedefe yönelik tedavi seçeneklerini keşfetmek için ve medikal tedavinin bireyselleştirilmesi açısından önemlidir. Moleküler çalışmalar klinik patoloji için gelecekteki teknolojik platformu oluşturacaktır.⁴⁵



Şekil 5. Hepatosellüler karsinomda moleküler patogenezis.⁴⁵

Hepatosellüler karsinomda;⁴⁵

- 1- Tüm genom sekanslama,
- 2- Exome sekanslama,
- 3- Mikro RNA ekspresyon profili,
- 4- Mesajcı RNA ekspresyon profili literatürde son yıllarda üzerinde durulan moleküler araştırma konuları arasındadır.

2.2.3.2. Hepatokarsinogenez Sürecinde Yer Alan Sinyal Yolakları

Wnt- β -Katenin sinyal yolağı

Bu yolaktaki mutasyon HSK olgularının % 20-40'ında tariflenmiştir. Wnt- β -katenin sinyal yolağı karaciğer gelişiminin tüm evrelerinde; kök hücre yenilenmesinde, zonasyonda, hücre adezyonunda, proliferasyonda, diferansiasyonda, karaciğer rejenerasyonunda ve epitelyal-mezenkimal geçişte önemli rol oynar.^{46,47} HSK, β -katenin N-terminal bölgesindeki mutasyon ile ortaya çıkar. Bu mutasyon protein stabilizasyonuna ve β -katenin/TCF kompleksi ile transkripsiyonel aktivitenin yükselmesine neden olur.⁴⁸ β -catenin mutasyonu HSK etyolojisi ile korele gibi görünmektedir. HBV ve HCV ilişkili HSK'larda β -katenin mutasyon oranları hala tartışmalıdır. HBV'li hastalarda, β -katenin mutasyonu düşük sıklıkta bulunmaktadır,

oysa HCV ilişkili HSK'da oran % 40'ın üzerindedir. HBV negatif hastalarda mutasyon, kromozom stabilitesi ve genetik değişiklik ile ilişkilidir.⁴⁶

TP53 Tümör Süpressör Gen

TP53 mutasyonu ile HSK arasında güçlü bir ilişki vardır. HSK'da mutasyona uğramış en tutarlı tümör süpressör genin TP53 olduğu kabul edilmektedir. Bu gen HSK'ların % 30-50'sinde bulunur.^{49,50} HSK'da TP53 mutasyonunun tipi ve sıklığı coğrafi bölgelere göre değişmektedir. Diyetteki aflatoxin B1 (AFB1) maruziyeti 249. kodondaki G-T transversiyonunu indükler ve dolayısıyla R249S aminoasiti oluşur.⁵¹ HBV ve HCV virüsleri ile kronik enfeksiyon ve hemokromatozis dahil oksiradikal bozuklukları, ayrıca reaktif oksijen/azot türleri hem DNA hasarına hem de TP53 gibi kanserle ilişkili genlerde mutasyonlara neden olmaktadır. AFB1 maruziyeti olmayan coğrafi bölgelerde HSK'lardaki TP53 mutasyon oranı % 20 olarak bulunmuştur.⁴⁶

İnsulin-Like Growth Faktör (IGF) Sinyal yolağı aktivasyonu

IGF sistemi iki ligand, IGF-I ve IGF-II; üç hücre-membran reseptörü, IGF-I reseptör (IGF-IR), insulin reseptör (IR), ve IGF-II reseptör (IGF-IIR); altı yüksek affiniteli IGF bağlayıcı proteinlerden (IGFBP-1 den 6 ya kadar) oluşmaktadır.⁵² IGF-1 ve IGF-2 reseptörlerinin aşırı ekspresyonu (IGF-1R/2R) ve IGF-bağlayıcı proteinlerin susturulması (IGFBP-1-5) hücre proliferasyonu, antiapoptozis ve invaziv davranış gibi moleküler olayların başlamasına neden olur.⁵³ HSK'da bu sinyal yolağının aktivasyonu promoter-spesifik imprinting de kayıp ve fetal promoterlerde reaktivasyon tarafından başlatılır, IGF-bağlayıcı proteinin azalmış ekspresyonu ve/veya IGFII-2R'nün aktivasyonu, IGF-II degradasyonuna aracılık eder. Bu sinyal yolağına terapötik ilgi mevcuttur, çünkü IGF-II overekspresyonunun blokasyonu ile HSK gelişimi inhibe edilmektedir. Anti IGF-II antikoru yada tirozin kinaz inhibitörleri ile HSK'da hücre proliferasyonu, apoptozda artış olmadan azaltılabilmektedir.⁵⁴

P13/PTEN/AKT

Bu yolak, proliferasyon, apoptoz, farklılaşma, hücre hareketi, hücre siklus progresyonu, tümör büyümesi, anjiogenez gibi çeşitli hücresel süreçlerde yer

almaktadır.⁵⁴ İn vitro deneylerde bu yolağın, MMP-9 ekspresyonunun arttırılması yolu ile HSK’da stromal invazyonda rol oynadığı gösterilmiştir.⁵⁵

2.2.4. Prekanseröz Değişiklikler

Displastik lezyonlar (displastik odak ve nodüller) ve küçük kanseröz lezyonlar (≤ 2 cm) hepatokarsinogenezis süresince morfolojik olarak saptanan lezyonlardır.⁵⁷

Sirotik karaciğerde izlenen prekanseröz lezyonlar daha çok displastik nodül şeklinde iken, non-sirotik karaciğerde displastik odak, adenom ve fokal nodüler hiperplazi şeklinde görülmektedir. Kronik karaciğer hastalığında görülen nodüler lezyonlar gelişimsel, genetik altyapı ve progresyon özelliklerine göre 2 grupta toplanırlar (Tablo 1):⁵⁸

Tablo 1. Kronik Karaciğer Hastalığında Görülen Nodüler Lezyonlar

1. Rejeneratif nodüller: monoasiner (0.1-10 mm çapında) ve multiasiner
(≥ 2 mm) rejeneratif nodüller Mikro- makro- sirotik nodüller Segmental/lobar hiperplazi Fokal nodüler hiperplazi
2. Displastik- neoplastik nodüller:
Hepatosellüler adenom Displastik odak Displastik nodül Hepatosellüler karsinom

Rejenerasyon nodülleri nekroz, dolaşım bozuklukları ve diğer uyaranlara sekonder gelişirler. Monoasiner nodül bir, multiasiner nodül ise birden fazla portal alan içerir. Sirotik nodüller kısmen yada tamamen fibrozis ile çevrili nodüllerdir ve mono ya da multiasiner tipte olabilirler. Sirotik karaciğerde görülen nodüller, hepatositlerin kayıplarını yerine koyabilmek için sürekli rejenerasyon ile oluşur.^{58,59}

Makrorejeneratif nodül çevre nodüllerden daha büyük, radyolojik olarak da saptanabilen bir lezyondur. Ancak histolojik ve genetik olarak çevredeki diğer nodüllerden farklılık göstermez. Sirotik karaciğerdeki sürekli rejeneratif aktivitenin moleküler değişiklikler için zemin hazırladığı ve bu nedenle HSK’un kronik hepatit ve sirozlu hastalarda daha fazla görüldüğü bilinmektedir. Belirli düzeyde moleküler

değişiklik olduğunda karaciğer parankiminde "prekanseröz" kabul edilebilecek sitolojik ve yapısal farklılaşmalar görülür.^{58,59}

Uluslararası Çalışma Grubu (International Working Party- IWP) 1995 yılında karaciğerdeki prekanseröz displastik lezyonları tanımlamıştır (Tablo 2).^{58,59}

Tablo 2. Karaciğerde Displastik Lezyonlar- IWP 1995⁵⁸

1- Displazi-Sitolojik Değişiklik
a) Büyük hücre değişikliği
b) Küçük hücre değişikliği
2- Displastik Odak
< 1mm çapında aşikar malignite bulguları izlenmeyen displastik hepatosit topluluğu
3- Displastik Nodül
≥ 1mm çapta aşikar malignite bulguları izlenmeyen displastik hepatositlerin oluşturduğu nodüler lezyon
a) Düşük dereceli Displastik Nodül- hafif atipi
b) Yüksek dereceli Displastik Nodül- orta- ağır atipi bulguları ancak HSK tanısı için yetersiz

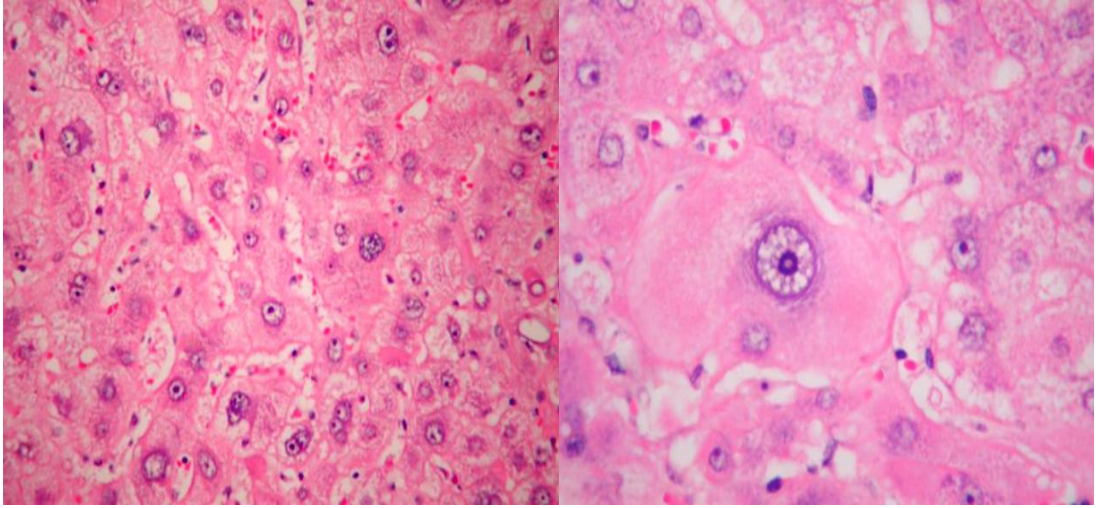
2.2.4.1. Sitolojik Atipi-Displazi

Büyük hücre değişikliği: nükleus sitoplazma oranının korunduğu, belirgin pleomorfizm, multinükleasyon, çarpıcı nükleol varlığı ile karakterli değişikliktir (Şekil 6). Genellikle gruplaşma göstermez, ağınık olarak izlenir. HBV ile birliktelik oranı yüksektir. Normal karaciğerde yaşlanmaya bağlı bir değişiklik olarak da izlenmekle birlikte HSK'lu karaciğerde görülme oranları daha yüksektir. Genetik analizlerde HSK ile benzer kromozomal değişiklik saptanamamıştır. Proliferasyon oranı düşük replikasyon defekti ile karakterli polipoid hücrelerdir. Bu nedenle terminal diferansiye hepatositlerde görülen adaptif bir değişiklik olarak kabul edilmiştir. Prekanserözden çok perikanseröz bir hücresel değişiklik olarak düşünülmektedir.⁶⁰

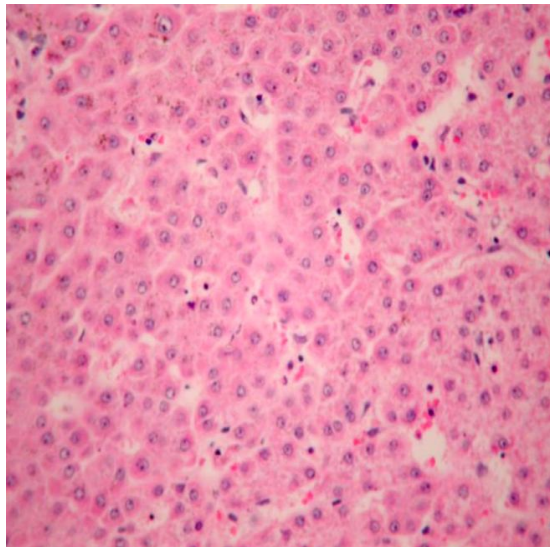
Küçük hücre değişikliği: nükleus sitoplazma oranı, nükleus lehine değişmiş, hiperkromatik nükleuslu, bazofilik sitoplazmalı uniform hücrelerdir (Şekil 7). Biyopsilerde diffüz ya da fokal olarak görülebirlirler. Küçük büyütmelelerde nükleer kalabalıklaşma, hücresel yoğunlukta artış olarak algılanırlar.⁵⁹ Diffüz olarak primer bilier siroz, primer sklerozan kolanjit gibi kolestatik hastalıklarda, otoimmün hepatitlerde saptanırlar ve rejenerasyonun bir parçası oldukları düşünülmektedir. Bir odak oluşturacak şekilde fokal görülmeleri ise gerçek neoplastik bir değişiklik olarak

kabul edilmektedir. Bunda hiperproliferatif bir odak olmaları ve genetik analizlerde HSK'larla benzer kromozomal değişiklikleri göstermeleri yanısıra HSK'ların kökeni olabileceği düşünölen progenitör oval hücre ile benzer immünprofili (CK7, CK19 gibi) göstermeleri etkindir.^{58,59}

Displazi göstergesi olan diğer histolojik bulgular: primer hemokromatoziste demir içermeyen odaklar, fokal yağlı değişiklikler ve hepatosit kümelerinde Mallory cisimciği varlığıdır.⁶¹ Berrak hücre –glikojen depolayan- odakları (hepatosit kümelerinde glikojen birikimi) ve onkositik odaklar sirozlu KC de yaygındır ancak premalign davranış için yeterli kanıt yoktur.⁶²



Şekil 6. Büyük hücre değişiklikleri



Şekil 7. Küçük hücre değişiklikleri

2.2.4.2. Displastik Odaklar

Displastik odaklar mikroskopik lezyonlardır, kronik karaciğer hastalıklarında özellikle sirozda, displastik hepatositlerin oluşturduğu, boyutu 1mm'den küçük lezyonlardır. Displastik odaklar karaciğer biyopsilerinde veya rezeksiyonlarında tesadüfen tanınır, makroskopik olarak saptanamazlar.⁵⁹ Displastik hepatositler; küçük hücre değişiklikleri ya da büyük hücre değişiklikleri ve ayrıca displastik nodülde görülen sitolojik anormallikleri gösterebilir.⁶²

2.2.4.3. Displastik Nodüller

Displastik nodüller (DN) genellikle sirotik KC de tespit edilir, fakat bazen siroz olmadan kronik KC hastalığında da bulunur.^{62,63} DN çevre KC parankiminden rengi, kıvamı ve kesit yüzü farklı olan nodülerdir, çapı en az 1mm ve daha büyüktür, tek veya birden çok olabilirler. Büyük-küçük hücre değişikliği, nükleer hiperkromazi, kontur düzensizliği, hepatosit kordonlarında kalınlaşma, seyrek psödoglandüler yapı izlenebilir. Uluslararası konsensusa⁵⁹ göre, DN atipi derecesine bağlı olarak, düşük- ve yüksek- dereceli DN olarak sınıflandırılır.

Düşük dereceli DN: Hücreler normal yada minimal nükleer atipi ve hafif artmış nükleus/sitoplazma (N/S) oranına sahiptirler. Büyük hücre değişiklikleri bulunabilir, bu değişiklikler hem nükleer hem sitoplazmik büyüme, nükleer pleomorfizm ve multinükleasyon ile karakterizedir. Sirotik karaciğerlerde displastik nodüle eşlik eden ya da etmeyen büyük hücre değişikliği % 70 oranında izlenir. Ancak küçük hücre değişiklikleri görülmez. Sitolojik atipi hafiftir ya da yoktur, mitoz izlenmez.⁵⁸ Malignite tanısı için önemli olan nükleer kalabalıklaşma çevre hepatositlerin 1.5 katından azdır ve kordon kalınlığı iki hücreyi aşmaz. Hemosiderozis görülebilir. Düşük dereceli DN'de esas olan portal traktların korunması ve arşitektürel atipinin olmamasıdır.^{57,58,64}

Yüksek dereceli DN: Orta derecede sitolojik atipi mevcuttur. Sitolojik atipi; nükleer hiperkromazi, hafif nükleer kontur düzensizlikleri, sitoplazmik bazofili veya berrak hücreli değişim, yüksek N/S oranı ve arada mitotik figürlerin varlığı ile karakterizedir.⁶³ Çevre sirotik nodüller ile karşılaştırıldığında ortak özelliği genellikle irregüler trabeküler patern ile beraber artmış sellüleritedir. Nodül içerisinde küçük hücre değişiklikleri sıklıkla görülür ama büyük hücre değişiklikleri içeren odaklar da tespit edilebilir.⁵⁷ Portal alanlar yoktur yada çok azdır. Mallory Denk hyalinler, aberan demir

veya yağ depozitleri izlenir. Nodül içinde nodül gibi arşitektürel atipi gösterir. Arteriollerin kapillerlere oranı artmıştır. Bu nodüllerde küçük hücre değişiklikleri sık olarak izlenir. Bu değişiklikler hücre boyutunda küçülme hücre platelerinde kalabalıklaşma (2 ya da daha fazla sıralı plateler), N/S oranında artma ve nükleer pleomorfizm olarak özetlenebilir.^{57,64}

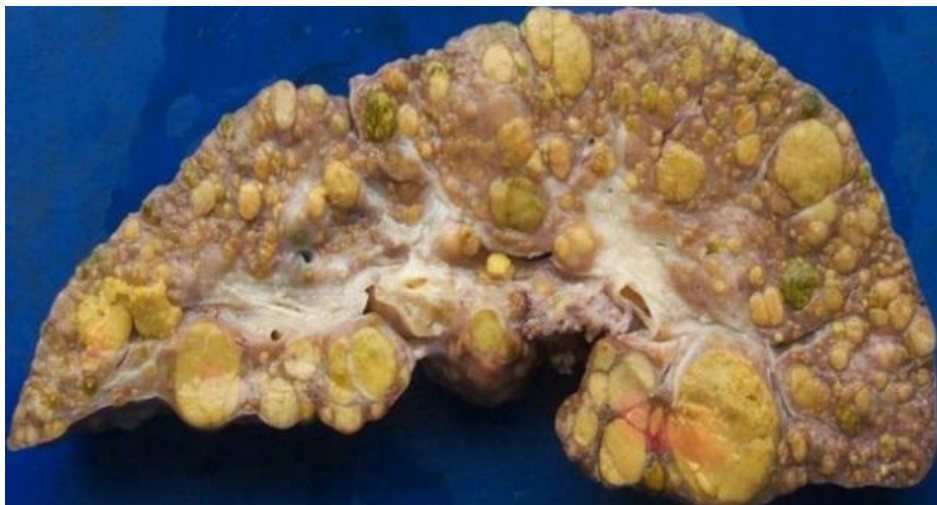
2.2.5. Hepatosellüler Karsinomda Makroskopi

Makroskopik olarak HSK'ların kesit yüzeyi sarı-beyaz renkte, bazen safra varlığı nedeni ile yeşilimsi renkte, kanama yada nekroz alanları bulunduran kitleler şeklindedir.

Tablo 3. Makroskopik Egge Sınıflaması⁵⁶

a. Nodüler tip
Ünifokal
Multifokal
b. Masif tip
c. Diffüz infiltratif tip

Nodüler tip genellikle siroz zemininden köken alır, ünifokal nodüler tip keskin sınırlı tek bir nodül iken, multifokal tip tüm karaciğerde dağılmış, farklı büyüklüklerde çok sayıda tümör nodülü şeklindedir (Şekil 8).⁵⁶



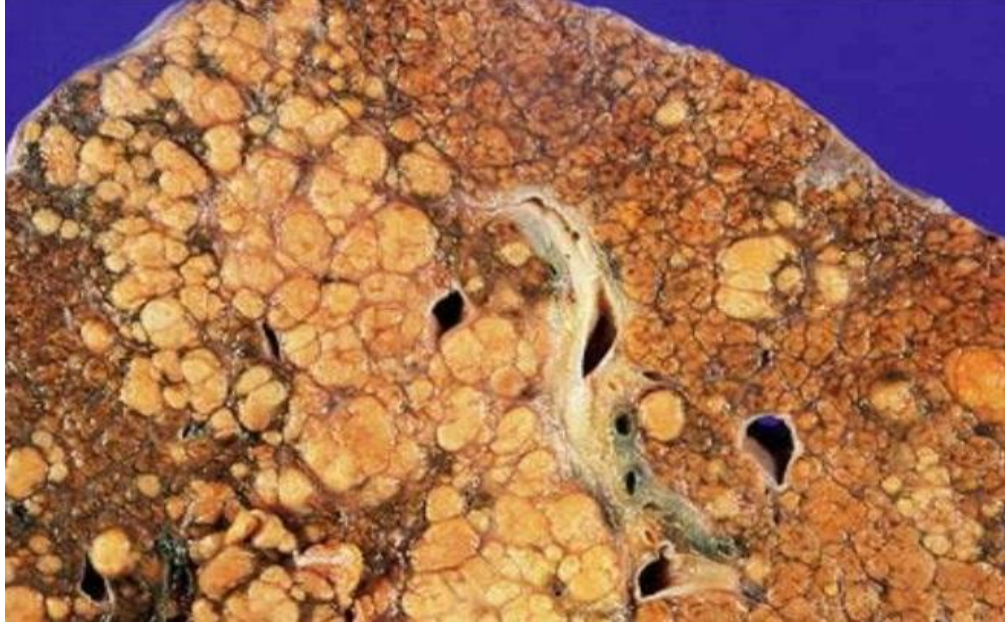
Şekil 8. Hepatosellüler karsinom, Nodüler tip⁵⁶

Masif tip tüm lobu kaplayan sınırları düzensiz tek ve büyük kitleler halindedir. Satellit nodüller içerebilirler. Nodüler tip çok büyüyerek tüm lobu kaplayabilir ve masif tip haline dönüşebilir. Genellikle masif tip non-sirotik karaciğerden köken almaktadır (Şekil 9).⁵⁶



Şekil 9. Hepatosellüler karsinom, Masif tip⁵⁶

Diffüz (infiltratif) tip, sirozla birlikte görüldüğünde makroskopik olarak tanınması güç olabilir. Tüm karaciğerde veya bir lobun tamamında çok sayıda küçük nodüllerin proliferasyonu şeklinde gelişir (Şekil 10).⁵⁶



Şekil 10. Hepatosellüler karsinom, Diffüz infiltratif tip⁵⁶

2.2.6. Erken Hepatosellüler Karsinom

Mikroodak şeklinde ($< 1\text{mm}$) yada küçük bir nodül olarak ($< 2\text{cm}$) belirgin atipi bulguları ve malignite tanısı için aşık sitolojik ve histolojik bulguları olan lezyonlardır. Makroskopik olarak 2 cm'den küçük HSK'lara "küçük HSK"da denir. Bunlar genellikle displastik nodül içinde nodül şeklinde izlenirler. Özellikle nükleer yoğunluğun 2 katından fazla ve hepatosit kordon kalınlığının 3'den fazla olması gereklidir.^{65,66} Belirgin histolojik ve sitolojik bulgular gösterirler. Tümör hücrelerinde küçük, düzensiz, ince trabeküler bir dizilim ya da pseudoglandüler patern izlenebilir. Bazen tümöral hücrelerde yağlanma bulguları olur. Çevredeki portal alanlara bası yaparlar veya invazyon oluştururlar. Ancak stromal invazyonları çok belirgin değildir. İnkomplet sinüsoidal kapillarizasyon izlenebilir. Bu tür küçük HSK'larda safra duktusunun eşlik etmediği arter-nontriadal/arter- sayısında artış (>5 arterX40) ve sinüzoidal kapillerizasyonun diffüz olarak saptanması ve vasküler intrahepatik yayılım gözlenebilir.^{65,67} Küçük HSK'lar için Avrupa Çalışma Grubu (EASL) 1 cm'den küçük şüpheli nodüllerin radyolojik izlemde tutulmasını, 1-2 cm'lik nodüllerde biyopsi tanısını, 3 cm'lik hipervasküler nodüllerde ise biyopsi tanısı olmaksızın HSK olarak kabul edilmesini önermektedir.⁶⁸

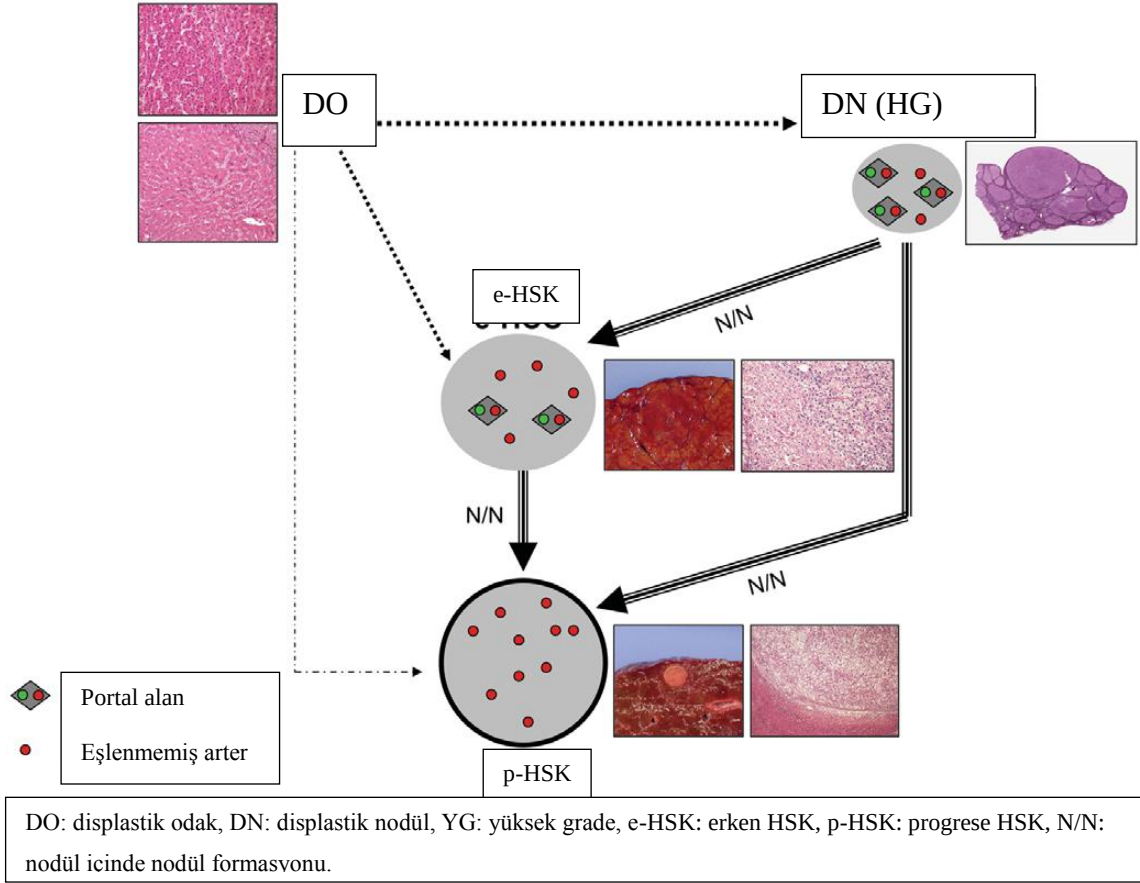
Tablo 4. Sirozda Nodüllerin Ayırıcı Tanısı

Özellik	Makronodül	Düşük DDN	Yüksek DDN	Erken HSK
Hepatosit büyüklüğü	Sirotik nodüle benzer	Sirotik nodüle benzer	Normale yakın veya daha küçük	Çeşitli (büyük veya küçük)
Küçük hücre değişikliği	Yok	Nadir	(+)	(++)
Onkositik değişiklik	+/-	+/-	(-)	(-)
Mitoz	Nadir	Nadir	Bir kaç	Yaygın
Hücre kalınlığı	(-)	(-)	+/-	+
Retiküler çatı	Sağlam	Sağlam	Hafif kayıp	Kayıp
Demir (nodülün periferinde)	+/-	+/-	+/-	-

Küçük ve erken HSK: Küçük, belli belirsiz nodüler lezyonlardır, tümör ve tümör olmayan bölge arasında fibröz kapsül inkomplettir ya da yoktur. Artmış hücresellik ve N/S oranı, düzensiz ince trabekül yapıları, dağınık intratümöral portal alan varlığı ve steatoza (% 40) sık rastlanır. Tüm bu atipik özellikler tek başına ya da kombinasyon halinde bulunur. Retikülün, çevre doku ile karşılaştırıldığında belirgin olarak azalmıştır ya da yoktur ama aynı zamanda retiküler çatı korunmuş da olabilir. Yüksek dereceli displastik nodül ayırıcı tanıda yer almalıdır. İyi diferansiye hepatositlerin portal alanda ya da fibröz septa üzerinde stromal invazyonun görülmesi malignite için yararlı bir ipucu oluşturmaktadır. Mikroskobik vasküler invazyon görülmez.^{57,62}

Küçük ve ileri HSK: HSK'a progresyondan önceki displastik odaktan, nodülden yada erken bir HSK lezyonundan gelişmektedir. Morfolojik olarak destrüktif ve itici büyüme paterni, sık mikroskobik vasküler invazyon görülür. Portal alanlar izlenmez ve tümör kapsülü gibi fibrozis ile çevrili ekspansil sınıra sahiptir.⁶²

Hepatokarsinogenezis ile ilişkili olduğu düşünülen ana lezyonları özetleyen bir şematik diyagram Şekil 11'de özetlenmiştir.⁵⁷



Şekil 11. Hepatokarsinogenezisde meydana gelen makroskopik ve mikroskopik lezyonlar.⁵⁷

2 cm'in altında çapa sahip erken HSK'larda patolojik tanı false-negativite oranı % 40'dır. Non-invaziv kriterlerde, örneğin görüntüleme yöntemlerinde tümör 2 cm'in üstündeki çaplara eriştiğinde tanı konulabilir. Yine de gen transkripsiyonunu tayin eden potansiyel biyomarkerlar vardır. Bu genler: HSP70, Glipikan 3, TERT, PDGFRA, Fosfolipazlar, PGCP, IGF2, TOP2A, STK15'dir.

Son yıllarda "Belli-Belirsiz Nodüler Küçük HSK" terminolojisi de literatüre eklenmiştir. Buna "Erken HSK" da denir (Japonya ekolü). Tanıda en yardımcı kriter tümörün portal alanları veya sirotik septumları infiltre ettiğinin gösterilmesidir. Nodüler tip Küçük HSK'da portal ven invazyonu % 10-27 oranında görülürken Belli-Belirsiz Nodüler Küçük HSK'da bu oran % 0-5'dir. Nodüler tip küçük HSK ve Belli-Belirsiz Nodüler Küçük HSK arasındaki farklılıklar Tablo 5'de verilmiştir.^{60,62,66}

Tablo 5. Nodüler Tip Küçük HSK ve Belli-Belirsiz Nodüler Küçük HSK Arasındaki Farklılıklar

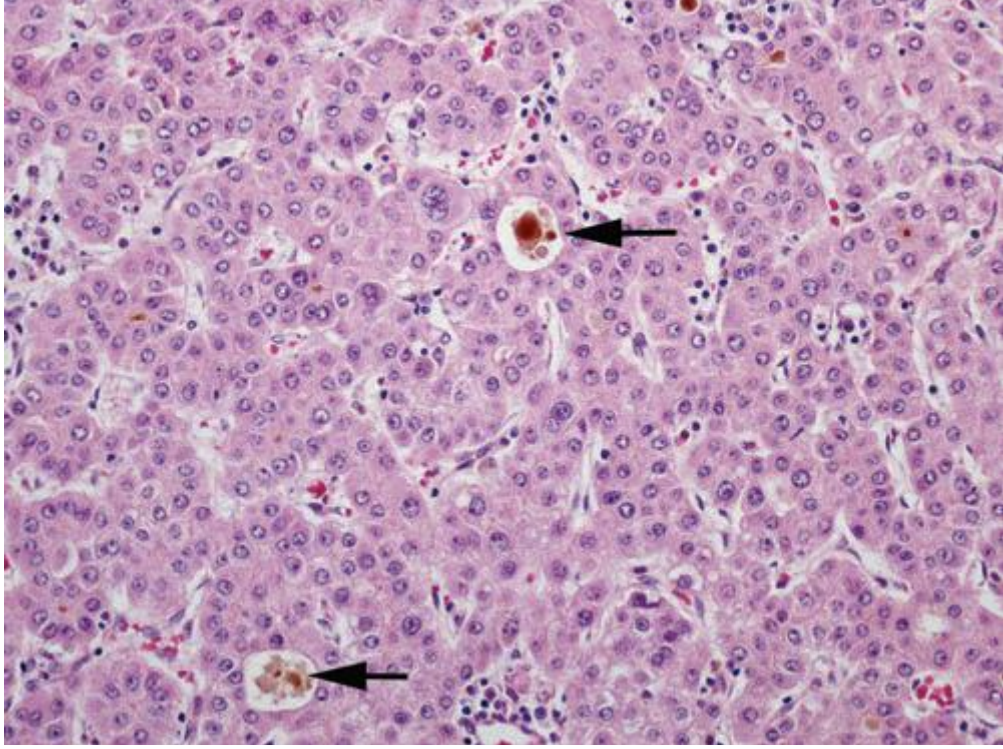
	Nodüler tip küçük HSK	Belli-Belirsiz Nodüler küçük HSK
Ortalama tümör çapı	16.0±3.3 mm	11.9±3.3 (8-20) mm
Çevre dokuda siroz	% 64	% 93
Kapsül	% 53	% 0
Portal alan	Yok	Var, deforme ve çevrenin 1/3'ünden az
Histolojik grade		
İyi diferansiye	% 42	% 85
Orta diferansiye	%58	% 0
Hücre popülasyonu	Küçük veya büyük üniform hücrelerden oluşan iyi diferansiye nodül içinde bir veya daha fazla daha az diferansiye nodül	İyi diferansiye, nükleus sitoplazma oranı yüksek küçük hücreler, diffüz veya fokal yağlı değişiklik olabilir
Hücre büyüme paterni	Trabeküler, kompakt veya skirröz olabilir	Düzensiz ince trabeküler ve sıklıkla arada psödoglandüler yapılar
Eşleşmemiş arterler	Kolay fark edilir sayıca daha çok	Sayıca çok az
Portal ven invazyonu	% 27	% 5
İntrahepatik metastaz	% 10	% 0
Anjiografi	Hipervasküler	Hipovasküler

2.2.7. Hepatosellüler Karsinom Histolojisi

Histolojik olarak HSK nin önemli özelliği normal karaciğer dokusuna benzerliğidir, her ikisinde ‘plate-like’ büyüme paternine sahiptir.⁶⁹ HSK’lar genellikle hipervasküler lezyonlardır, yapısal ve sitolojik özelliklerine bağlı olarak farklı derecelerde hepatosellüler diferansiyasyon gösterirler.⁶⁷⁻⁶⁹

Sitolojik olarak tümöral hepatositler; poligonal, eozinofilik granüler sitoplazmalı, yuvarlak nükleuslu ve belirgin nükleoluslara sahip hücrelerdir. Hepatosellüler diferansiyasyon iyi olursa tümör hücrelerinde hücre membranı belirgin, sitoplazma eozinofilik ve ince granüler görünür.⁶⁷⁻⁶⁹ Tümör hücre sitoplazmalarında ve kanaliküller içerisinde safra izlenebilir (Şekil 12). Bu görünüm HSK için tipiktir ve ayırıcı tanıda önemlidir. Hücre pleomorfizmi, diferansiyasyon derecesine göre değişir. HSK nin çeşitli varyantları hepatosellüler proliferasyonun sitolojik özelliğine göre tanımlanmıştır. Şeffaf hücreli varyant yağlı ya da glikojen içeren berrak hücrelerden oluşur. Skirröz HSK de tümör hücreleri genellikle küçük boyutlu, granüler eozinofilik sitoplazmalı, veziküler nükleuslu ve belirgin nükleolusludur.⁷⁰ Sarkomatoid HSK, iğsi şekilli yada dev tümör hücrelerinden oluşan sarkomatöz komponent ile karakterizedir.⁷¹

Skleroze HSK nadir bir varyanttır, diffüz fibröz stromada sıkışmış halde malign hepatositler ile karakterizedir. Bu varyant daha yaşlı hasta grubunda görülme eğilimindedir, erkek ve kadınları eşit etkiler ve hiperkalsemi ile ilişkili olabilir.⁷²



Şekil 12. Dilate safra kanalları içerisinde izlenen safra pigmenti

Hepatosellüler karsinom WHO’ da çeşitli histolojik paternlere ayrılmıştır:⁷³

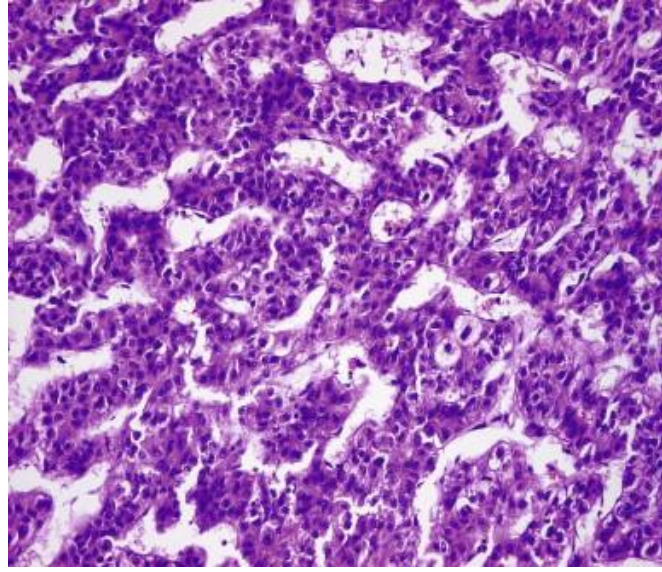
Trabeküler patern: En yaygın paterndir ve sinüzoidal patern olarak da bilinir. Bu varyantta tümör morfolojisi normal karaciğer mimarisini taklit eder ancak önemli farklılıklar vardır. Trabeküler HSK’da hücre plateleri, normal ya da rejeneratif karaciğer hücre plateleri ile karşılaştırıldığında daha kalındır ve üç yada daha fazla hücre tabakasından oluşur (Şekil 13).

Asiner patern: Asiner patern aynı zamanda psödoglandüler veya adenoid patern olarak da adlandırılır, trabeküler paternden daha az görülür. Bu varyantın tanımlayıcı özelliği hepatositik tümör hücreleri ile döşeli gland benzeri yapıların ve asinüslerin varlığıdır. Bu asiner yapılar safra kanalikül dilatasyonu veya genişlemesi ile oluşur ve

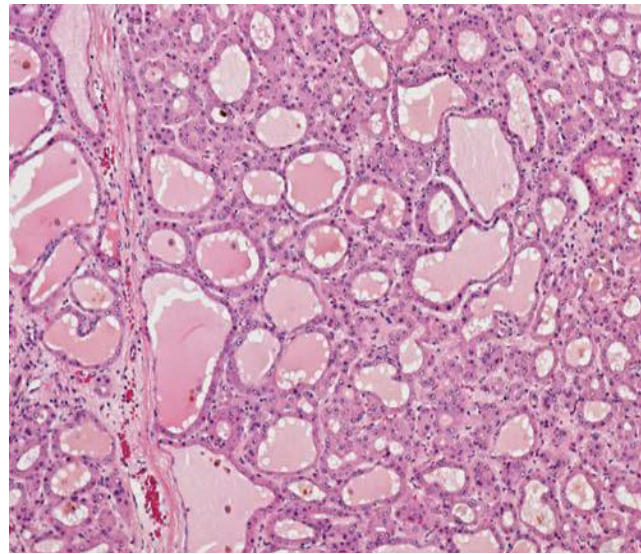
genellikle safra veya proteinöz materyal bulundururlar. Gland benzeri alanlar adenokarsinom ile ayırıcı tanıda yanılmalara yol açabilir (Şekil 14).

Solid patern: Nadir bir varyanttır ve tümör hücrelerinin dens agregatlar oluşturması ile karakterizedir (Şekil 15).

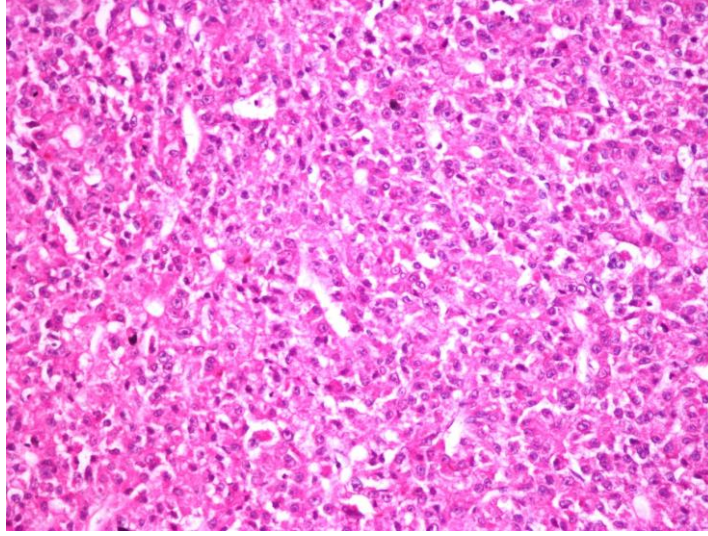
Skiröz patern: Fokal yada diffüz olarak fibrozisin belirgin olduğu alanlar içerir ve diğer paternler ile ilişkili olabilir. Skiröz HSK ile fibrolameller HSK arasındaki ayırım karakteristik sitolojik özelliklere ve klinik duruma göre yapılmaktadır.



Şekil 13. Hepatosellüler karsinom, trabeküler patern (H/E X100)



Şekil 14. Hepatosellüler karsinom, asiner (psödoglandüler) patern (H/E X100)



Şekil 15. Hepatosellüler karsinom, Solid patern (H/E X200)

Hepatosellüler Karsinom Gradelendirme; azalan sitolojik diferansiasyona göre yapılmaktadır (Edmondson-Steiner Sınıflaması);⁷⁴

Grade 1: Adenomdan ayırmak güç,

Grade 2: Belirgin nükleol, hiperkromazi, nükleus düzensizliği,

Grade 3: Belirgin nükleer pleomorfizm, nükleusda köşelenme,

Grade 4: Anaplastik ve dev hücreler.

Hepatosellüler karsinom ayırıcı tanısında kullanılan marker'lar⁷⁵

1- Hepatositer diferansiasyon markerları

- a- Hepatosit eksport proteinleri
- b- Safra kanalikülünü boyayan markerlar
- c- Hepatositer sitokeratinler

2- Bilier diferansiasyon markerları

3- Sinüzoidlerin kapillerleşmesini gösteren markerlar

Hepatosit eksport proteinleri: Alfa-1 Antikimotripsin (Nonspesifik), Alfa-1 Antitripsin (Nonspesifik), AFP, Albümin, Ferritin, Hepatosit markerı (mitokondriyal antijen), ERY-1 (Eritropoezis associated antijen, % 95 spesifik)

Safra kanalikülünü belirleyen markerlar (Bilier glikoprotein ile çapraz reaksiyon): Poliklonal CEA, CD10 (Daha iyi boyanma kapasitesi gösterir)

Hepatositer sitokeratinler: CK8, CK18

Bilier diferansiasyon markerları

Bilier sitokeratinler: CK7, CK19

EMA: apikal boyanma

Mukus markerları

Kolanjiosellüler karsinom: CK7 (+), CK20(-)

Kolorektal karsinom metastazı: CK7(-), CK20(+)

Sinüzoidlerin kapillerleşmesini gösteren markerlar

CD34

Faktör VIII

Laminin

Kollojen tip IV

Düz kas aktini+perisinüzoidal hücre varlığı

2.3. Kombine Hepatosellüler Kolanjiyo-Karsinom

Zeminde siroz bulunabilir veya bulunmayabilir. Klinik özellikleri hepatosellüler karsinomaya benzer. Histopatolojisinde kolanjiyokarsinoma ve HSK özelliklerini taşıyan iki tip hücre içerir.⁷⁶ Hepatositler ve biliyer yönde diferansiasyon gösteren tümörlerdir. Aşık bir hepatositer diferansiasyon gösterebilir (trabeküler patern, safra yapımı, bilier kanaliküllerin hepatosit markerları ile pozitif boyanması gibi). Bazen kübik bilier tip epitel ile döşeli adenoid yapılar içerir.

Hepatokolanjiyokarsinom İHK'sı;

Hepatositer diferansiasyon: CK7(-), CK19(-), CK20(-), pCEA kanaliküler (+), hepatosit markerları (+), mRNA albümin (+).

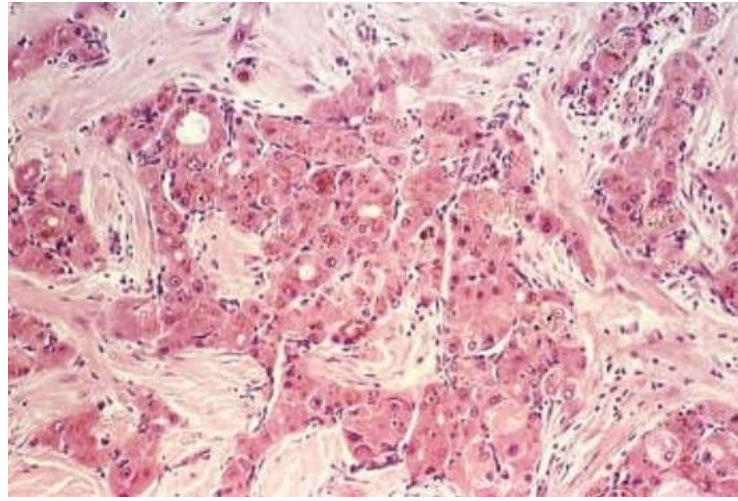
Bilier diferansiasyon: CK7(+), CK19(+), CK20(-), pCEA sitoplazmik (+), hepatosit markerları (+), mRNA albümin (+).

2.4. Hepatosellüler Karsinom, Fibrolamellar Varyant

Fibrolamellar varyant HSK (FLHSK) klasik HSK nadir bir histolojik varyantıdır. Bütün HSK vakalarının % 10'undan azını oluşturmakta ve tipik olarak genç yetişkinlerde, altta karaciğer inflamasyonu ve fibrozis olmadan gelişmektedir.⁷⁶ FLHSK

farklı klinik, histoloji ve prognostik özelliklere sahiptir. FLHSK'de 5 yıllık yaşam süresi % 32 iken, klasik HSK'de % 7 kadardır.⁷⁷

Makroskopik olarak tam ya da tam olmayan psödokapsül içeren, kesit yüzü çevre dokulardan kabarık, fokal olarak safra ile boyanmış alanlar ve bazen fokal nodüler hiperplaziyi anımsatan yıldızsı santral skar dokusu içerebilir. Histopatolojik olarak bu tümörler genellikle iyi sınırlı, iyi differansiye, eozinofilik ve granüler sitoplazmalı poligonal hepatik hücreler ve bunları saran kalın fibröz stroma ile bandlar halinde düzenlenmiştir. Siroz zemininden gelişmez. FLHSK'in moleküler patogenenezi hakkındaki bilgiler ise oldukça sınırlıdır.⁷⁸ AFP seviyelerindeki yükseklik FLHSK'de nadir görülmektedir. Buna karşın nörotensin, vitamin B12 bağlama kapasitesi, des-gamma-karboksi protrombin yükselmeleri bildirilmiştir. FLHSK Batı ülkelerinde Asya ülkelerine göre daha sık görülmektedir.^{79,80}



Şekil 16. Hepatosellüler karsinom, fibrolamellar varyant (H/E X200)

2.5. EZH2, Bmi-1, HSP 70, CAP2 VE Glutamin Sentetaz Proteinleri

2.5.1. EZH2 ve Bmi-1

Hücre türüne özgü gen ekspresyon profilleri, kromatin yapısındaki değişiklikler ve DNA metilasyon paternlerine göre stabilize edilir. Polycomb group proteinleri (PcG) multiprotein kompleksidir ve epigenetik kromatin modifikasyonları aracılığı ile hücresel hafıza sistemi olarak hizmet ederler.^{81,82}

Şimdiye kadar, iki büyük *polycomb* grup kompleksi tanımlanmıştır. *Polycomb repressive* kompleks 1; Bmi-1, RNF110/MEL18, HPH, CBX2/HPC1, Ring1A ve Rind1B proteinlerinden oluşur. *Polycomb repressive* kompleks 2; EED, EZH2 ve SUZ12 proteinlerini içerir. *Polycomb repressive* kompleks 1 ve *polycomb repressive* kompleks 2 sırasıyla H2A-K119 ubiquitin E3 ligase aktivitesi ve H3-K27 methyltransferase aktivitesine sahiptir. *Polycomb repressive* kompleks 1 in parçası olan Bmi-1, RING1-aracılı H2AK119 ubiquitin E3 ligase aktivitesinin artırılmasına katkıda bulunur. EZH2, *polycomb repressive* kompleks 2'nin anahtar molekülüdür, histone methyltransferase aktivitesine sahiptir, histon H3'de lizin (H3-K27) metilasyonuna sebep olur. Her iki histon modifikasyonları *polycomb* grup genlerinin susturulmasına katkıda bulunur. İki kompleks arasında hiçbir fiziksel ilişki saptanmamasına rağmen, H3-K27 metilasyonu *polycomb repressive* kompleks 1 in bağlanma yeri olarak hizmet verir. Bu nedenle iki *polycomb group* kompleksi de gen suskunluğunu korumak için işbirliğine dayalı bir şekilde çalışmaktadır.^{81,82}

Polycomb repressive complex 1 özellikle Bmi-1 kök hücrelerinin kendini yenilemesinde merkezi rol oynamaktadır.⁸¹⁻⁸³ Apoptozis ve hücre yaşlanmayı tetikleyerek onkojenik hücreleri ortadan kaldıran Ink4b-Arf-Ink4a gibi tümör süpressör genleri baskılamaktadır.^{81,84} Ink4a-Arf hematopoietik kök hücrelerin kendini yenileme kapasitesini koruması için gereklidir.⁸⁵ Diğer taraftan *polycomb* grup proteinlerin up-regülasyonunun tümör gelişimi ile yakından ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. EZH2 nin ayrıca malign lenfoma ve multipl myelom patogeneğinde rol oynadığı bildirilmiştir.^{86,87} Bmi-1 başlangıçta lenfomalarda c-myc protoonkogen olarak belirlenmiştir ve artmış Bmi-1 ekspresyon düzeylerinin lenfomalarda ve aynı zamanda çeşitli tipteki lösemilerde de rol oynadığı bildirilmiştir.⁸⁸ Dahası, EZH2 ve Bmi-1 proteinlerinin koekspresyonu B-hücreli non-Hodgkin lenfoma derecesi ile ilişkili gibi görünmektedir.⁸⁹ Yeni çalışmalar, EZH2 protein ekspresyonunun artması meme ve prostat kanseri gibi solid organ tümörlerinin progresyonu ve kötü prognozu ile korele olduğunu göstermiştir.⁹⁰

2.5.2. HSP70

Heat shock proteins (HSPs), “stres proteinleri” olarak da bilinen, prokaryot ve ökaryotlar tarafından eksprese edilen son derece iyi korunmuş proteinlerden oluşan geniş bir gruptur. HSP’ler, hedef proteinler ve diğer proteinler arasında etkileşimleri sağlayan ve protein yapılarını modifiye eden moleküllerdir. HSP’ler ısı, hipoksi, oksidatif hasar, hipoglisemi, ağır metaller ve antikanser ilaçlara maruz kalma gibi çevresel-metabolik faktörler ile indüklenir. HSP’ler; HSP15–30, HSP40, HSP60, HSP70, HSP90, ve HSP100 olmak üzere moleküler ağırlığına göre sınıflandırılırlar (kiloDalton).⁹¹⁻⁹³ HSP geniş bir kanser grubunda aşırı bir şekilde eksprese edilir ve kanserin oluşumu ile invazyonundan sorumlu tutulmuştur. Bu moleküllerin bazıları tümörigenezis sürecinde antijen sunumunda rol alırlar.^{92,94} Dolayısıyla, potansiyel terapötik hedef olarak görülmekte ve tanısal/prognostik belirteç olarak da araştırılmaktadırlar. HSP70 tümörlerde özel öneme sahiptir, çünkü tümör hücre apoptozisini inhibe eder.

2.5.3. Glutamin Sentetaz

Aktive Wnt sinyal yolağı karsinogenezisdeki ana yolaktır. Nükleer β -catenin translokasyonu ve glutamin sentetaz immünboyanması tümörde aktif sinyalleme belirteçleri olarak kullanılabilir.⁹³ GS geni, β -catenin’in hedef genidir. Karaciğer ve diğer dokularda protein metabolizmasında önemli rol oynar.⁹⁵ Cieply ve arkadaşları⁹⁶ GS overekspresyonunun, β -catenin mutasyonu ile yüksek oranda ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. GS’in mutasyona sekonder β -catenin aktivasyonunun güvenilir bir belirteci olarak kullanılmasını önerilmiştir.

2.5.4. Siklaz İlişkili Protein 2

Siklaz-ilişkili proteinler (CAP), ras genininde bulunur ve adenil siklaz ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. CAP ayrıca monomerik aktin bağlar ve bu nedenle bir hücre iskeleti fonksiyonuna sahiptir.⁹⁷ Memelilerde CAP1 ve CAP2 olmak üzere iki CAP geni bulunur. CAP2 düz kas hücrelerinde kuvvetli eksprese olur ancak normal hepatositlerde negatiftir.⁹⁸

Sirozlu karaciğer gibi bir zarar gören karaciğer dokusunda bazı hepatositlerde CAP2 pozitifliği gösterilmiştir. Bu nedenle CAP2 ekspresyonunun

hepatokarsinogenezis yanı sıra rejenerasyon ile de ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir. Non-kanseröz karaciğer dokusu, prekanseröz lezyonlar ve erken HSK karşılaştırıldığında CAP2'nin erken HSK de aşırı eksprese edildiği izlenmiştir. CAP2 aşırı ekspresyonu; erken HSK ile karşılaştırıldığında progrese HSK de daha fazla görülmektedir, bu durum multistep karsinogeneizde CAP2 proteinin önemli bir fonksiyonu olduğunu düşündürmektedir.⁹⁷⁻⁹⁹

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal Seçimi

Bu çalışmada 2007-2012 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde takibe alınan ve HSK tanısı almış karaciğer rezeksiyon materyalleri değerlendirildi. Toplam 50 adet olguya ait formalinle fikse edilip parafine gömülmüş dokular kullanıldı. Olgulara ait klinik veriler Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı'ndaki hasta dosyalarından elde edildi. Yetersiz klinik bilgiye sahip olgular için hasta veya yakınlarıyla temasa geçilerek ek bilgiler edinildi. Takip süreleri; ölümle sonuçlanan hastalar için tümör tanı tarihi ile ölüm tarihleri arasında geçen süre; yaşayan hastalar için tanı tarihleri ile çalışmanın yapıldığı tarihe kadar geçen süre olarak belirlendi.

3.2. İmmünohistokimyasal Çalışma

% 10'luk formaldehitte tespit edilen dokular, doku takip işleminden sonra bloklanarak 5 mikronluk seri kesitlerden hematoksilin eozin boyalı preperatlar elde edildi. Işık mikroskopunda incelendi. Uygun bloklar seçildi. Histolojik kesitler immünohistokimyasal boyama için özel *polylisinli* lamlara alındı. Çalışma grubuna alınan olguların parafin bloklarından hazırlanan kesitlere Strept Avidin-Biotin kompleks immünperoksidaz yöntemi [(SensiTek HRP (Anti-Polyvalent) RTU] ile HSP70 (SPRING BIOSCIENCE, Rabbit Anti-Human HSP70 polyclonal Antibody), CAP2 (BIOSS, Rabbit Polyclonal Antibody), EZH2 (SPRING, Rabbit Polyclonal Anti-Human), Bmi-1 (BETHYL Laboratories Inc, Rabbit polyclonal) Glutamine Synthetase (NOVUS BIOLOGICALS, Rabbit Polyclonal) uygulandı. Olgulara ait Hematoksilin Eozin ve immünperoksidaz boyalı camlar ışık mikroskopunda incelendi.

Strept avidin-biotin boyama yöntemi

Dokuların hazırlanması

Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında alınan kesitler 60 °C'lik ısıda etüvde 30-45 dakika arası sürede üzerindeki parafin eriyene dek bekletildi. Kesitler, aynı etüv içerisindeki ksilollü şale içerisinde 10 dakika tutuldu. Etüvden çıkarılan kesitler oda ısısındaki içerisinde ksilol bulunan üç ayrı şale sonra % 95 alkol bulunan üç ayrı şalede

beşer dakika tutularak distile suda iyice yıkanarak deparafinizasyon işlemi tamamlandı. Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için % 3'lük H₂O₂ (hidrojen peroksid)'in distile sudaki solüsyonunda beş dakika inkübe edildi.

Boyanma aşamaları

1-Lamlar mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde;

- a) HSP70 için, Citrat Buffer ph 6

- b) CAP2 için, Citrat Buffer ph 6

- c) EZH2 için, Edta Buffer ph 8

- d) Bmi-1 için, Tris – Edta Buffer ph 9

- e) GS için, Citrat Buffer ph 6 solüsyonlarında beşer dakika 3 kez çevrilerek *antigen retrieval* işlemi yapıldı . Daha sonra oda ısısına alınarak 50 dakika soğumaya bırakıldı.

2- pH 7,2-7,4 PBS (0,01M *Phosphate Buffer Saline*)'de 3-5 dakika yıkandı.

3- Doku çevresi silinerek dokular nemli bir ortamda yatay konularak üzerine

a) HSP70; 1/150

b) CAP 2; 1/200

c) EZH 2; 1/100

d) BMI 1; 1/ 250

e) GS; 1/700 oranlarında dilüe edilmiş olan PAB (*primary antibody*) damlatıldı, yaklaşık 90 dakika oda ısısında inkübe edildi.

4- PBS'de 3-5 dakika yıkandı.

5- Kesit çevresi silindikten sonra *sekonder antibody* biotinli (Sensi Tek Anti Polyvalent, Scytek) damlatılarak 15 dakika oda ısısında inkübe edildi.

6- PBS'de 3-5 yıkandı.

7- Kesit çevresi silindikten sonra (Sensi Tek HRP, ScyTek Laboratories) damlatılarak 20 dakika oda ısısında inkübe edildi.

8- PBS'de 3-5 dakika yıkandı. Kesit çevresi silindi.

9- AEC kromojen damlatıldı. 5-20 dakika sonra mikroskop altında boyanma olup olmadığı kontrol edilerek dokular çeşme suyuna alındı.

10- Mayer Hematoksilen'de 1-3 dakika zemin boyaması yapıldı ve çeşme suyunda 3-5 dakika yıkandı.

11- Kesit çevresi silindi ve su bazlı kapatma maddesi (Thermo-shandon) ile kapatıldı.

3.3. İmmünohistokimyasal Çalışmanın Değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal boyalar ışık mikroskopunda sitoplazmik veya nükleer boyanma paternlerine göre değerlendirildi.

Bmi-1 ve EZH2 nükleer markerlardır, boyanma yüzdesi ve yoğunluğuna göre immünohistokimyasal bir skor verilerek değerlendirildi. Bu amaçla Hui Wang ve arkadaşlarının⁹³ yaptığı çalışma esas alındı.

Boyanma şiddeti 0-3 arası skorlandı.

<%5, negatif = 0

%5–25, sporadik = 1

%25–50, fokal = 2

>%50, diffüz = 3 olarak değerlendirildi.

Boyanma yoğunluğu 0-3 arası skorlandı.;

Hiç boyanma yok = 0,

Hafif şiddette boyanma var = 1,

Orta şiddette boyanma var = 2,

Şiddetli boyanma = 3.

Nihai immünohistokimyasal skor = Bmi-1 pozitif tümör alanı yüzdesi X Tümör hücrelerinin boyanma yoğunluk değeri olarak hesaplandı. Buna göre 0-9 arası skorlama yapıldı ve negatif “-” (skor 0-1), “+” (skor 2-3) , “++” (skor 4-6), “+++” (skor > 6) olarak değerlendirildi. EZH2 içinde aynı yöntem kullanıldı.

HSP70, GS ve CAP2 sitoplazmik markerlardır ve boyanma yaygınlığı ve yoğunluğuna göre semikantitatif değerlendirme yapıldı:

Hiç boyanma yok = negatif “-” ,

Hafif şiddette boyanma var = zayıf pozitif “+” ,

Orta şiddette boyanma var = orta pozitif “++” ,

Şiddetli boyanma = güçlü pozitif “+++” şeklinde bir skorlama yapılmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (ÇÜTF) Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 50 adet HSK olgusu dahil edildi. Olguların 41'i (% 82) erkek, 9'u (% 18) kadın idi. Yaş ortalaması $59,1 \pm 14,8$ olup en genç hasta 18 en yaşlı hasta 94 yaşında idi. HSK, kronik hepatit ve siroz olgularında 26 olgunun (% 52) HBV enfeksiyonlu, 10 olgunun (% 20) HCV enfeksiyonlu, 5 olgunun ise (% 10) HBV+HCV enfeksiyonlu kronik hepatit hastaları olduğu öğrenildi. 9 olguda (% 18) ise etyolojik faktör belirlenemedi. Edmondson-Steiner gradleme sistemine⁷⁴ göre vakaların 24'ü (% 48) iyi diferansiye, 19'u (% 38) orta derece diferansiye, 7'si (% 14) az diferansiye tümörler idi. Bu çalışma serisi içerisinde displastik odak, displastik nodül ve erken HSK olguları yer almadı. 10 (% 20) vakada tümör çapı 10 cm in üzerinde, 30 (% 60) vakada 4 ile 9 cm arasında, 10 (% 20) vakada ise 3 cm den küçük boyutlarda idi. 22 olguda (% 44) damar invazyonu mevcut olup 28 olguda (% 56) ise damar invazyonu tespit edilmedi. Çalışmaya dahil edilen hastaların 29'unun eks olduğu öğrenildi. Yaşayan ve eks hastaların tümünün survival analizine göre tahmini yaşam süreleri ortalama 30 ± 3 ay (24-37) olarak tespit edildi. Çalışmaya alınan HSK olgularının klinik ve histopatolojik özellikleri Tablo 6 ve 7'de verilmiştir.

Tablo 6. HSK Olgularının Klinik ve Histopatolojik Özellikleri

Klinik ve histopatolojik bulgular	Vaka sayısı (n)	%
Cinsiyet		
Erkek	41	82,0
Kadın	9	18,0
Karaciğer hastalığı		
HBV	26	52,0
HCV	10	20,0
HBV+HCV	5	10,0
Nedeni belirlenemeyen	9	18,0
Tümör çapı		
<3 cm	10	20,0
4-9 cm	30	60,0
>10 cm	10	20,0
Damar invazyonu		
Var	22	44,0
Yok	28	56,0
Diferansiasyon derecesi		
İyi	24	48,0
Orta	19	38,0
Az	7	14,0
Sonuç		
Yaşayan	29	58,0
Ölen	21	42,0

Tablo 7. Yaş Grubuna Göre Cinsiyet Dağılımı

Yaş Grup	Erkek n(%)	Kadın n(%)	Toplam n(%)	P
0-54	11 (26,8)	2 (22,2)	13 (26,0)	0,466
55-64	16 (39,0)	2 (22,2)	18 (36,0)	
>65	14 (34,2)	5 (55,6)	19 (38)	

4.1. Klinikopatolojik Bulgular

Klinikopatolojik özellik olarak hastaların yaş, cinsiyet, önceden var olan karaciğer hastalığı, tümör çapı ve tümörün diferansiasyon derecesi, damar invazyonunun varlığı değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmeye göre bu parametrelerden sadece damar invazyonunun yaşam süresini etkilediği görüldü. Hematoksilen eozin kesitlerde 22 hastada damar invazyonu izlendi ve bu hastaların 10'unun eks olduğu öğrenildi. Damar invazyonu izlenmeyen 28 hastanın ise 19'u eks olmuştur ($p=0,019$). Damar invazyonu olan grupta ortalama yaşam süresi 16 ± 3 ay iken, damar invazyonu izlenmeyen grupta ise 36 ± 4 ay idi (Tablo 8).

Çalışmamızda bulunan hastaların 13'ü 54 yaş altı, 18'i 55-64 yaş arasında, 19'u 65 yaş üzerinde idi. 65 yaş üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi 21 ± 5 ay iken, 55-64 yaş arasında bulunan hastalarda ise ortalama yaşam süresi 39 ± 5 ay olarak saptandı. Hasta yaşı arttıkça yaşam süresinin kısaldığı dikkati çekti ancak bu durum istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0.262$) (Tablo 8).

Olgularından 41'i erkek hasta idi, bu hastaların 24'ünün eks olduğu öğrenildi. Erkek hastaların ortalama sağkalım süresi 30 ± 4 ay olarak belirlendi. Kadın hastalardan 5'inin (5/9) eks olduğu ve kadın hastaların ortalama yaşam süresi 34 ± 7 ay idi. Çalışmada, erkek hastaların kadın hastalara göre daha kısa yaşadığı dikkati çekti ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,707$) (Tablo 8).

Çalışmaya dahil edilen hastalar altta yatan karaciğer hastalığı açısından değerlendirildiğinde, HBV nedeniyle oluşmuş kronik karaciğer hastalığı olan 26 hastanın ortalama yaşam süresi 25 ± 6 ay, HCV nedenli kronik karaciğer hastalığı olan 10 hastanın ortalama yaşam süresi 19 ± 4 ay, HBV+HCV nedeniyle oluşmuş kronik karaciğer hastalığı olan 5 hastada ise ortalama yaşam süresi 19 ± 6 ay iken, altta yatan bir karaciğer hastalığı belirlenemeyen 9 hastada ortalama yaşam süresi 36 ± 6 ay olarak belirlendi. Tümörün etyopatogenezi belirlenemeyen grubun diğer gruplara göre daha uzun yaşadığı görüldü. Ancak bu durum istatistik açıdan anlamlı bulunmadı ($p=0,655$).

(Tablo 8).

Tümör çapı; 3 cm'in altında olan 10 hasta, 4-9 cm arasında olan 30 hasta, 10 cm'in üzerinde tümörü olan 10 hasta bulunmaktaydı. Bu hastalarda ortalama sağkalım süresinin tümör çapı arttıkça azaldığı izlendi, ancak aradaki bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p=0.191$) (Tablo 8).

Tablo 8. Demografik Değişkenlere Göre Sağkalım Tablosu

	Ex/n	Ort±SH	% 95 Güven Aralığı	
Yaş				P
0-54	9/13	37±6	26-47	0,262
55-64	14/18	39±5	29-50	
>65	6/19	21±5	12-30	
Cinsiyet				
Erkek	24/41	30±4	22-37	0,707
Kadın	5/9	34±7	20-49	
Karaciğer hastalığı				
HBV	16/26	25±6	13-37	0,655
HCV	5/10	19±4	11-27	
HBV+HCV	3/5	19±6	8-30	
Nedeni belirlenemeyen	5/9	36±6	24-49	
Tümör çapı				
<3 cm	8/10	45±5	36-54	0,191
4-9 cm	15/30	26±4	17-34	
>10 cm	6/10	19±4	11-27	
Damar invazyonu				
Var	10/22	16±3	11-22	0,019
Yok	19/28	36±4	28-44	
Diferansiyasyon derecesi				
İyi	15/24	23±2	18-28	0,280
Orta	9/19	24±6	13-35	
Az	5/7	37±9	20-54	

SH: standart hata

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Çalışmamızda EZH2, Bmi-1, HSP70, GS ve CAP2 olmak üzere 5 adet immünohistokimyasal marker değerlendirildi. EZH2 ve Bmi-1 ile nükleer boyanma, HSP70, GS ve CAP2 ile sitoplazmik boyanma elde edildi. Tüm boyanmalar boyanma şiddeti ve boyanma yoğunluğuna göre değerlendirildi. Nihai immünohistokimyasal skor pozitif tümör alanı yüzdesi X boyanma yoğunluğu esas alınarak değerlendirildi. Negatif (-), zayıf pozitif (+), orta pozitif (++), güçlü pozitif (+++) şeklinde 4 grup halinde sınıflandırıldı ancak hasta sayılarının azlığı nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi (Tablo 9). Bu nedenle sonuçlar tekrar gruplandırılarak analiz edildi. Negatif ve zayıf pozitif olan vakalar düşük, orta ve güçlü pozitif olan vakalar ise yüksek düzeyde ekspresyon olarak kabul edildi (Tablo 10).

Tablo 9. Patolojik Değişkenlerin Dağılımı

	N	%
EZH2		
Negatif	29	58,0
+	7	14,0
++	10	20,0
+++	4	8,0
Bmi-1		
Negatif	29	58,0
+	3	6,0
++	13	26,0
+++	5	10,0
HSP70		
Negatif	4	8,0
+	12	24,0
++	22	44,0
+++	12	24,0
GS		
Negatif	16	32,0
+	6	12,0
++	14	28,0
+++	14	28,0
CAP2		
Negatif	6	12,0
+	8	16,0
++	19	38,0
+++	17	34,0

Tablo 10. İmmünohistokimyasal Değişkenlerin Dağılımı

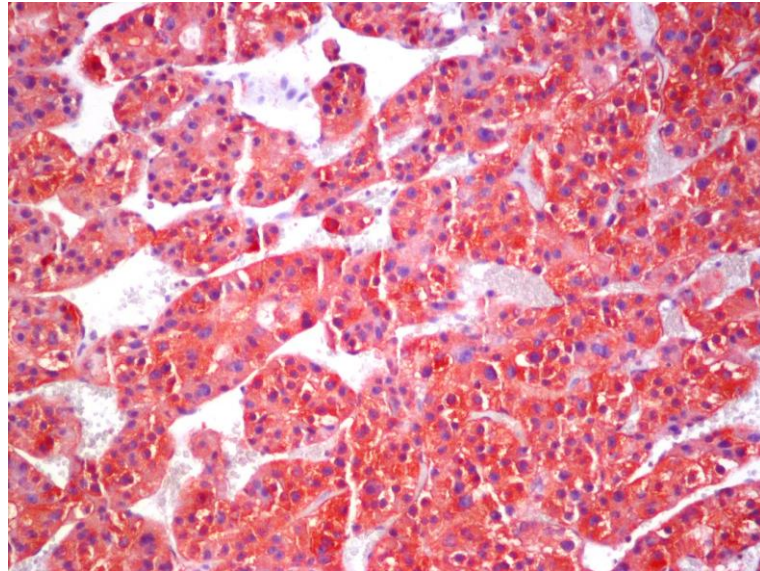
	Hasta sayısı	%
EZH2		
Düşük (- ve +)	36	72,0
Yüksek (++ ve +++)	14	28,0
Bmi-1		
Düşük (- ve +)	32	64,0
Yüksek (++ ve +++)	18	36,0
HSP70		
Düşük (- ve +)	16	32,0
Yüksek (++ ve +++)	34	68,0
GS		
Düşük (- ve +)	22	44,0
Yüksek (++ ve +++)	28	56,0
CAP2		
Düşük (- ve +)	14	28,0
Yüksek (++ ve +++)	36	72,0

HSP70

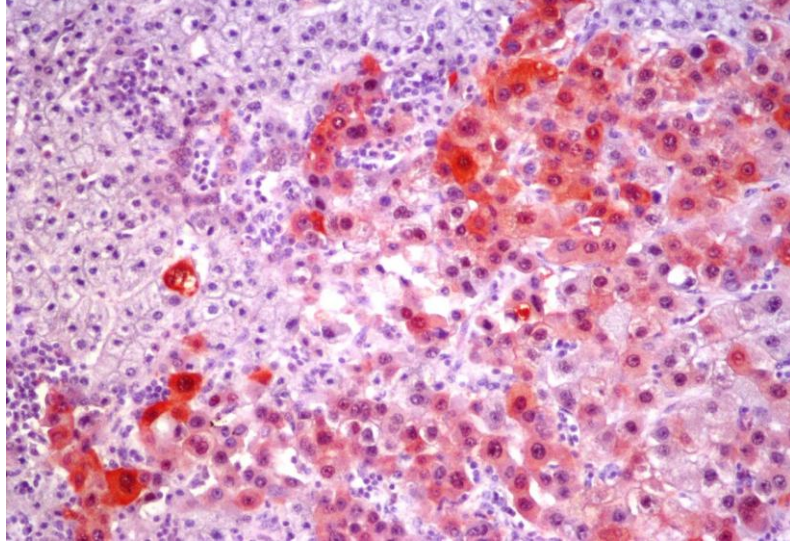
HSP70 ile olgularda sitoplazmik boyanma görüldü. Ancak fokal alanlarda nükleer boyanma da izlendi. Tümöre komşu karaciğer dokusunda boyanma izlenmedi veya fokal ya da zayıf boyanma görüldü. Safra kanal epitelinde ise güçlü boyanma izlendi ve bu boyanma internal kontrol olarak kullanıldı. 16 olguda (% 32) tümör hücrelerinde düşük düzeyde ekspresyon, 34 olguda (% 68) ise yüksek düzeyde ekspresyon saptandı. HSP70 ekspresyon şiddeti ile tümör boyutu, damar invazyonu, diferansiasyon derecesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (p değerleri sırasıyla 0,154, 0,373, 0,570) (Tablo 11). Düşük HSP70 ekspresyonu gösteren 16 olgunun 10'unun ve yüksek düzeyde HSP70 ekspresyonu gösteren 34 olgunun 19'unun eks olduğu öğrenildi (Tablo 16). HSP70 ekspresyon sonuçları ile hastaların yaşam süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı. HSP70 ekspresyonu düşük olan grubun ise tahmini yaşam süresi ortalama 35 ± 5 ay iken, HSP70 sonucu yüksek olan grubun ortalama yaşam süreleri 21 ± 3 ay olarak bulundu ($p=0.140$). HSP70 ekspresyon şiddeti ile cinsiyet, yaş grupları gibi demografik veriler ve altta yatan karaciğer hastalığı, tümör çapı, diferansiasyon dereceleri ile korelasyon saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 11. HSP70 Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması

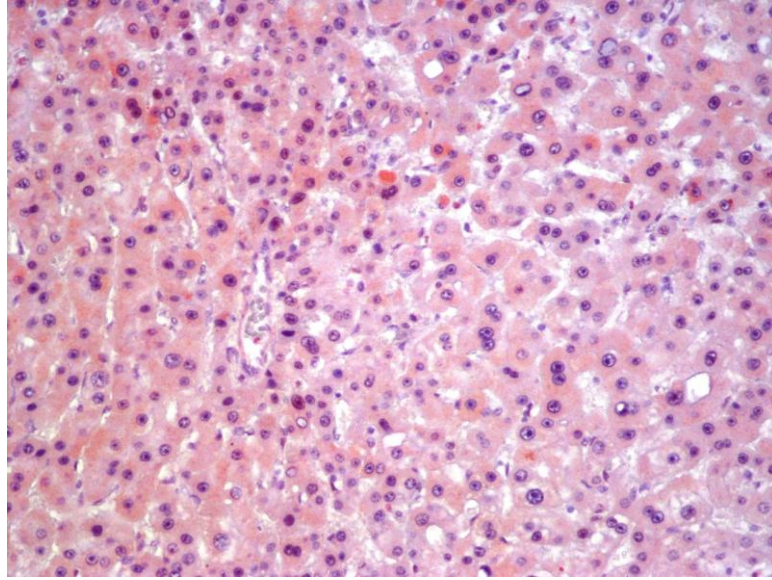
	HSP70		p
	Düşük (- ve +)	Yüksek (++ ve +++)	
Cinsiyet			
Erkek	13 (81,3)	28 (82,4)	1,000
Kadın	3 (18,8)	6 (17,6)	
Yaş grupları			
0-54	3 (18,8)	10 (29,4)	0,122
55-64	9 (56,3)	9 (26,5)	
>65	4 (25,0)	15 (44,1)	
Karaciğer hastalığı			
HBV	6 (37,5)	20 (58,8)	0,566
HCV	4 (25,0)	6 (17,6)	
HBV+HCV	2 (12,5)	3 (8,8)	
Nedeni belirlenemeyen	4 (25,0)	5 (14,7)	
Tümör çapı			
<3 cm	5 (31,3)	5 (14,7)	0,154
4-9 cm	10 (62,5)	20 (58,8)	
>10 cm	1 (6,3)	9 (26,5)	
Damar invazyonu			
Var	6 (37,5)	16 (47,1)	0,373
Yok	10 (62,5)	18 (52,9)	
Diferansiasyon derecesi			
İyi	6 (37,5)	18 (52,9)	0,570
Orta	7 (43,8)	12 (35,3)	
Az	3 (18,8)	4 (11,8)	



Şekil 17. HSP70 sitoplazmik güçlü pozitiflik (X200)



Şekil 18. HSP70 sitoplazmik orta derecede pozitiflik (X200)



Şekil 19. HSP70 sitoplazmik zayıf pozitiflik (X200)

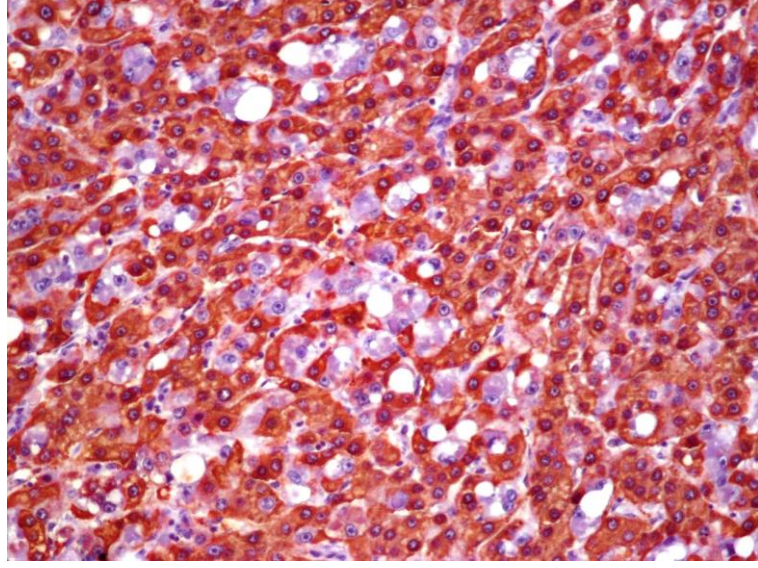
Glutamin sentetaz

Bu çalışmada glutamin sentetaz ile intrasitoplazmik diffüz boyanma görüldü. Normal karaciğer dokusunda ise GS'nin hepatosit sitoplazmalarında fokal yada zayıf bir boyanma oluşturduğu görüldü. GS ile 22 (% 44) vakada düşük düzeyde, 28 (% 56) vakada yüksek düzeyde ekspresyon saptandı. Düşük düzeyde ekspresyon olan 22 hastanın 15'i eks, yüksek ekspresyon gösteren 28 hastanın 14'ünün eks olduğu

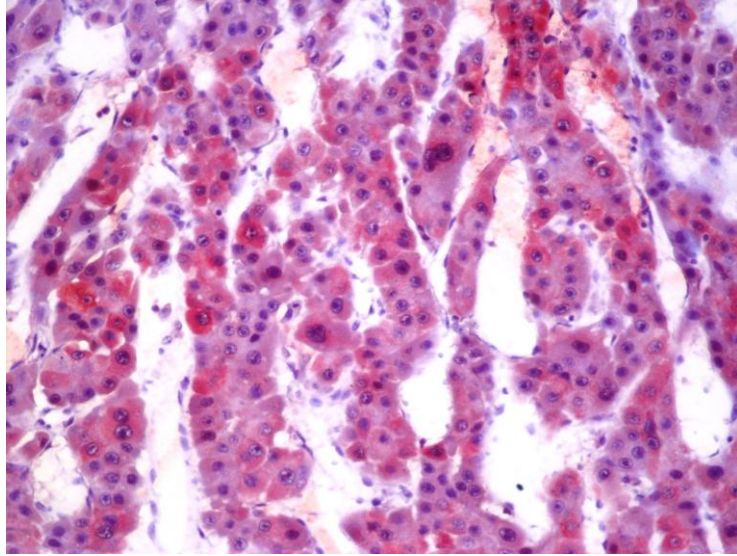
öğrenildi. Yüksek düzeyde ekspresyon gösteren vaklarda tahmini yaşam süresi 15 ± 2 ay iken, düşük düzeyde ekspresyon saptanan hastalarda ise 38 ± 4 ay olarak belirlendi. Yaşam süresi ile GS ekspresyon şiddeti arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,018$). GS ile altta yatan karaciğer hastalığı, tümör çapı, damar invazyonu ve tümörün diferansiasyon derecesi arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,005$) (Tablo 12).

Tablo 12. GS Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması

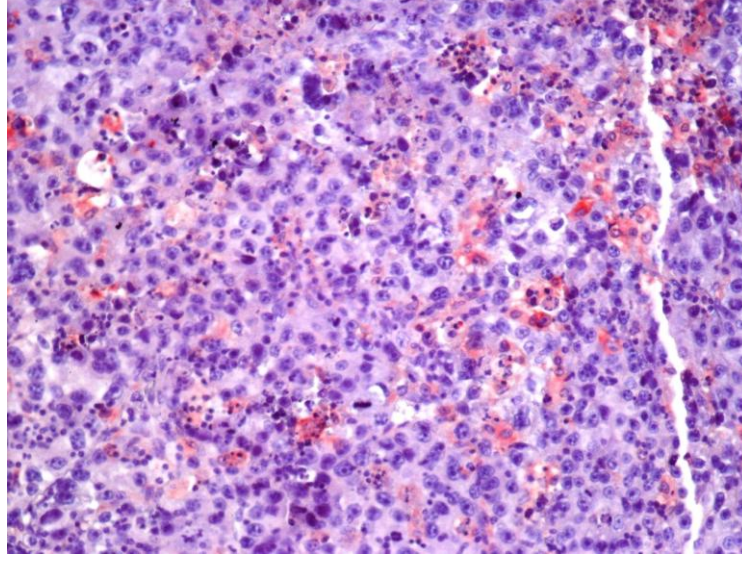
	GS		
	Düşük (- ve +)	Yüksek (++ ve +++)	p
Cinsiyet			
Erkek	17 (77,3)	24 (85,7)	0,481
Kadın	5 (22,7)	4 (14,3)	
Yaş grupları			
0-54	7 (31,8)	6 (21,4)	0,375
55-64	9 (40,9)	9 (32,1)	
>65	6 (27,3)	13 (46,4)	
Karaciğer hastalığı			
HBV	12 (54,5)	14 (50,0)	0,231
HCV	2 (9,1)	8 (28,6)	
HBV+HCV	2 (9,1)	3 (10,7)	
Nedeni belirlenemeyen	6 (27,3)	3 (10,7)	
Tümör çapı			
<3 cm	5 (22,7)	5 (17,9)	0,897
4-9 cm	13 (59,1)	17 (60,7)	
>10 cm	4 (18,2)	6 (21,4)	
Damar invazyonu			
Var	7 (31,8)	15 (53,6)	0,158
Yok	15 (68,2)	13 (46,4)	
Diferansiasyon derecesi			
İyi	9 (40,9)	15 (53,6)	0,610
Orta	9 (40,9)	10 (35,7)	
Az	4 (18,2)	3 (10,7)	



Şekil 20. Glutamin Sentetaz sitoplazmik güçlü pozitiflik (X200)



Şekil 21. Glutamin Sentetaz sitoplazmik orta düzeyde pozitiflik (X200)



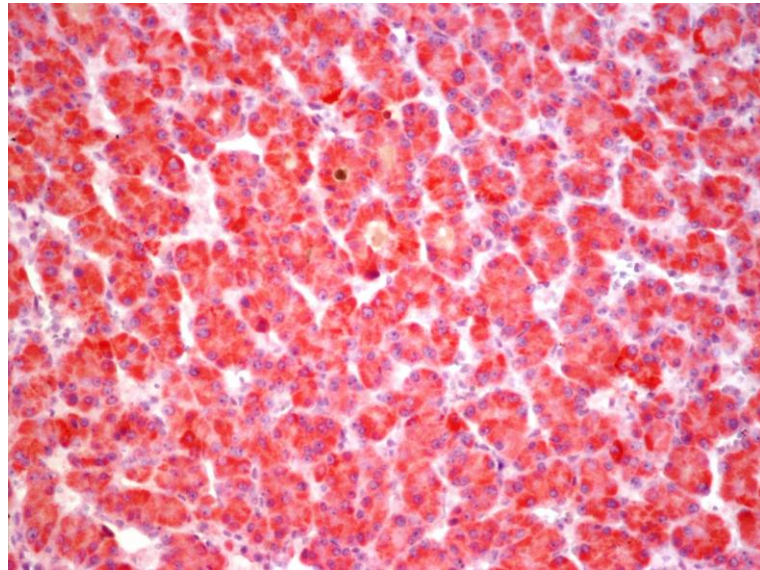
Şekil 22. Glutamin Sentetaz sitoplazmik zayıf pozitiflik (X200)

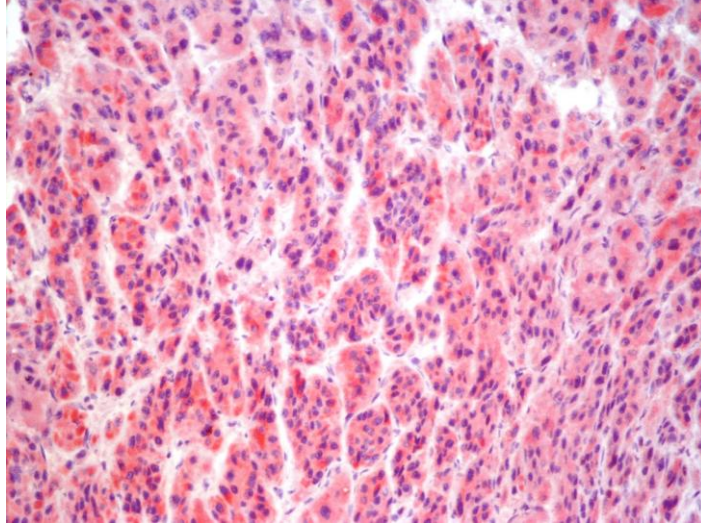
Siklaz İlişkili Protein 2 (CAP2)

CAP2 ile karaciğer dokusunda vasküler yapıların duvarlarındaki düz kas hücrelerinde pozitif boyanma görüldü ve bu bulgu literatür ile uyumlu olarak internal pozitif kontrol olarak kullanıldı. Normal karaciğer dokusunda boyanma izlenmedi. HSK vakalarında tümör hücrelerinde intrasitoplazmik pozitif boyanma görüldü. CAP2 ile 14 vakada (% 28) düşük düzeyde ekspresyon, 36 (% 72) vakada yüksek düzeyde ekspresyon izlendi. Düşük düzeyde CAP2 ekspresyonu gösteren 14 vakanın 9'u eks, yüksek düzeyde CAP2 ekspresyonu gösteren 36 vakanın da 20'si eks olmuştu. Hastaların ortalama yaşam süresi ile CAP2 ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı. CAP2 ekspresyonu düşük olan grupta beklenen yaşam süresi 36 ± 5 ay iken, ekspresyonun yüksek olduğu grupta ise tahmini yaşam süresi 29 ± 4 ay olarak bulundu ($p=0.278$). Hastaların yaş dağılımı, cinsiyeti, altta yatan karaciğer hastalığı, tümör çapı ve diferansiasyon derecesi ile CAP2 ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 13).

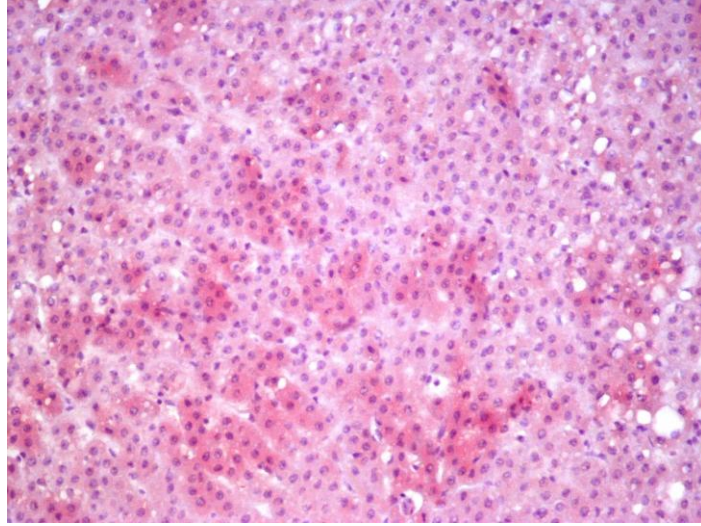
Tablo 13. CAP2 Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması

	CAP2		p
	Düşük (- ve +)	Yüksek (++ ve +++)	
Cinsiyet			
Erkek	12 (85,7)	29 (80,6)	1,000
Kadın	2 (14,3)	7 (19,4)	
Yaş grupları			
0-54	3 (21,4)	10 (27,8)	0,137
55-64	8 (57,1)	10 (27,8)	
>65	3 (21,4)	16 (44,4)	
Karaciğer hastalığı			
HBV	6 (42,9)	20 (55,6)	0,726
HCV	4 (28,6)	6 (16,7)	
HBV+HCV	7 (7,1)	4 (11,1)	
Nedeni belirlenemeyen	3 (21,4)	6 (16,7)	
Tümör çapı			
<3 cm	4 (28,6)	6 (16,7)	0,589
4-9 cm	7 (50,0)	23 (63,9)	
>10 cm	3 (21,4)	7 (19,4)	
Damar invazyonu			
Var	4 (28,6)	18 (50,0)	0,215
Yok	10 (71,4)	18 (50,0)	
Diferansiasyon derecesi			
İyi	6 (42,9)	18 (50,0)	0,892
Orta	6 (42,9)	13 (36,1)	
Az	2 (14,3)	5 (13,9)	

**Şekil 23. CAP2 sitoplazmik güçlü pozitiflik (X200)**



Şekil 24. CAP2 sitoplazmik orta düzeyde pozitiflik (X200)



Şekil 25. CAP2 sitoplazmik zayıf pozitiflik (X200)

EZH2 ve Bmi-1

Polycomb grup proteinleri olan EZH2 ve Bmi-1 ile tümör hücrelerinde nükleer boyanma görüldü. EZH2 ve Bmi-1 boyanma şekli ve dağılımı birbirine benzerlik gösteriyordu. Eksternal pozitif kontrol olarak; EZH2 için prostat karsinomu, Bmi-1 için meme karsinomu örnekleri kullanıldı. Normal karaciğer ve tümör çevresi karaciğer dokusunda Bmi-1 ve EZH2 ekspresyonu görülmedi.

EZH2 ile 36 (% 72) vakada düşük düzeyde, 14 (% 28) vakada yüksek düzeyde ekspresyon izlendi (Tablo 14). Düşük düzeyde ekspresyon izlenen 36 hastanın 23'ü, yüksek düzeyde ekspresyon izlenen 14 hastanın ise 6'sının eks olduğu öğrenildi. Yaşam

süreleri ile EZH2 ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin varlığı gözlemlendi ($p=0,034$) (Tablo 16). EZH2 ekspresyon düzeyleri ile vasküler invazyon karşılaştırıldığında ise invazyon olan grupta ekspresyon oranının daha yüksek olduğu saptandı ($p=0,025$) (Tablo 15).

Bmi-1 ile 32 (% 64) vakada düşük, 18 vakada (% 36) yüksek düzeyde ekspresyon görüldü. Düşük düzeyde Bmi-1 ekspresyon gösteren 32 hastanın 22'sinin eks olduğu yüksek ekspresyon izlenen 18 hastanın 7'sinin eks olduğu öğrenildi. Buna göre, Bmi-1 ile yaşam süresi karşılaştırıldığında ekspresyon düzeyi yüksek olan grupta ortalama yaşam süresinin daha kısa olduğu saptandı ($p=0,008$).

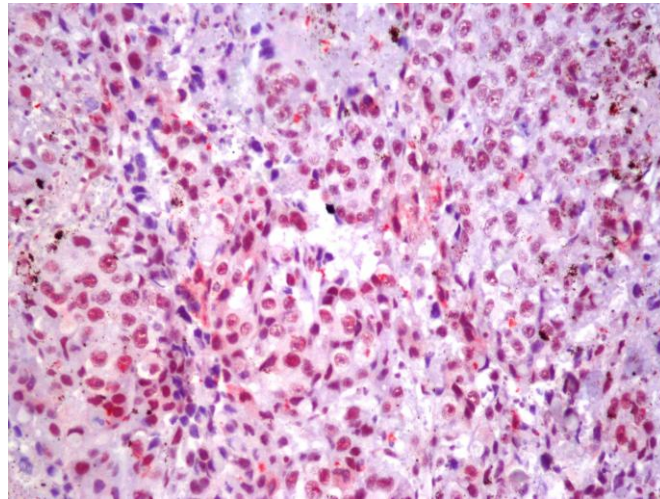
Bmi-1 sonuçları ile tümör çapını kıyasladığımızda, Bmi-1 düzeyi yüksek olan grupta tümör çapının daha büyük olduğu dikkati çekti. Bmi-1 ekspresyonu düşük olan grubun % 46,9'unda tümör çapı 4-9 cm arasındayken, Bmi-1 ekspresyonu yüksek olan grubun % 83,3 ünün tümör çapı 4-9 cm arasında olduğu saptandı ($p=0,037$). EZH2 de olduğu gibi damar invazyonu olan grubun Bmi-1 ekspresyon düzeyinin daha yüksek olduğu sonucuna varıldı ($p=0,004$) (Tablo 16).

Tablo 14. EZH2 Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması

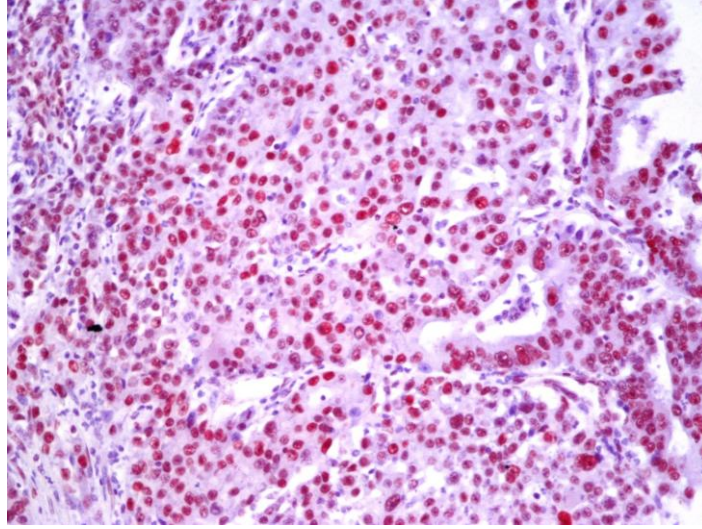
	EZH2		p
	Düşük (- ve +)	Yüksek (++ ve +++)	
Cinsiyet			
Erkek	29 (80,6)	12 (85,7)	1,000
Kadın	7 (19,4)	2 (14,3)	
Yaş grupları			
0-54	10 (27,8)	3 (21,4)	0,804
55-64	12 (33,3)	6 (42,9)	
>65	14 (38,9)	5 (35,7)	
Karaciğer hastalığı			
HBV	19 (52,8)	7 (50,0)	0,956
HCV	7 (19,4)	3 (21,4)	
HBV+HCV	4 (11,1)	1 (7,1)	
Nedeni belirlenemeyen	6 (16,7)	3 (21,4)	
Tümör çapı			
<3 cm	10 (27,8)	0 (0,0)	0,081
4-9 cm	20 (55,6)	10 (71,4)	
>10 cm	6 (16,7)	4 (28,6)	
Damar invazyonu			
Var	12 (33,3)	10 (71,4)	0,025
Yok	24 (66,7)	4 (28,6)	
Diferansiasyon derecesi			
İyi	18 (50,0)	6 (42,9)	0,892
Orta	13 (36,1)	6 (42,9)	
Az	5 (13,9)	2 (14,3)	

Tablo 15. Bmi-1 Sonucuna Göre Klinikopatolojik Değişkenlerin Karşılaştırılması

	Bmi-1		p
	Düşük (- ve +)	Yüksek (++ ve +++)	
Cinsiyet			
Erkek	25 (78,1)	16 (88,9)	0,459
Kadın	7 (21,9)	2 (11,1)	
Yaş grupları			
0-54	6 (18,8)	7 (38,9)	0,288
55-64	13 (40,6)	5 (27,8)	
>65	13 (40,6)	6 (33,3)	
Karaciğer hastalığı			
HBV	14 (43,8)	12 (66,7)	0,287
HCV	7 (21,9)	3 (16,7)	
HBV+HCV	3 (9,4)	2 (11,1)	
Nedeni belirlenemeyen	8 (25,0)	1 (5,6)	
Tümör Çapı			
<3 cm	8 (25,0)	2 (11,1)	0,037
4-9 cm	15 (46,9)	15 (83,3)	
>10 cm	9 (28,1)	1 (5,6)	
Damar invazyonu			
Var	9 (28,1)	13 (72,2)	0,004
Yok	23 (71,9)	5 (27,8)	
Diferansiasyon derecesi			
İyi	16 (50,0)	8 (44,4)	0,865
Orta	12 (37,5)	7 (38,9)	
Az	4 (12,5)	3 (16,7)	



Şekil 26. EZH2 nükleer pozitiflik (X200)



Şekil 27. BMI1 nükleer boyanma (X200)

İmmünohistokimyasal sonuçlar ile yaşam süresi arasındaki ilişkiyi belirlemek için istatistiksel bir yöntem olan Kaplan Meier testi kullanıldı. İstatistiksel sonuçlara göre EZH2, Bmi-1 ve GS ekspresyonları ile yaşam süreleri arasında anlamlı sonuç elde edildi. Bu markerlar ve yaşam süreleri arasındaki ilişkinin p değerleri sırasıyla 0,034, 0,008 ve 0,018 idi. Sonuç olarak ekspresyon düzeyi arttıkça yaşam süresinin kısaldığı dikkati çekti (Tablo 16).

Tablo 16. Sağkalım Tablosu

	Ex/n	Ort±SH	% 95 Güven Aralığı	p
EZH2				
Düşük (- ve +)	23/36	34±4	26-41	0,034
Yüksek (++ ve +++)	6/14	13±2	8-18	
Bmi-1				
Düşük (- ve +)	22/32	37±4	29-44	0,008
Yüksek (++ ve +++)	7/18	12±2	7-16	
HSP70				
Düşük (- ve +)	10/16	35±5	26-47	0,140
Yüksek (++ ve +++)	19/34	21±3	15-26	
Glutamin sentetaz				
Düşük (- ve +)	15/22	38±4	29-46	0,018
Yüksek (++ ve +++)	14/28	15±2	11-19	
CAP2				
Düşük (- ve +)	9/14	36±5	25-42	0,278
Yüksek (++ ve +++)	20/36	29±4	21-37	

5. TARTIŞMA

Hepatosellüler karsinom, günümüzde sık görülen ve en ölümcül olan tümörler arasında ön sıralarda yer almaktadır.⁴ HSK tüm Dünya’da en sık görülen 5. kanserdir ve kansere bağlı ölümlerin 3. en sık nedenidir.⁶ Yeni tanı almış hastaların yaşam beklentisi aylar hatta haftalar ile belirtilmektedir.¹²

HSK’ların moleküler patogenezi hala çok iyi bilinmemektedir. Güvenilir tanı koydurucu klinik belirleyicileri yoktur, klinik heterojenitesi ve tedavi stratejileri çok iyi belirlenememiştir.⁵

Epidemiyolojik çalışmalar HSK insidansında çarpıcı coğrafi farklılıklar olduğunu vurgulamıştır. Özellikle Doğu Asya ve Sahra-altı Afrika’da yüksek; Kuzey Amerika ve Avrupa’nın çoğunda daha düşük insidansda görülmektedir. Bu varyasyon HSK’un karmaşık etyopatogenezi ile ilgili gibi görünmektedir. HSK’ların farklı coğrafik bölgelerde farklı insidans oranlarından, HSK risk faktörleri arasında sayılan HBV ve HCV enfeksiyonu öncelikle sorumludur.^{6,10}

Hepatosellüler karsinom tanısı zor bir hastalık olup, genelde; serum markerları, bir ya da daha fazla görüntüleme yöntemi ve histolojik doğrulama gerektirmektedir. HSK’ya yönelik patognomonik semptomların olmaması ve karaciğerin büyük fonksiyonel rezervi sebebiyle hastalar genelde geç tanı almaktadır. HSK’de ortalama sağkalım 6-20 ay arasındadır.^{5,6}

Bu çalışmada ÇÜTF’de tanı konulmuş ve tedavisi planlanarak opere edilmiş 50 HSK hastasının klinikopatolojik özellikleri ve risk faktörleri ile bu hastalara ait doku örneklerine uygulanan ve tümörün davranışı ile ilgili veriler vermesi tahmin edilen progresyon markerlarının İHK’sal sonuçları arasındaki korelasyon ve tümörün klinik davranışı ile ilişkisi araştırılmıştır.

HSK daha sık yaşlı hastalarda görülür, bunun sebebi viral enfeksiyon, kronik karaciğer hastalıkları gibi altta yatan etyolojik faktörlere daha uzun süre maruz kalma olabilir.¹⁰⁰ Velázquez RF ve arkadaşları tarafından yapılan prospektif araştırmaya göre 54 yaşından büyük hastalarda HSK gelişim riskinin 4 kat daha fazla olduğu saptanmıştır.¹⁰¹

Bu çalışmada ele alınan olgu serisinde HSK'nın daha çok yaşlı, erkek hastalarda ve ileri evrede görüldüğü dikkati çekmiştir. Çalışmamızda, ortalama yaş 59.1 olarak saptanmış ve hastaların % 74'ünün 54 yaşın üzerinde olduğu görülmüştür.

Hepatosellüler karsinom dağılımı cinsiyet ve yaşa göre, etnik gruplar arasında, aynı ülke içindeki bölgeler arasında farklılık göstermektedir.¹⁰⁰⁻¹⁰² Erkekler, kadınlardan daha yüksek risk altındadır. HSK'un erkek hastalarda daha sık görülmesinin nedeni şimdiye kadar iyi anlaşılamamıştır.^{14,15,102} Montalto G ve arkadaşları, siroz ve HSK'da dolaşımdaki östradiol, testesteron ve estradiol/testeron düzeyi değişikliklerini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlardır. Çalışmaya 64 HSK hastası (41 E); 68 siroz hastası (41 E), kontrol grubu olarak 59 vaka (39 E) dahil edilmiştir. Estradiol düzeyleri tüm grupta yükselirken, serum testesteron düzeyleri giderek düşmüştür. Estradiol/Testesteron oranlarındaki artış ise siroz, HSK ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p<0.0001$). Ayrıca estradiol düzeyi ile tümör boyutu arasında, tümör boyutu arttıkça estradiol düzeyinin düştüğü görülmüş ve tümör çapı arttıkça E/T oranı progresif olarak artış göstermiş. Testesteron düzeylerinin azalması neoplastik kitle içinde artan androjen alımı ve birikimine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmanın sonucunda, hiperöstrojeneminin hepatokarsinogenezde önemli role sahip olduğu vurgulanmıştır.¹⁰³

Critina Bosetti ve ark yayınladığı makalede, çeşitli Avrupa ülkelerinde HSK'da erkek ve kadınlardaki mortalite oranlarından bahsetmektedir. Erkeklerde HSK mortalitesi 1990'lı yıllardan 2000'li yıllara doğru Almanya, Portekiz, İsviçre ve İngiltere'de artmaktadır. 2000'li yılların başında erkeklerdeki en yüksek ölüm oranı Fransa (% 6.8), İtalya (% 6.7), İsviçre (%5.9) , en düşük ölüm oranları ise Norveç (% 1.0), İrlanda (% 0.8) ve İsveç'de (% 0.7) bildirilmiştir. Kadınlarda 2000'lerin başında en yüksek ölüm oranlarına sahip ülkeler ise, İtalya (% 1.9), İsviçre (% 1.8) ve İspanya'da (% 1.5) idi. Yunanistan, İrlanda ve İsveç (% 0.3) en düşük oranlara sahip idi. Aynı makale HSK'da ölüm oranlarının özellikle 45-65 yaş arası erkeklerde son yıllarda tırmanışa geçtiğini bildirmektedir. Bu durum 1960 ve 1970'li yıllarda, kontamine kan ile temas yoluyla ve genç erkeklerde intravenöz ilaç kullanımı sonucu HBV ve HCV'ye yüksek maruziyet gibi nedenlerle açıklamışlardır.¹⁰⁴

Bu çalışmada incelenen HSK olgularında erkek sayısının kadın sayısından yaklaşık 4 kat daha fazla olduğu görülmüştür (E/K: 41/9). Erkek hastaların 24'ünün eks

olduğu öğrenildi ve ortalama sağkalım süresi 30 ± 4 ay olarak belirlendi. Kadın hastalardan 5'inin (5/9) eks olduğu ve kadın hastaların ortalama yaşam süresinin ise 34 ± 7 ay olduğu saptandı. Çalışmada, erkek hastaların kadın hastalara göre daha kısa yaşadığı dikkati çekti ancak bu fark olgu sayısının azlığı nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p = 0,707$).

Hepatit B virüsü HSK gelişiminde rol oynayan önemli bir risk faktörüdür. Daha önce Türkiye'den bildirilen çalışmalarda, bizim çalışmamızda olduğu gibi hepatokarsinogenezde en sık neden HBV olarak tespit edilmiştir.¹⁰⁵ HBV enfekte hastalarda gelişen HSK insidansı 70 yaş üstü bireylerde % 1'dir. HBV taşıyıcılarında, enfekte olmayan hastalara göre HSK gelişme olasılığı 100 kat daha fazladır ve sirotik karaciğerde, non-sirotik hastalara göre daha sık ortaya çıkar.¹⁰⁶ Beasley ve ark.¹⁰⁷ HBV taşıyıcılarında HSK'un yıllık insidansının % 0,5 olduğunu göstermişlerdir. Simonetti ve ark.¹⁰⁸ HSK'nin özellikle HBsAg pozitif kronik Hepatit B hastalarında geliştiğini vurgulamakta ancak hastada HBsAg'nin negatifleşmesinin ardından da HSK'un gelişebileceği ileri sürülmektedir. Liaw YF ve arkadaşları ise HBV ilişkili siroz hastalarında antiretroviral tedaviden sonra HSK gelişim oranının azaldığını belirtmişlerdir.¹⁰⁹ Böylece HBV-ilişkili HSK gelişim riski iyi aşılama programı ile önlenabilmektedir.

Bu çalışmada, HSK etyopatogenezinde 26 hastada (% 52) kronik HBV enfeksiyonunun olduğu görülmüştür. Bu hastalardan 16'sının eks olduğu öğrenilmiştir ve bu hastaların ortalama yaşam süreleri 25 ± 6 ay olarak saptanmıştır.

Hepatit C de önemli bir halk sağlığı sorunudur ve dünya çapında enfekte 170 milyondan fazla insan vardır.¹¹⁴ HCV enfekte hastaların yaklaşık % 80'inde kronik hepatit C gelişir. Bu hastaların yaklaşık % 20'si şiddetli derecede kronik hepatit C hastasıdır ve siroza ilerleme gösterir. Kronik hepatit C enfeksiyonu genel olarak asemptomatik seyreder ve değişken klinik sonuçlar ile karakterizedir. Bu nedenlerle siroz ve HSK progresyon oranını belirlemek zordur. Avrupa ve ABD yapılan prospektif çalışmalar göstermiştir ki, ilk enfeksiyondan sonra 10- 15 yıl içinde karaciğer kanseri nadiren görülmektedir.^{110,111} HCV ile enfekte hastalar, HCV negatif olan popülasyon ile karşılaştırıldığında HCV enfekte kişiler arasında HSK oranının 30 yılda % 1-3 arasında olduğu saptanmıştır.¹¹² Benzer şekilde, HSK riski HCV enfekte kişilerde HCV negatif grubuna göre 15 ile 20 kat artmıştır.¹¹² HCV ilişkili siroz oluştuktan sonra HSK gelişme

oranı yılda % 1-4 arasındadır ancak Japonya'da bu oranın % 8'lere ulaştığı bildirilmiştir.¹¹³ HCV enfeksiyonundan 25-30 yıl sonra gelişen siroz oranı ve dolayısıyla HSK gelişim riski % 25-30 oranındadır. ABD'de yapılan bir çalışma transfüzyon ilişkili hepatit C ve HSK gelişimi arasında uzun bir zaman farkı (ortalama 28 yıl) olduğunu göstermektedir.¹¹³

Hepatit C, fibrozisi indükleyerek ve sonunda siroz geliştirerek HSK riskini arttırmaktadır. HSK'nın fibrozis olmadan veya düşük seviyelerde fibrozisli bireyler arasında da görüldüğünün bildirilmesine rağmen, fibrozisin evresi ile HSK riski doğru orantılıdır. Genellikle HCV ile ilgili HSK, ileri evre fibrozisli veya sirozlu hastalarda görülür. Köprüleşme fibrozisinden siroza geçişi klinik olarak belirlemek zordur. Bu nedenle, HCV hastalarında siroz, köprüleşme fibrozisi ya da köprüleşme fibrozisinden siroza geçiş dönemleri sıkı gözetim altında tutulmalıdır.^{114,115} Bu çalışmada, hepatit C enfeksiyonu 10 hastada (% 20) tespit edilmiş ve bu hastaların ortalama yaşam sürelerinin 19±4 ay olduğu görülmüştür. Bu durum HBV hastalarının yaşam süreleri ile karşılaştırıldığında daha kısadır, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,655).

Hepatosellüler karsinom prognozu primer olarak hastalığın evresine bağlıdır ve bu da hastalığın ilk tanı aldığı dönemdeki tümör çapı ile ilişkilidir. Tsujita E ve arkadaşları büyük tümör boyutunun HSK için diğer klinik parametrelerden bağımsız olarak, kötü prognostik faktör olduğunu belirtmiştir¹¹⁶ ve Ma C ve arkadaşları¹¹⁷, erken evre HSK ile iyi prognoz arasında sıkı bir korelasyon tespit etmiş, bu nedenle küçük tümör odağının daha iyi prognoza sahip olduğunun akılda tutulması gerektiğinin altını çizmiştir. HSK'ların evrelendirilmesinde kullanılan, TNM¹¹⁸, Okuda¹¹⁹, *Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC)*¹²⁰ *Cancer of the Liver Italian Program (CLIP)*¹²¹ gibi farklı sistemler vardır ve dünya çapında bu evreleme sistemlerinden herhangi birinin kullanımı ile ilgili fikir birliği yoktur. Çeşitli tedavi seçeneklerinden dolayı HSK evresi çok önemlidir. Yapılan çalışmalarda, ortalama genel sağkalım süresi erken evre hastalarda anlamlı olarak uzun bulunmuştur. Ancak hastalık geç semptom verdiği için genellikle ileri evrede saptanmaktadır.

Yaptığımız bu çalışmada tümör çapı 3 cm'in altında olan 10 hasta, tümör çapı 4-9 cm arasında olan 30 hasta, tümör çapı 10 cm'in üzerinde olan 10 hasta bulunmaktadır. Bu hastalarda ortalama sağkalım süresinin tümör çapı arttıkça azaldığı izlenmiştir,

ancak aradaki bu fark istatistik açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p=0.191$)

Heat shock proteinleri, “stres proteinleri” olarak adlandırılan, prokaryot ve ökaryotlarda eksprese olan korunmuş proteinlerden oluşan büyük bir gruptur. HSP70 karsinogenezisde apoptozisi inhibe ettiği için özel öneme sahiptir. Ancak, HSK’da HSP70’in tanısal ve prognostik etkileri bildirilmiş olmasına rağmen, yapılan çalışmalarda hastalar sınırlı sayıdadır ve klinikopatolojik parametreler ile beraber önemi vurgulayan az sayıda çalışma mevcuttur. Eun Shin ve arkadaşları 412 hasta ile yaptığı çalışmada HSP70 ekspresyonu ile tümör boyutu, histolojik derece ve vasküler invazyon gibi biyolojik parametreler arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır. Tümör boyutu HSK’un cerrahi rezeksiyonu sonrası vasküler invazyon, histolojik grade ve nüks varlığını tahmin etmek için önemli bir faktördür.¹²² Joo ve arkadaşları¹²³ 71 adet HSK hastasında yaptığı çalışmada 40 vakada (% 56.3) HSP70 immünreaktivitesi izlendiği bildirilmiş ve tümör boyutu ile HSP70 ekspresyonu arasında ilişki olduğunu belirtmiştir. Lim ve arkadaşları¹²⁴ 38 HSK, 19 DN ve 52 HBsAg pozitif kronik hepatit hastasında hastalarda HSP’nin varlığını araştırmış, HSP’lerin HBV ilişkili HSK olgularında yüksek ekspresyonunu tespit etmişlerdir. Deneysel çalışmalarda HSP70 aşırı ekspresyonunun tümör hücre büyümesini indüklediği, siklin D1’i stabilize ederek hücre büyümesini hızlandırdığı öne sürülmüştür.¹²⁵ Buna ek olarak HSP70, p53 yolağını inhibe ederek kanser hücrelerinde apoptozisi baskılar, diğer taraftan p53 fonksiyon kaybı HSP70 transkripsiyonunu artırır.^{126,127} Bizim çalışmamızda tümör boyutu, vasküler invazyon ile HSP70 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç saptanmamıştır ($p=0,154$, $p=0,373$).

Glutamin Sentetaz, glutamat ve amonyaktan glutamin sentezinde katalizörlük eder ve memeli karaciğerinde amonyak detoksifikasyonu, azot dengesi ve pH düzenlenmesinde önemli rol oynar. Glutamin, GS aktivitesinin son ürünüdür, tümör hücreleri için önemli bir enerji kaynağıdır ve böylece, GS eksprese eden tümör hücreleri glutamin eksikliğinden bağımsız olarak büyüme avantajına sahiptirler.¹²⁸ GS, β -katenin hedef genidir: aşırı ekspresyonu β -katenin gen mutasyonu –HSK’de en sık görülen patogenetik olaydır- ile ilişkilidir.^{129,130} GS mRNA upregülasyonu, protein ve aktivitesinin uyarılması, insan HSK’da Christa ve arkadaşları¹²⁹ tarafından gösterilmiştir; Osada ve ark¹³¹ erken HSK’den ileri evre HSK’ye doğru GS immünoreaktivitesinde kademeli artış olduğunu bildirilmiştir.¹³²

Glutamin Sentetaz eksprese etmeyen HSK'lar ile GS eksprese eden HSK'lar karşılaştırıldığında hastalıksız sağkalım oranı dışında belirgin bir klinikopatolojik özellik bulunmamıştır.^{134,135} GS ekspresyonu ile HSK arasında kısa hastalıksız sağkalım bildirilmiştir.^{135,136} Michiie Sakamoto ve ark¹³⁷ 23 adet adenomatöz hiperplazinin 1'i, 31 erken HSK olgusundan 4'ü, 49 ileri HSK olgusunun 19'unda pozitif saptanmış ve GS'in β -katenin hedef geni olduğu ve HSK progresyonundan sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır.¹³³

Bizim çalışmamızda da GS ekspresyonu yüksek olan vakalarda ortalama yaşam süresinin kısaldığı dikkati çekti ($p=0,018$).

Prekanseröz lezyonlar veya non-kanseröz karaciğer dokusu ile erken HSK ayırıcı tanısı patologlar için zordur çünkü erken HSK minimal atipi ile seyreden çok iyi diferansiye bir tümördür. Histolojik tanının zor olduğu durumlarda kesin tanı ve uygun tedavi yönetimini belirlemek için moleküler belirteçlerin önemli olduğu düşünülmektedir. Sirozda ve adenomatöz hiperplazide rejeneratif nodüllerin çevresinde fokal ve zayıf CAP2 pozitifliği olmasına rağmen, HSK'da tümör hücrelerinde güçlü ve geniş pozitif boyanma görülür.¹³⁸

Yapılan bir çalışmada, erken HSK'da CAP2 upregülasyonu görülmüş ancak ileri HSK'da daha fazla eksprese olduğu gözlenmiştir. Sirozlu karaciğer gibi zarar gören karaciğer dokusunda da bazı hepatositlerde CAP2 pozitifliği görülmüştür. Böylece, CAP2 ekspresyonunun, hepatokarsinogenezis yanı sıra rejenerasyon ile de ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir. Rie Shibata ve arkadaşları CAP2 nin insan kanserlerinde aşırı eksprese olduğunu ilk defa göstermişlerdir. Yaptıkları çalışmada non-kanseröz karaciğer dokusu, prekanseröz lezyonlar ve erken HSK karşılaştırıldığında CAP2'nin erken HSK de aşırı eksprese edildiğini görmüşler ve CAP2 aşırı ekspresyonunun, erken HSK ile karşılaştırıldığında progrese HSK'da daha fazla görülmekte olduğunu belirtmişlerdir. Böylece multistep karsinogenezde CAP2 proteinin yolağa katılımı olduğunu düşünülmüştür.¹³⁸

Bizim çalışmamızdaki vakalarda da tümör çevresindeki sirotik karaciğer dokusunda yer yer CAP2 pozitifliği görüldü. Çalışmamızda CAP2 pozitifliği 36 vakada (% 72) yüksek düzeyde, 14 vakada (% 28) düşük düzeyde eksprese edilmiştir. Ancak CAP2 ekspresyon düzeyi ile yaşam süreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p=0,278$).

Polycomb grup proteinleri; Bmi-1 ve EZH2 çeşitli kanserlerde malign transformasyon ve agresif biyolojik davranış ile ilişkilidirler. PcG proteinler, kanser gelişiminde epigenetik kromatin düzenleyicileri olarak rol alırlar.⁸⁸ Transkripsiyonel durumu baskılayarak hücre kimlik değişikliklerini engelleyen, korunmuş hücresel hafıza sisteminin bir parçasıdır. Bmi-1'in karaciğer karsinomları dahil olmak üzere birçok karsinomda aşırı ekspresyonu görülmektedir.¹³⁹ PcG proteinlerinden olan EZH2'ninde çeşitli çalışmalarda, son derece agresif prostat ve meme kanserlerinde ekspresyonu gösterilmiştir.^{140,141}

Yutaka Y. ve arkadaşları¹⁴² tarafından yapılan bir çalışmada HSK progresyonunda PcG'in rolü araştırılmıştır. Bu nedenle 61 HSK hastasının prognostik analizi yapılmıştır. EZH2-pozitif hastalarda, EZH2-negatif hastalara göre daha yüksek nüks oranları görülmüştür. Buna karşılık, sağkalım oranları açısından EZH2-pozitif ve EZH2-negatif hastalar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Bmi-1 ve EZH2 ekspresyonu prognostik analiz sonuçları benzer bulunmuştur. İki grup arasında sağkalım oranları arasındaki fark anlamlı olmasa da, kümülatif nüks oranları Bmi-1-negatif hastalara göre Bmi-1-pozitif hastalarda daha yüksek olarak izlenmiştir. Mevcut analizler EZH2 ve Bmi-1 proteinlerin artmış ekspresyonunun *Polycomb* grup protein ve ortalama yaşam süresi arasında anlamlı bir ilişki olmamasına rağmen hepatektomi sonrası nüks ile ilişkili olduğunu göstermektedir.¹⁴²

Hui Wang ve arkadaşları¹⁰⁶ tarafından yapılan bir çalışmada 137 HSK'lu hastanın, 41'inde (% 29.9) yüksek, 96'sında düşük düzeyde Bmi-1 ekspresyonu saptamıştır. Bmi-1 ekspresyonu ile hasta yaşam süreleri karşılaştırıldığında, yüksek Bmi-1 protein düzeyine sahip olan hastaların kötü genel sağkalım oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir.⁹⁰ Sasaki ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda da EZH2 ve Bmi-1 aşırı ekspresyonunun, vasküler invazyon ve lenf nodu metastazı dahil olmak üzere agresif klinik davranış ile ilişkili olduğunun altı çizilmiştir.^{143,144}

Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak, vasküler invazyon izlenen grupta EZH2 ve Bmi-1 pozitiflik oranı daha yüksek bulundu. EZH2 ve Bmi-1 ekspresyon düzeyi ile vasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edildi, p değerleri p=0,025 ve p=0,004 olarak saptanmıştır. Ayrıca, tümör çapı ile Bmi-1 ekspresyon oranları karşılaştırıldığında, büyük tümör çapı olan vakalarda yüksek Bmi-1 ekspresyonu izlendi (p=0,037). Bmi-1 sonuçları ile tümör çapını kıyaslandığında,

Bmi-1 ekspresyon düzeyi yüksek olan grupta tümör çapının daha büyük olduğu dikkati çekti. Bmi-1 ekspresyonu düşük olan grubun % 46.9'unda tümör çapı 4-9 cm arasındayken, Bmi-1 ekspresyonu yüksek olan grubun % 83.3'ünün tümör çapı 4-9 cm arasında olduğu saptandı ($p=0.037$). EZH2 ve Bmi-1 proteinlerinin ekspresyon düzeyleri ile yaşam süresi karşılaştırıldığında ekspresyon düzeyi yüksek olan grupta ortalama yaşam süresinin daha kısa olduğu tespit edildi ve bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,034$ ve $p=0,008$).

Sonuç olarak; HSK ileri yaşlarda özellikle erkeklerde sık görülmekte ve HSK için ülkemizde halen viral etiyoloji, özellikle de HBV en önemli risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmamızda GS ekspresyon durumunun ortalama sağkalım süresini etkilediği görülmüştür. Ayrıca PcG proteinlerinden olan EZH2 ve Bmi-1'in HSK tanısında ve hastaların takibinde prognostik bir gösterge olarak kullanılabileceğini göstermiştir. İmmünohistokimyasal analizler sonucu EZH2 ve Bmi-1 ekspresyonu ile HSK gelişimi ve malign davranışı arasında açık bir ilişki saptanmıştır. Böylece GS, EZH2 ve Bmi-1, HSK'a karşı yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde hedef moleküller olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

1- Çalışma grubuna 50 adet hepatosellüler karsinom hastası dahil edilmiştir, olguların yaş ortalaması $59,1 \pm 14,8$ (18-94)'tür ve hastaların 41'i (% 82) erkek, 9'u (% 18) kadındır.

2- Etyopatogenez değerlendirmede, 26 olgunun (% 52) HBV pozitif, 10 olgunun (% 20) HCV pozitif, 5 olgunun (% 10) HBV+HCV pozitif olduğu görülmüş, bu olgular kronik hepatit veya siroz olarak değerlendirilmiştir. 9 (% 18) olguda ise etyolojik faktör belirlenememiştir.

3- Çalışmamızda hastaların 29'u eks olmuştur ve hastaların tahmini yaşam süreleri ortama 30 ± 3 (24-37) ay olarak belirlenmiştir.

4- Hastaların 22'sinde (% 44) damar invazyonu mevcuttur ve bu hastalardan 10 tanesi eks olmuştur, 28 vakada (%56) damar invazyonu tespit edilmemiştir, bu hastaların 19'unun eks olduğu öğrenilmiştir. Damar invazyonu olan grupta ortalama yaşam süresi 16 ± 3 ay iken, damar invazyonu izlenmeyen grupta ise 36 ± 4 ay olarak bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmiştir ($p=0.019$).

5- HSP70 ile, 16 HSK olgusunda (% 32) düşük düzeyde, 34 HSK olgusunda (% 68) ise yüksek düzeyde ekspresyon saptanmıştır. HSP70 ekspresyonu ile tümör boyutu, damar invazyonu, diferansiasyon derecesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Düşük ekspresyon gösteren 16 hastanın 10'unun ve yüksek düzey ekspresyon gösteren 34 hastanın 19'unun eks olduğu öğrenilmiştir. HSP70'in düşük ve yüksek düzey ekspresyonları ile yaşam süreleri arasında da istatistik olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır.

6- Glutamin Sentetazın 22 olguda (% 44) düşük düzeyde, 28 olguda (% 56) yüksek düzeyde ekspresyon saptanmıştır. Düşük düzeyde ekspresyon olan 22 hastanın 15'inin, yüksek ekspresyon gösteren 28 hastanın 14'ünün eks olduğu öğrenilmiştir. Ekspresyon düzeyleri yüksek olgularda, tahmini yaşam süresi 15 ± 2 ay iken; GS'in düşük düzeyde ekspresyon gösterdiği olgularda ortalama yaşam süresi ise 38 ± 4 ay olarak belirlenmiştir. Bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,018$).

7- CAP2 ile 14 vakada (% 28) düşük düzeyde ekspresyon, 36 (% 72) vakada yüksek düzeyde ekspresyon izlenmiştir. Düşük düzeyde ekspresyon gösteren 14 vakanın 9'u; yüksek düzeyde ekspresyon gösteren 36 vakanın da 20'si eks olmuştur.

Yaşam süresi ile CAP2 ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır.

8- EZH2 ile 36 olguda (% 72) düşük düzeyde, 14 HSK olgusunda (% 28) yüksek düzeyde ekspresyon izlenmiştir. Düşük düzeyde ekspresyon izlenen 36 olgunun 23'ü, yüksek düzeyde ekspresyon izlenen 14 hastanın ise 6'sının eks olduğu öğrenilmiştir. EZH2 ekspresyon düzeyleri ile hastaların yaşam süreleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,034$).

9- EZH2 ekspresyonu ile vasküler invazyon karşılaştırıldığında ise vasküler invazyonu olan grupta ekspresyon oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0,025$).

10- Bmi-1 ile 32 (% 64) vakada düşük, 18 vakada (% 36) yüksek düzeyde ekspresyon görülmüştür. Düşük düzeyde ekspresyon gösteren 32 hastanın 22'si eks olurken yüksek ekspresyon izlenen 18 hastanın 7'si eks olmuştur. Böylece, Bmi-1 ile yaşam süresi karşılaştırıldığında, ekspresyon düzeyi yüksek olan grupta ortalama yaşam süresinin daha kısa olduğu görülmüştür ($p=0,008$).

11- Bmi-1 sonuçları ile tümör çapı kıyaslandığında, Bmi-1 ekspresyon düzeyi yüksek olan grupta tümör çapının daha büyük olduğu saptanmıştır. Bmi-1 ekspresyonu düşük olan grubun % 46.9'unda tümör çapı 4-9 cm arasındayken, Bmi-1 ekspresyonu yüksek olan grubun % 83.3'ünün tümör çapı 4-9 cm arasında olduğu saptanmıştır ($p=0.037$).

12- Damar invazyonu olan grubun Bmi-1 ekspresyon düzeyinin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır ve sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.004$).

13- İstatistiksel sonuçlara göre EZH2, Bmi-1 ve GS ekspresyonları ile yaşam süreleri arasında anlamlı sonuç elde edilmiştir ($p=0,034$, $p=0,008$ ve $p=0,018$). Sonuç olarak bu proteinlerin ekspresyon düzeyi arttıkça yaşam süresinin kısaldığı dikkat çekicidir.

KAYNAKLAR

- 1- **Rosai J.** *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. Elsevier Inc. 10th ed. **2011**, Liver, pp 942-954
- 2- **Junqueira CL.** *Basic Histology*. Appleton& Lange Publications. 7th ed. **1992**, Liver, pp 380-394
- 3- **Parkin DM, Pisani P, Ferlay J.** Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* **1999**; 80: 827-841
- 4- **Montalto G, Cervello M, Giannitrapani L. et al.** Epidemiology, risk factors, and natural history of hepatocellular carcinoma. *Ann N Y Acad Sci* **2002**; 963: 13-20
- 5- **Sherman M.** Hepatocellular carcinoma: epidemiology, risk factors and screening. *Semin Liver Dis* **2005**; 25:143-154
- 6- **Toylu A.** Hepatosellüler karsinoma hücre dizilerinde hipoksi ve radyasyon stresine karşı hücrenin direnç geliştirmesinde HGF sinyal iletimi sisteminin rolünün belirlenmesi. *Doktora Tezi*, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, **2007**
- 7- **Mıstık R.** Türkiye'de viral hepatit epidemiyolojisi. Yayınların irdelenmesi. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (ed). *Viral Hepatit* **2007**;9-50
- 8- **Collier J, Sherman M.** Screening for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* **1998**; 27:273-8.
- 9- **Alacacioglu A, Somali I, Simsek I ve ark.** Epidemiology and Survival of Hepatocellular Carcinoma in Turkey: Outcome of Multicenter Study *Jpn J Clin Oncol.* **2008 Oct**;38(10):683-8.
- 10- **Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB.** Cancer incidence in five continents. *IARC Sci Publ*, **2002**;155:1-781.
- 11- **M.I.F. Shariff, I.J. Cox, A.I. Gomaa, S.A. et al.** "Hepatocellular carcinoma: current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diagnosis and therapeutics," *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*, vol. 3, no. 4, pp. 353-367, **2009**
- 12- **H. Nordenstedt, D. L.White, and H. B. El-Serag,** "The changing pattern of epidemiology in hepatocellular carcinoma," *Digestive and Liver Disease*, vol. 42, no. 3, pp. 206-214, **2010**
- 13- **K. A. McGlynn and W. T. London,** "Epidemiology and natural history of hepatocellular carcinoma," *Best Practice and Research*, vol. 19, no. 1, pp. 3-23, **2005**
- 14- **El-Serag HB.** Epidemiology of viral hepatitis and Hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. **2012 May**;142(6):1264-1273.
- 15- **Yu MW, ChenCJ.** Elevated serum testosterone levels and risk of hepatocellularcarcinoma. *CancerRes*, **1993**; 53:790-794
- 16- **Parikh S, Hyman D.** Hepatocellular cancer: a guide for the internist. *Am J Med* **2007**; 120: 194-202
- 17- **Bosch FX, Ribes J, Diaz M, Cleries R.** Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* **2004**; 127: S5-S16.
- 18- **Gish RG.** Hepatocellular carcinoma: overcoming challenges in disease management. *Clin Gastroenterol Hepatol* **2006**; 4:252-61.
- 19- **Park BC, Huh MH, Seo JH.** Differential expression of transforming growth factor alpha and insulin-like growth factor II in chronic active hepatitis B, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, **1995**; 22:286-294.
- 20- **Thorgeirsson SS, Lee J, Grisham JW.** Functional genomics of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, **2006**;43:145-150.

- 21- **Pang RW, Poon RT.** From molecular biology to targeted therapies for hepatocellular carcinoma: the future is now. *Oncology*. **2007**;72 Suppl 1:30-44
- 22- **el-Refaie A, Savage K, Bhattacharya S, et al.** HCV-associated hepatocellular carcinoma without cirrhosis. *J Hepatol* **1996**; 24: 277-285
- 23- **Global burden of Hepatitis C Working group.** Global burden of disease for hepatitis. *J Clin Pharmacol*. **2004 Jan**; 44(1):20-9
- 24- **Venegas M, Brahm J, Villanueva RA.** Genomic determinants of hepatitis C virus antiviral therapy outcomes: toward individualized treatment. *Ann Hepatol*. **2012 Nov-Dec**;11(6):827-37.
- 25- **Gomez J, Martell M, Quer J.** Hepatitis C viral quasispecies. *J Viral Hepat*. **1999 Jan**;6(1):3-16.
- 26- **Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, Gibo Y.** Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology*. **1990 Oct**;12(4 Pt 1):671-5.
- 27- **Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, Co RL.** Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med*. **1995 Jun 1**;332(22):1463-6.
- 28- **Suruki RY, Mueller N, Hayashi K.** Host immune status and incidence of hepatocellular carcinoma among subjects infected with hepatitis C virus: a nested case-control study in Japan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. **2006 Dec**;15(12):2521-5.
- 29- **Ahn J, Flamm SL.** Hepatitis C therapy: other players in the game. *Clin Liver Dis*. **2011 Aug**;15(3):641-56.
- 30- **Michielsen PP, Francque SM, van Dongen JL.** Viral hepatitis and Hepatosellular carcinoma. *World J Surg Oncol*. **2005 May 20**;3:27.
- 31- **Kim BK, Han KH, Ahn SH.** Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Oncology* **2011**; 81 Suppl 1:41-9
- 32- **El-Serag HB.** Epidemiology of hepatocellular carcinoma in USA. *Hepatol Res* **2007**; 37 Suppl 2: S88-S94.
- 33- **Liu CJ, Kao JH.** Hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: epidemiology and pathogenic role of viral factors. *J Chin Med Assoc*. **2007 Apr**;70(4):141-5.
- 34- **Morgalis HS.** Hepatitis B virus infection. *Bull World Health Organ*. **1998**; 76 Suppl 2:152-3.
- 35- **Y. Liu and F. Wu.** Global burden of aflatoxin-induced Hepatocellular carcinoma: a risk assessment. *Environ Health Perspect*. **2010 Jun**;118(6):818-24.
- 36- **Garner RC, Miller EC, Miller JA.** Liver microsomal metabolism of aflatoxin B 1 to a reactive derivative toxic to Salmonella typhimurium TA 1530. *Cancer Res*. **1972 Oct**;32(10):2058-66.
- 37- **Nalpas B, Pol S, Thépot V, Berthelot P, Brechot C.** Hepatocellular carcinoma in alcoholics. *Alcohol*. **1995 Mar-Apr**; 12(2):117-20
- 38- **Morgan TR, Mandayam S, Jamal MM.** Alcohol and Hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. **2004 Nov**; 127(5 Suppl 1):S87-96.
- 39- **Watanabe S, Horie Y, Kataoka E, et al.** Non-alcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma: lessons from hepatocyte-specific phosphatase and tensin homolog (PTEN)-deficient mice. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. **2007**; 22(supplement 1):S96–S100.
- 40- **Takuma Y, Nouse K.** Nonalcoholic steatohepatitis-associated hepatocellular carcinoma: our case series and literature review. *World Journal of Gastroenterology*. **2010**; 16(12):1436–1441.
- 41- **Bugianesi E.** Non-alcoholic steatohepatitis and cancer. *Clinics in Liver Disease*. **2007**; 11(1):191–207.

- 42- **Wong CM, Ng IO.** Molecular pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Liver Int*, **2008**;28:160-174.
- 43- **Bruix J, Boix L, Sala M, Llovet JM.** Focus on hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*. **2004**; 5(3):215–219.
- 44- **Roncalli M, Park YN, di Tommaso L.** Histopathological classification of hepatocellular carcinoma. *Digestive and Liver Disease*. **2010**; 42(3):228–234.
- 45- **Farazi PA, DePinho RA.** Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment. *Nat Rev Cancer*. **2006 Sep**; 6(9):674-87.
- 46- **Zucman-Rossi J.** Molecular classification of hepatocellular carcinoma. *Digestive and Liver Disease*. **2010**; 42(3):234–241.
- 47- **Cavard C, Colnot S, Audard V, et al.** Wnt/ β -catenin pathway in hepatocellular carcinoma pathogenesis and liver physiology. *Future Oncology*. **2008**; 4(5):647–660.
- 48- **Takigawa Y, Brown AM.** Wnt signaling in liver cancer. *Current drug targets*. **2008**; 9(11):1013–1024.
- 49- **Villanueva A, Hoshida Y.** Depicting the role of TP53 in hepatocellular carcinoma progression. *Journal of Hepatology*. **2011**; 55(3):724–725.
- 50- **Guan YS, He O, La Z.** Roles of p53 in carcinogenesis, diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Journal of Cancer Molecules*. **2006**; 2(5):191–197.
- 51- **Besaratinia A, Kim SI, Hainaut P, Pfeifer GP.** In vitro recapitulating of TP53 mutagenesis in hepatocellular carcinoma associated with dietary aflatoxin B1 exposure. *Gastroenterology*. **2009**; 137(3):1127–1137.
- 52- **Samani AA, Yakar S, LeRoith D, Brodt P.** The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. *Endocrine Reviews*. **2007**; 28(1):20–47.
- 53- **Lachenmayer A, Alsinet C, Chang CY, Llovet JM.** Molecular approaches to treatment of hepatocellular carcinoma. *Digestive and Liver Disease*. **2010**; 42(3):264–272.
- 54- **Desbois-Mouthon C, Baron A, Blivet-Van Eggelpoël MJ, et al.** Insulin-like growth factor-1 receptor inhibition induces a resistance mechanism via the epidermal growth factor receptor/HER3/AKT signaling pathway: rational basis for cotargeting insulin-like growth factor-1 receptor and epidermal growth factor receptor in hepatocellular carcinoma. *Clinical Cancer Research*. **2009**; 15(17):5445–5456
- 55- **Chen JS, Wang Q, Fu XH, et al.** Involvement of PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway in invasion and metastasis in hepatocellular carcinoma: association with MMP-9. *Hepatology Research*. **2009**; 39(2):177–186.
- 56- <http://www.slideshare.net/tipciyizbiz/karacier-patoloji-pratik-e4-b2byramazankaya2>
- 57- **Roncalli M, Terracciano L, Di Tommaso L, David E, Colombo M.** Liver precancerous lesions and hepatocellular carcinoma: The histology report. *Dig Liver Dis*. **2011 Mar**; 43 Suppl 4:S361-72.
- 58- **Kobayashi M, Ikeda K, Hosaka T, et al.** Dysplastic nodules frequently develop into hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis and cirrhosis. *Cancer* **2006**; 106:636–47.
- 59- **International Working Party.** Terminology of nodular lesions of the liver: recommendations of the World Congress of Gastroenterology Working Group. *Hepatology* **1995**; 22:983– 993.
- 60- **Hytiroglou P, Park YN, Krinsky G, Theise ND.** Hepatic precancerous lesions and small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Clin North Am*. **2007**; 36(4): 867–887.
- 61- **Deugnier YM, Charalambous P, Le Quilleuc D, et al.** Preneoplastic significance of hepatic iron-free foci in genetic hemochromatosis: a study of 185 patients. *Hepatology* **1993**; 18:1363–1369.

- 62- **Kojiro M, Roskams T.** Early Hepatocellular Carcinoma and Dysplastic Nodules. *Semin Liver Dis.* **2005**; 25(2):133-42.
- 63- **Roskams T, Kojiro M.** Pathology of Early Hepatocellular Carcinoma: Conventional and Molecular Diagnosis. *Semin Liver Dis.* **2010 Feb**;30(1):17-25.
- 64- **International Consensus Group for Hepatocellular Neoplasia.** Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. *Hepatology.* **2009**;49(2):658–664.
- 65- **Sakamoto M, Hirohashi S, Shimosato Y.** Early stages of multistep hepatocarcinogenesis: adenomatous hyperplasia and early hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol.* **1991**;22(2):172–178.
- 66- **Nakashima O, Sugihara S, Kage M, Kojiro M.** Pathomorphologic characteristics of small hepatocellular carcinoma: a special reference to small hepatocellular carcinoma with indistinct margins. *Hepatology.* **1995**;22(1):101–105.
- 67- **Kojiro M, Nakashima O.** Histopathologic evaluation of hepatocellular carcinoma with special reference to small early stage tumors. *Semin Liver Dis.* **1999**; 19(3):287–296.
- 68- **Takayama T, Makuuchi M, Kojiro M.** Early hepatocellular carcinoma: pathology, imaging, and therapy. *Ann Surg Oncol.* **2008 Apr**;15(4):972-8.
- 69- **Anthony PP.** Primary carcinoma of the liver: a study of 282 cases in Ugandan Africans. *J Pathol* **1973**; 110:37–48.
- 70- **Omata M, Peters RL, Tatter D.** Sclerosing hepatic carcinoma: relationship to hypercalcemia. *Liver* **1981**; 1:33–49.
- 71- **Kojiro M, Sugihara S, Kakizoe S et al.** Hepatocellular carcinoma with sarcomatous change: a special reference to the relationship with anticancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol* **1989**; 23 Suppl:S4-8.
- 72- **Omata M, Peters RL, Tatter D.** Sclerosing hepatic carcinoma: relationship to hypercalcemia. *Liver* **1981**; 1:33–49.
- 73- **Stanley R.H, Lauri A.** Tumors of the Digestive System. *World Health Organization Classification of Tumors.* **2000**; 159-172
- 74- **Petrou A, Xynos ID, Tsigritis K.** The significance of DNA image cytometry and Edmondson-Steiner grading on prognosis after curative resection of hepatocellular carcinoma. *J BUON.* **2011 Jan-Mar**;16(1):93-7.
- 75- **MacSween R.N.M, Burt A.D, Portmann B.C, Ishak K.G, Scheuer P.J Antony P.P,** *Pathology of the Liver.* Fourth Edition. **2002**;711-742.
- 76- **Okuda K.** Natural history of hepatocellular carcinoma including fibrolamellar and hepatocholangiocarcinoma variants. *J Gastroenterol Hepatol* **2002**; 17: 401-5.
- 77- **El-Serag HB, Davila JA.** Is fibrolamellar carcinoma different from hepatocellular carcinoma? A US population-based study. *Hepatology* **2004**; 39: 798-803.
- 78- **Craig JR, Peters RL, Edmondson HA, Omata M.** Fibrolamellar carcinoma of the liver: a tumor of adolescents and young adults with distinctive clinico-pathologic features. *Cancer* **1980**; 46: 372-9.
- 79- **Stipa F, Yoon SS, Liao KH et al.** Outcome of patients with fibrolamellar hepatocellular carcinoma. *Cancer* **2006**; 106: 1331-8.
- 80- **Kanai T, Takabayashi T, Kawano Y et al.** A case of postoperative recurrence of fibrolamellar hepatocellular carcinoma with increased vitamin B12 binding capacity in a young Japanese female. *Jpn J Clin Oncol* **2004**; 34: 346-51.

- 81- **Valk-Lingbeek ME, Bruggeman SWM, van Lohuizen M.** Stem cells and cancer: the polycomb connection. *Cell* **2004**; 118:409-18.
- 82- **Sparmann A, van Lohuizen M.** Polycomb silencers control cell fate, development and cancer. *Nat Rev Cancer* **2006**; 6:846-56.
- 83- **Iwama A, Oguro H, Negishi M, et al.** Enhanced self-renewal of hematopoietic stem cells mediated by the polycomb gene product, *Bmi-1*. *Immunity* **2004**;21:843-51.
- 84- **Gil J, Peters G.** Regulation of the INK4b-ARF-INK4a tumour suppressor locus: all for one or one for all. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2006**; 7:667-77.
- 85- **Oguro H, Iwama A, Morita Y, Kamijo T, van Lohuizen M, Nakauchi H.** Differential impact of Ink4a and Arf on hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment in *Bmi-1*-deficient mice. *J Exp Med* **2006**; 203:2247-53.
- 86- **Visser HP, Gunster MJ, Kluin-Nelemans HC, et al.** The Polycomb group protein EZH2 is upregulated in proliferating, cultured human mantle cell lymphoma. *Br J Haematol* **2001**; 112:950-8.
- 87- **Croonquist PA, Van Ness B.** The polycomb group protein enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) is an oncogene that influences myeloma cell growth and the mutant ras phenotype. *Oncogene* **2005**;24:6269-80.
- 88- **Wang H, Pan K, Zhang HK.** Increased polycomb-group oncogene *Bmi-1* expression correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* **2008 May**; 134(5):535-41.
- 89- **van Kemenade FJ, Raaphorst FM, Blokzijl T, et al.** Coexpression of BMI-1 and EZH2 polycomb-group proteins is associated with cycling cells and degree of malignancy in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* **2001**; 97:3896-901.
- 90- **Kim JH, Yoon SY, Jeong SH, et al.** Overexpression of *Bmi-1* oncoprotein correlates with axillary lymph node metastases in invasive ductal breast cancer. *Breast* **2004**;13:383-8
- 91- **Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, Ciocca DR.** Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis. *Trends Biochem Sci.* **2006**; 31:164–72
- 92- **Sherman M, Multhoff G.** Heat shock proteins in cancer. *Ann N Y Acad Sci.* **2007**;1113:192–201.
- 93- **Dal Bello B, Rosa L, Campanini N, Tinelli C, Torello Viera F, D'Ambrosio G, Rossi S, Silini EM.** Glutamine Synthetase Immunostaining Correlates with Pathologic Features of Hepatocellular Carcinoma and Better Survival after Radiofrequency Thermal Ablation *Clin Cancer Res.* **2010 Apr** 1;16(7):2157-66.
- 94- **Romanucci M, Bastow T, Della Salda L.** Heat shock proteins in animal neoplasms and human tumours—a comparison. *Cell Stress Chaperones.* **2008**;13:253–62
- 95- **Cadore 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**; 21:8293-8301.
- 96- **Cieply B, Zeng G, Proverbs-Singh T, Geller DA, Monga SP.** Unique phenotype of hepatocellular cancers with exon-3 mutations in beta-catenin gene. *Hepatology* **2009**; 49:821-831.
- 97- **V. Peche, S. Shekar, M. Leichter.** CAP2, cyclase associated protein 2 is a dual compartment protein. *Cell Mol Life Sci.* **2007 Oct**;64(19-20):2702-15.
- 98- **Noegel AA, Blau-Wasser R, Sultana H, et al.** The cyclase-associated protein CAP as regulator of cell polarity and cAMP signaling in Dictyostelium. *Mol Biol Cell* **2004**; 15:934-45.
- 99- **Shibata R, Mori T, Du W, Chuma M, Gotoh M, Shimazu M, Ueda M, Hirohashi S, Sakamoto M.** Overexpression of Cyclase-Associated Protein 2 in Multistage Hepatocarcinogenesis *Clin Cancer Res.* **2006 Sep** 15;12(18):5363-8.

- 100- Tsukuma H, Hiyama T, Tanaka S, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. *N Engl J Med*. **1993 Jun 24**;328(25):1797-801.
- 101- Velázquez RF, Rodríguez M, Navascués CA. Prospective analysis of risk factors for hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis. *Hepatology*. **2003 Mar**;37(3):520-7.
- 102- Nagasue N, Ogawa Y, Yukaya H, Ohta N, Ito A. *Gastroenterology*. Serum levels of estrogens and testosterone in cirrhotic men with and without hepatocellular carcinoma. **1985 Mar**;88(3):768-72
- 103- Montalto G, Miceli M, Soresi M. Sex hormones in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep*. 1997 Jan-Feb;4(1):173-6.
- 104- Bosetti C, Levi F, Boffetta P, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Trends in mortality from hepatocellular carcinoma in Europe, 1980-2004. *Hepatology*. **2008 Jul**;48(1):137-45.
- 105- Uzunalimoğlu O, Yurdaydin C, Cetinkaya H, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in Turkey. *Dig Dis Sci* **2001**;46:1022-8.
- 106- Manno M, Cammà C, Schepis F. Natural history of chronic HBV carriers in northern Italy: morbidity and mortality after 30 years. *Gastroenterology*. **2004 Sep**;127(3):756-63.
- 107- Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet*. **1981 Nov 21**;2(8256):1129-33.
- 108- Simonetti J, Bulkow L, McMahon BJ. Clearance of hepatitis B surface antigen and risk of hepatocellular carcinoma in a cohort chronically infected with hepatitis B virus. *Hepatology*. **2010 May**;51(5):1531-7.).
- 109- Liaw et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med*. **2004 Oct 7**;351(15):1521-31.
- 110- Tremolada F, Casarin C, Alberti A, Drago C, Tagger A, Ribero ML, Realdi G. Long-term follow-up of non-A, non-B (type C) posttransfusion hepatitis. *J Hepatol* **1992**; 6:273-281
- 111- Koretz RL, Abbey H, Coleman E, Gitnick G. Non-A, non-B posttransfusion hepatitis. Looking back in the second decade. *Ann Intern Med* **1993**; 119:110-115.
- 112- Goodgame B, Shaheen NJ, Galanko J, et al. The risk of end stage liver disease and hepatocellular carcinoma among persons infected with hepatitis C virus: publication bias? *Am J Gastroenterol* **2003**; 98:2535–2542
- 113- Tong MJ, El Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* **1995**; 332:1463-1466.
- 114- Haydon GH, Jarvis LM, Simmonds P, et al. Association between chronic hepatitis C infection and hepatocellular carcinoma. *Lancet* **1995**; 345:928–929
- 115- Tong MJ, Lai LP, Murakami-Mori K. Development of hepatocellular carcinoma after clearance of hepatitis C virus with interferon therapy. *West J Med* **1997**;167:103–105
- 116- Tsujita E, Utsunomiya T, Yamashita Y. Outcome of hepatectomy in hepatocellular carcinoma patients aged 80 years and older. *Hepatogastroenterology*. **2012 Jul-Aug**;59(117):1553-5 .
- 117- Ma C, Chi M, Su H. Evaluation of the Clinical Features of Hepatocellular Carcinoma following Hepatectomy for Different Stages of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatogastroenterology*. **2012 Mar** 28;59(119).
- 118- Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*. **2010 Jun**;17(6):1471-4.
- 119- Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, Tomimatsu M, Okazaki N, Hasegawa H, Nakajima Y, Ohnishi K. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. *Cancer*. **1985 Aug 15**;56(4):918-28.

- 120- Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis.* **1999**;19(3):329-38.
- 121- A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 435 patients: the Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) investigators. *Hepatology.* **1998 Sep**;28(3):751-5
- 122- Pawlik TM, Delman KA, Vauthey JN, Nagorney DM, Ng IO, Ikai I, et al. Tumor size predicts vascular invasion and histologic grade: implications for selection of surgical treatment for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl.* **2005**; 11:1086-92.
- 123- Joo M, Chi JG, Lee H. Expressions of HSP70 and HSP27 in hepatocellular carcinoma. *J Korean Med Sci.* **2005**;20:829-34.
- 124- 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**;11:2072-9.
- 125- Diehl JA, Yang W, Rimerman RA, Xiao H, Emili A. Hsc70 regulates accumulation of cyclin D1 and cyclin D1-dependent protein kinase. *Mol Cell Biol.* **2003**;23:1764-74.
- 126- Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, Ciocca DR. Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis. *Trends Biochem Sci.* **2006**; 31:164-72.
- 127- Shin E, Ryu HS, Kim SH, Jung H, Jang JJ, Lee K. The clinicopathological significance of heat shock protein 70 and glutamine synthetase expression in hepatocellular carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* **2011 Jul**;18(4):544-50.
- 128- Li H, Sui C, Kong F, Zhang H, Liu J, Dong M. Expression of HSP70 and JNK-related proteins in human liver cancer: potential effects on clinical outcome. *Dig Liver Dis.* **2007**; 39:663-70.
- 129- Christa L, Simon MT, Flinois JP, Gebhardt R, Brechot C, Lasserre C. Overexpression of glutamine synthetase in human primary liver cancer. *Gastroenterology* **1994**;106(5): 1312-1320
- 130- Zucman-Rossi J, Benhamouche S, Godard C, et al. Differential effects of inactivated Axin1 and activated beta-catenin mutations in human hepatocellular carcinomas. *Oncogene* **2007**;26(5):774-780
- 131- Osada T, Sakamoto M, Nagawa H, et al. Acquisition of glutamine synthetase expression in human hepatocarcinogenesis: relation to disease recurrence and possible regulation by ubiquitin-dependent proteolysis. *Cancer* **1999**;85(4): 819-831
- 132- Roskams T, Kojiro M. Pathology of Early Hepatocellular Carcinoma: Conventional and Molecular Diagnosis. *Semin Liver Dis.* **2010 Feb**;30(1):17-25.
- 133- Cadoret A, Ovejero C, Terris B, Souil E, Lévy L, Lamers WH, Kitajewski J, Kahn A, Perret C. New targets of beta-catenin signaling in the liver are involved in the glutamine metabolism. *Oncogene* **2002**; 21: 8293-8301.
- 134- Di Tommaso L, Franchi G, Park YN, Fiamengo B, Destro A, Morenghi E, et al. Diagnostic value of HSP70, glypican 3, and glutamine synthetase in hepatocellular nodules in cirrhosis. *Hepatology.* **2007**;45:725-34
- 135- Osada T, Nagashima I, Tsuno NH, Kitayama J, Nagawa H. Prognostic significance of glutamine synthetase expression in unifocal advanced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* **2000**;33:247-53
- 136- Shin E, Ryu HS, Kim SH, Jung H, Jang JJ, Lee K. The clinicopathological significance of heat shock protein 70 and glutamine synthetase expression in hepatocellular carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* **2011 Jul**;18(4):544-50.
- 137- Sakamoto M, Mori T, Masugi Y, Effendi K, Rie I, Du W. Candidate Molecular Markers for Histological Diagnosis of Early Hepatocellular Carcinoma. *Intervirology.* **2008**; 51 Suppl 1:42-5.

- 138- Shibata R, Mori T, Du W, Chuma M, Gotoh M, Shimazu M, Ueda M, Hirohashi S, Sakamoto M. Overexpression of Cyclase-Associated Protein 2 in Multistage Hepatocarcinogenesis. *Clin Cancer Res*. **2006 Sep 15**;12(18):5363-8.
- 139- Gunster MJ, Raaphorst FM, Hamer KM, et al. Differential expression of human Polycomb group proteins in various tissues and cell types. *J Cell Biochem* **2001**; 81(S36):129–143.
- 140- Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature* **2002**;419:624–629.
- 141- Collett K, Eide GE, Arnes J, et al. Expression of enhancer of zeste homologue 2 is significantly associated with increased tumor cell proliferation and is a marker of aggressive breast cancer. *Clin Cancer Res* **2006**;12:1168–1174.
- 142- Yonemitsu Y, Imazeki F, Chiba T. Distinct expression of polycomb group proteins EZH2 and BMI1 in hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol*. **2009 Sep**;40(9):1304-11.
- 143- Sasaki M, Ikeda H, Itatsu K, et al. The overexpression of polycomb group proteins Bmi-1 and EZH2 is associated with the progression and aggressive biological behavior of hepatocellular carcinoma. *Lab Invest* **2008**;00 00:1-10.
- 144- Sasaki M, Yamaguchi J, Itatsu K, Ikeda H, Nakanuma Y. Overexpression of polycomb group protein EZH2 relates to decreased expression of P16INK4a in cholangiocarcinogenesis in hepatolithiasis. *J Pathol* **2008**;215:175-83.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Elif ÇALIŞ
Doğum Tarihi ve Yeri : 1983- Silifke
Medeni Durumu : Bekar
Adres : DSİ Toki Evleri. DG6B Blok, Kat 7, No:15,
Yüreğir/ADANA
Telefon : 0 (505) 391 78 33
Fax : -
E-mail : caliselif@windowslive.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Varsa Mezuniyet Derecesi : -
Görev Yerleri : 2008-2009 Mardin Yeşilli 1 Nolu Sağlık Ocağı
2009-2013 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı
Dernek Üyelikleri : Çukurova Patoloji Derneği
Alınan Burslar : -
Yabancı Dil : İngilizce