TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

HEPATOSELLÜLER KARSİNOMADA GLYPİCAN-3 TÜMÖR BELİRTECİNİN TANISAL DEĞERİ VE PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ: ALFA FETOPROTEİN İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Harun ERDAL

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hasan ÖZKAN

ANKARA
2010

T.C.
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan

"Hepatosellüler Karsinomada Glypican-3 Tümör Belirtecinin Tanısal ve Prognostik Değeri ve Alfa Fetoprotein İle Karşılaştırılması" başlıklı, Dr.Harun Erdal'a ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 15 /06 / 2010

Prof.Dr.Selim KARAYALÇIN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı
Jüri Başkanı

Prof.Dr.Hasan ÖZKAN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Gastroenteroloji Bilim Dalı
Tez Danışmanı

Doç.Dr.Bülent YALÇIN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı
Üye

ÖNSÖZ

İhtisas eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim başta İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Selim Karayalçın olmak üzere eğitim hayatıma katkıda bulunan İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine,

Tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam ve tez danışmanım Prof.Dr. Hasan Özkan'a,

Tezimin gerçekleşmesinde büyük emekleri olan Prof.Dr.Hüseyin Tutkak'a, Uz.Dr.Zihni Karaeren, Semahat Akbay ve İmmünoloji ve Merkez laboratuarı çalışanlarına,

Tezime katkılarından dolayı hastalarımıza ve hastaların kanlarının temininde yardımcı olan Gülseren Hemşireye,

İstatistiklerimi yapmama yardımcı olan Dr. Zeynep Bıyıklı'ya,

Tezimi finansal açıdan destekleyen Ankara Tıplılar Vakfı'na,

Eğitim hayatım süresince desteklerinden dolayı aileme,

Teşekkür ederim.

Dr. Harun ERDAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

ÖNSÖZ ii

İÇİNDEKİLER iii

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ vii

ŞEKİLLER DİZİNİ..... ix

TABLOLAR DİZİNİ x

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1. EPİDEMİYOLOJİ 4

2.1.1.Cinsiyet ve Yaş Dağılımı 5

2.1.2.Irksal ve Etnik Farklılıklar 5

2.2. ETYOLOJİ.....5

2.2.1.Hepatit B 5

2.2.2.Hepatit C 7

2.2.3.Çevresel Toksinler 8

2.2.4.Sigara ve Alkol kullanımı 8

2.2.5.Non Alkolik Yağlı karaciğer hastalığı ve DM 8

2.2.6.Diğer Etyolojik Faktörler 9

2.3. KLİNİK BULGULAR 9

2.3.1.Primer tümöre ait belirti ve bulgular.....10

2.3.2.Paraneoplastik sendromlar 10

2.3.2.1.Hipoglisemi 10

2.3.2.2.Eritrositoz.....11
2.3.2.3.Hiperkalsemi.....11
2.3.2.4.Sulu Daire.....11
2.3.2.5.Cilt Bulguları.....11
2.4. LABORATUAR BULGULARI.....12
2.5. EVRELEME.....12
2.5.1.TNM Evrelemesi.....12
2.5.2.Child-Pugh skorlama sistemi.....13
2.5.3.CLIP skorlama sistemi.....13
2.6. EKSTRAHEPATİK YAYILIM PATERNİ.....15
2.7. TANISAL YAKLAŞIM.....15
2.7.1.AASLD kılavuz.....16
2.7.2.Serum Belirteçleri.....17
2.7.2.1.AFP.....18
2.7.2.2.Diğer serum belirteçleri.....19
2.7.3.Görüntüleme yöntemleri.....20
2.7.3.1 Ultrasonografi (USG).....20
2.7.3.2.Endoskopik Ultrasonografi (EUS).....21
2.7.3.3.Bilgisayarlı Tomografi (BT).....21
2.7.3.4.Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG).....22
2.7.3.5.Anjiografi.....23
2.7.3.6.CT hepatik arteriografi ve arteryel portografi.....23
2.7.3.7.PET.....23

2.8.TEDAVİ YAKLAŞIMI 24
2.8.1.Parsiyel Hepatektomi 24
2.8.2.Karaciğer Transplantasyonu 25
2.8.3.Radyofrekans Ablasyon (RFA).....25
2.8.4.Perkutan Etanol veya Asetik Asik Ablasyonu (PEI) 26
2.8.5.Transarteryel Kemoembolizasyon (TACE) 26
2.8.6.Kriyoablasyon 27
2.8.7.Radyoterapi 27
2.8.8.Selektif internal irradyasyon 27
2.8.9.Sistemik Tedavi.....28
2.8.9.1.Sitotoksik Kemoterapi.....28
2.8.9.2.Hedefe yönelik tedavi 28
2.9.GLYPİCAN-3 (GPC3).....29
2.9.1.Genel Özellikler 29
2.9.2.Glypican-3 ve Kanser.....29
2.9.3.HCC de tümör belirteci olarak GPC3 32
3. GEREÇ VE YÖNTEM 34
3.1. HASTA SEÇİMİ VE ÇALIŞMA METODU 34
3.2. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER 35
4. BULGULAR.....36
5. TARTIŞMA 41
6. SONUÇLAR 47
ÖZET 48

İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY) 50

KAYNAKLAR 52

EKLER

Ek 1.Etik kurul onayı

SİMGELER VE KISALTMALAR

4-HNE	:	4-hidroksinonenal
8-OHdG	:	8-hidroksideoksiguanozin
AFP	:	Alfa fetoprotein
AJCC	:	Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (American Joint Cancer Committee)
Alk	:	Alkol
ALP	:	Alkalen Fosfataz
ALT	:	Alanin aminotransferaz
AST	:	Aspartat aminotransferaz
BT	:	Bilgisayarlı Tomografi
CLIP	:	The Cancer of the Liver Italian Program score
DCP	:	Des gamma karboksi protrombin (Des-gamma-Carboxy Protrombin)
DNA	:	Deoksi ribo Nükleik Asit
EPO	:	Eritropoetin
FDG	:	Fluorodeoxyglucose
GGT	:	Gama glutamil transferaz
GP73	:	Golgi Protein 73
GPC3	:	Glypican-3
HBeAg	:	Hepatit B ‘e’ antijeni
HBsAg	:	Hepatit B yüzey antijeni (Hepatit-B virus surface antigen)
HBV DNA	:	Hepatit B virus DNA
HBV	:	Hepatit B virusu

HCC	:	Hepatosellüler karsinoma
HCV	:	Hepatit C virusu
INR	:	International normalized ratio
Krpt	:	Kriptojenik
MELD	:	The Model for End-Stage Liver Disease
MRG	:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NAYK	:	Non-alkolik yağlı karaciğer
NPV	:	Negatif prediktif değer
OLT	:	Ortotopik karaciğer transplantasyonu
Otom	:	Otoimmün
PEI	:	Perkutan etanol veya asetik asit ablasyon
PET	:	Pozitron Emisyon Tomografisi
PIVKA II	:	Protrombin produced by vitamin K antagonist II
PPV	:	Pozitif prediktif değer
PTH	:	Parathormon
RFA	:	Radyofrekans ablasyon
TACE	:	Transarteryel kemoembolizasyon
TNM	:	Tümör Nod Metastaz
Wil	:	Wilson Hastalığı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No **Sayfa No**

2.1. CLIP skoruna göre Kaplan-Meier sağkalım eğrisi 14

2.2. Tarama veya sürveyans sırasında ultrasonda saptanan kitle için uygulanması önerilen akış seması..... 17

4.1. AFP ile GPC3 ROC eğrisi 38

4.2. AFP, GPC3 ve AFP & GPC3 kombinasyonu ROC eğrisi.....39

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

2.1. Hepatosellüler karsinoma AJCC 6.versiyon TNM evreleme sistemi.....12

2.2. Hepatosellüler karsinoma AJCC 6.versiyon TNM evre grupları 13

2.3. Child-Pugh skorlama sistemi.....13

2.4. CLIP skorlama sistemi.....14

4.1. Hastaların demografik, etyolojik ve prognostik özellikleri.....36

4.2. GPC3, $AFP_{13,}$ AFP_{20}, AFP_{100}, AFP_{200} ölçümlerinin sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer istatiksel olarak değerlendirilmesi. 37

4.3. GPC3+$AFP_{13,}$ GPC3+AFP_{20}, GPC3+AFP_{100}, GPC3+AFP_{200} ölçümlerinin sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer istatiksel olarak değerlendirilmesi.. 38

4.4. HCC li hastaların prognostik özelliklerine göre GPC3 , $AFP_{13,}$ AFP_{20}, AFP_{100}, AFP_{200} ölçümlerinin istatiksel olarak değerlendirilmesi. 40

1. GİRİŞ

Primer hepatosellüler karsinoma (HCC) dünyada 3.sık görülen kanserdir [1]. Kansere bağlı ölüm sıklığında 4.sırada olup kronik Hepatit B ve C enfeksiyonu ve karaciğer sirozu HCC gelişiminde en önemli faktördür [2-8]. Kronik Hepatit enfeksiyonu ve karaciğer sirozu gelişiminden uzun yıllar sonra kanser gelişmekte ve tedavisi sınırlı kalmaktadır. Genellikle ileri dönemde tanı konan HCC nin prognozu kötü olup yeni tanı ve tedavi stratejilerine ivedilikle ihtiyaç vardır. HCC nin erken evrede tanı için görüntüleme yöntemleri ve serum tümör belirteçleri kullanılarak riskli populasyona düzenli tarama programları uygulanmalıdır. Risk altındaki populasyonda HCC erken tanısında daha sensitif ve spesifik serum belirteçlerinin gelişmesi, hastaların artmış sağkalımını sağlar.

Kanser, uzun zamanlı süreç ve dört zorunlu faz boyunca gelişir:

-İndüksiyon fazı

-İnsitu faz (lokal faz)

-İnvazyon fazı

-Disseminasyon fazı

Kanserin, indüksiyon fazında saptanması idealdir. Ancak bilimsel olarak bugün için bu imkansız görülmektedir. Çünkü bu fazda kişide hiçbir bulgu tespit edilemez. İkinci faz olan insitu fazda kanseri yakalamak, ikinci ideal seçenek olmaktadır. Çeşitli vücut sıvılarındaki düzeyi tümörün varlığı ve gelişimi ile ilişkili bir maddenin tümör belirteci (marker) bulunabileceği söylenebilir. Geçmişten günümüze araştırmacılar özgül, güvenilir ve kolaylıkla belirlenebilir bir tümör belirteci arayışını sürdürmektedirler. Ancak bu güne kadar, bu özelliklerin tümünü

içeren bir belirteç bulunamamıştır. Kanserli dokulardan kaynaklanan ve çeşitli vücut sıvılarında artan pek çok biyolojik bileşik tümör belirteci olarak kullanılabilmektedir. Tümörün kendisinden veya tümöre konakçı yanıtı olarak üretilen, tümörü normal dokulardan ayırımında veya kanda, vücut sekresyonlarında tümör varlığını belirlenmesinde rol oynayan kanser ilişkili antijenlerdir.

Kimyasal, immünolojik ve moleküler biyolojik yöntemlerle kalitatif veya kantitatif ölçümlerle kanser varlığını belirlemede yardımcı olabilirler.

İdeal tümör belirtecinin özellikleri

Analitik özellikler

- Yüksek analitik sensitivite
- Yüksek analitik spesifite
- Doğruluk
- Kesinlik, tekrarlanabilirlik
- Düşük maliyet ile kolay ve hızlı ölçüm

Klinik özellikler

- Hastalık için yüksek sensitivite (yanlış negatif sonuçlar olmaksızın mikrometastazları belirleyebilme)
- Hastalık için yüksek spesifite (yanlış pozitif sonuç olmaması)
- Seviyeleri vücuttaki tümör yükünü yansıtmalı
- Seviyeler hastalığın stabil olduğu durumlarda nispeten sabit kalmalı, dalgalanma göstermemeli
- Tam remisyonda seviyeleri düşük kalmalı
- Stabil hastalarda prognozu belirleyebilmeli

- Sağlıklı kişilerde veya benign hastalıklarda tespit edilmemeli
- Tedaviye yanıtı erken değerlendirmeyi sağlamak için yarı ömrü kısa olmalı
- Konsantrasyonundaki düşme ve yükselmeler kanser progresyonunda ve regresyonunda öngörülebilir olmalı
- Tümör belirteçleri, başlangıç tedavisi sonrası hastalık progresyonunu değerlendirmede ve sonraki tedavilerin etkinliğinin monitörizasyonunda yararlıdır.

AFP, sirozlu hastalarda HCC surveyansında bugüne kadar önerilen tek belirteçtir. Prospektif çalışmalarda erken HCC de AFP sensitivitesi %39-64, spesifitesi %76-91 ve pozitif prediktif değeri %9-32 olarak bildirilmiştir [9,10]. Klinik çalışmalarda ultrasonografinin erken HCC de sensitivitesi %78, spesifitesi %91 ve pozitif prediktif değeri %73 olarak değerlendirilmiştir. Fakat ultrasonografinin doğruluğunun operatör bağımlı olması, surveyans testi olarak kullanılmasını sınırlamaktadır.

Glypican-3 (GPC3), hücre yüzeyine glikozilfosfatidilinositol bağları ile bağlanan heparan sülfat proteoglikandır [11]. GPC3 çoğu embriyonik dokuda fazlaca eksprese olurken çoğu erişkin dokuda down regüle olurlar. GPC3 HCC olgularda yüksek düzeylerde saptanırken normal bireylerde ve malign olmayan karaciğer hastalıklarında tespit edilen seviyeler düşük düzeydedir [12,13]. GPC3, HCC li hastaların %40-53 ün yüksek düzeyde tespit edilirken, bu hastaların ortalama 1/3 ünde AFP normal düzeydedir [14-16].

Çalışmamızın amacı, GPC3'ün HCC tanısında ve prognostik takibindeki yeri, bu bulgular doğrultusunda AFP ile karşılaştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EPİDEMİYOLOJİ

Hepatosellüler karsinoma (HCC), kanser ile ilişkili ölümlerde dünyada 4.sıradadır. İnsidansı coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir [1].

Ayrıca aynı ülkedeki etnik gruplara ve bölgelere göre HCC dağılımı değişmektedir. HCC dağılımındaki farklılıklar muhtelen hepatit virusları ve çevresel patojen maruziyetindeki varyasyonlara bağlıdır. Örneğin, HCC insidansı yüksek bölgelerde hepatit B taşıyıcılığı sıklığı yüksek iken HCC insidansı düşük bölgelerde ise taşıyıcılık düşüktür.

Yüksek insidans bölgeleri (yılda populasyonda 100000 de 15 den fazla) sahra altı Afrika, Çin, Hong Kong ve Tayvan'dır [17].

İnsidans Afrika'da 24.2/100000 iken doğu Asya'da 35.5/100000 dir [18]. Vakaların %40'ı Çin' de olup yıllık insidans 137.000 vakadır [19].

Orta insidans bölgeleri doğu ve batı Avrupa ülkeleri, Tayland, Endonezya, Haiti, Yeni Zelanda (Maoriler), Alaska (Eskimolar)dır [17].

Düşük insidans bölgeleri Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa, Avustralya ve Orta Doğu'dur. Bu bölgelerde yılda 100.000 de 3 den az vaka rapor edilmiştir.

2.1.1. Cinsiyet ve Yaş Dağılımı

Hepatosellüler karsinoma gelişimi erkeklerde daha fazladır. Yüksek insidans bölgelerinde erkeklerde 2.1 ile 5.7 kat (ortalama 3.7 kat) daha fazla görülürken bu oran orta derece insidans bölgelerinde ortalama 2.7 kattır. Cinsiyet dağılımındaki bu farklılık tam anlaşılmamakla beraber hepatit taşıyıcılığı durumu, çevresel toksinlere maruziyet ve androjenlerin trofik etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir [20].

2.1.2. Irksal ve Etnik Farklılıklar

ABD de yapılan toplum bazlı araştırmada HCC insidansında ırksal ve etnik varyasyonlar gösterilmiştir [21]. En yüksek insidansa sahip Asyalılar (11/100,000), Hispaniklerin yaklaşık iki katı iken (6,8/100.000) Kafkas ırkının dört katıdır (2.6/100.000). Altta yatan karaciğer hastalığı, genetik ve çevresel faktörler nedeniyle bu farklılık gözlenmektedir.

2.2. ETYOLOJİ

HCC gelişiminde önemli rol oynayan çeşitli etyolojik faktörleri belirlenmiştir.

2.2.1. Hepatit B

Hepatit B taşıyıcılığı ve HCC arasındaki ilişki toplum bazlı birçok çalışmada ve çeşitli yayınlarda gösterilmiştir [2-6].

Örneğin, Tayvan da 22707 erkek hükümet çalışanında HBV taşıyıcılığı (Hepatit B yüzey antijen pozitifliği) %15 saptanmış olup bu hastalar 1975 ile 1978

arasında takip edilmiş. HBs Ag taşıyıcılarında HCC rölatif riski taşıyıcı olmayanlara göre 223 kat yüksek saptanmış [2].

Başka serilerde, sirozlu ve kronik hepatitli 917 Japon hastada rölatif risk 6.9 civarındadır [3].

Hepatit B virusu, HBsAg negatif HCC li hastaların patogenezinde de rol oynayamaktadır. HBsAg negatif olan ve HCC için diğer risk faktörleri bulunmayan 91 Amerikan HCC li hasta moleküler tekniklerle değerlendirilmiş. Altmışbeş hastada HBV ve/veya HCV markırları saptanmış. Dağılımı ise %13 hastada sadece HBV, %43 hastada sadece HCV, %15 HBV ve HCV beraberdir [22].

HBeAg (+) hastalarda HCC gelişme riski HBeAg(-) hastalara göre daha fazladır. HBsAg (-) ve HBeAg (-) olanlara göre HBsAg (+) ve HBeAg (-) olanlarda HCC için rölatif risk 9.6 (95% CI 6.0 to 15.2); HBsAg (+) ve HBeAg (+) olanlarda HCC için rölatif risk 60.2 (95% CI 35.5-102.1) saptanmış [23].

Serum HBV DNA düzeyleri de HCC riski ile ilişkilidir. Bu ilişki 3653 HBsAg (+) hastanın ortalama 11.4 yıl takip edildiği ve 164 vakada HCC ve 346 vakada ölüm gelişen çalışmada da ortaya koyulmuştur. Serum HBV DNA düzeyleri 300 kopya/ml den az ile 1 milyon kopya/ml ve daha fazla olan gruplarda kümülatif insidans oranı sırasıyla %1.3 ve %14.9 olarak bulunmuştur [24].

HBV ile enfekte hastalarda HCC gelişiminde rol oynayan çeşitli risk faktörleri tanımlanmakla beraber ileri yaş (özellikle 60 ile 65 arası) ve serum HBV DNA düzeyi $>10^5$ kopya/ml üzerinde olması en güçlü bağımsız prediktördür [25].

Precore ve core mutasyonların HCC gelişimi ile ilişkisi gösterilmiştir [26,27]. HCV koinfeksiyonu da riski artırmaktadır.

Çeşitli çalışmalarda kronik HBV enfeksiyon tedavisinin HCC gelişimine etkisi değerlendirilmiş olup randomize vaka-kontrol ve kohort çalışmaların meta

analizinde interferon veya nükleozid/nükleotid analogları ile tedavinin riski önemli ölçüde azalttığı gösterilmiş [28].

2.2.2. Hepatit C

Hepatit C antikorunun bulunmasından sonra kronik hepatit C enfeksiyonu ve HCC arasındaki güçlü ilişki gösterilmiştir fakat karsinogenezde rol oynayan mekanizma net değildir [7,8].

Hepatit C li hastalarda özellikle ileri evre hepatik fibrozis ve siroz zemininde HCC gelişirken Hepatit B li hastalarda siroz gelişmeden de HCC gelişmesi önemli bir klinik gözlemdir. Yaygın bir kanaat olarak Hepatit C virusunun indüklediği kronik inflamatuar proçes ve hızlı hücresel turn-over'ın HCC ye yol açtığı düşünülmektedir. Bir teoriye göre HCV ile enfekte karaciğerde salınan sitokinler ve mikroçevredeki imbalans, artmış inflamasyon ve hücre turn-over ile siroza neden olur. Az diferansiye hepatositler prolifere olarak displastik nodül ve HCC oluşumuna yol açarlar. HCV ile ilişkili HCC nin inflamasyon ve nekroz derecesi ile korelasyon göstermesi, spesifik onkogen aktivasyonundan ziyade inflamasyona bağlı olduğu gösteren ve bu hipotezi destekleyen bir gözlemdir. Aksine HBV ilişkili HCC de inflamasyon ile korelasyon yoktur ve artmış HCC riskini oluşturan virusun indüklediği spesifik onkogen aktivasyon mevcuttur. HCC tanısı alan HCV li hastalarda inflamasyon derecesi prognoz ile de korelasyon gösterir. CD68+, 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) DNA eklentisi ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) protein eklentisi gibi çeşitli oksidatif stres ve inflamasyon belirteçleri HCV ve HCC hastalarında yüksek düzeylerde ve kötü prognostik faktör olarak bulunmuş [29].

Ayrıca host immün yanıtı siroz ve kansere progresyon riski ile ilişkili önemli bir faktördür.

2.2.3. Çevresel Toksinler

Aflatoksin, genellikle mısır, soya fasulyesi ve fıstık kontamine eden bir mikotoksindir. Uzun süre aflatoksin maruziyeti olan HCC li hastalarda tümör supresör geni p53 mutasyonu gözlenmiştir [30,31].

Kontamine sularda mavi-yeşil alglerdeki toksin olan mikrotoksinin HCC nin güçlü bir promotoru olduğu düşünülmektedir [32].

2.2.4. Sigara ve Alkol Kullanımı

Sigara kullanımının HCC için bir risk faktörü olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiş [33,34].

Alkol tüketimi de HCC ile ilişkili olmasına rağmen eşik doz ve kullanım süresi net değildir. Etanol ve HCC arasındaki ilişki direkt toksik etki veya HCC için predispozan bir faktör olan siroz gelişimi ile indirekt etkisi mevcuttur [3]. Viral hepatit varlığında alkole bağlı HCC gelişim riski daha da artmaktadır [35,36].

2.2.5. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı ve diyabetes mellitus

Epidemiyolojik çalışmalarda HCC ve diyabetes mellitus arasında muhtemel ilişki olduğu ileri sürülmüş [37-39].

HCC li hastalarda altta yatan karaciğer hastalığı olarak non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYK) sıklığı artış göstermesi güçlü bir kanıttır [40].

NAYK, HCC ve siroz neden olmakla beraber patogenez tam olarak aydınlanmamıştır.

2.2.6. Diğer Etyolojik Faktörler

Diğer HCC ye yol açan nedenler ise şunlardır:

- Hemokromatozis
- Alfa-1 antitripsin eksikliği
- Glikojen depo hastalıkları
- Porfirya kutanea tarda
- Metabolik hastalıklar (Herediter tirozinemi, Sitrülinemi, Orotik Asidüri)
- Primer biliyer siroz
- Wilson hastalığı
- Otoimmün hepatit
- Thorotrast maruziyeti

2.3. KLİNİK BULGULAR

HCC tanısı koymak güçtür, tümör belirteci kullanımı, görüntüleme yöntemleri ve histolojik konfirmasyon ile tanı konmaktadır. İdeal olanı tümör küçük olan hastalarda tedavinin faydalı olacağı dönemde tanı koymaktır. Patognomonik bulgular olmaması ve karaciğer büyük fonksiyonel rezervi nedeniyle geç dönemde tanı konmaktadır [41,42].

Hastaların çoğu tanı konduğunda tedavi şansını kaybetmişlerdir. Ortalama sağkalım tanıyı takiben 6 ile 20 ay arasındadır [43]. Büyük tümör çapı, vasküler invazyon, kötü fonksiyonel durum ve nodal metastaz kötü prognoz ile ilişkilidir [44,45].

HCC gelişen hastalarda genelde kronik karaciğer hastalığı ile ilişkili semptomlar dışında semptom ve bulgu yoktur. Kompanse sirozlu hastalarda ascites, ensefalopati, sarılık, varis kanaması gibi dekompanzasyon bulguları varsa HCC açısından şüphelenmelidir. Bu komplikasyonlar tümörün neden olduğu hepatik veya portal vene yayılması veya arteriovenöz şant oluşumu ile ilişkilidir [46]

2.3.1. Primer Tümöre Ait Belirti ve Bulgular

Bazı hastalarda hafif-orta derecede üst abdomen ağrısı, kilo kaybı, erken doyma veya üst abdomende ele gelen kitle gibi belirti ve bulgular olmaktadır. Bu bulgular ilerlemiş hastalığın göstergesidir.

Nadiren de olsa obstrüktif sarılık, ishal, kemik metastazına bağlı kemik ağrısı ve akciğer metastazına bağlı dispne, tümör rüptürüne bağlı intraperitoneal kanama, santral tümör nekrozuna bağlı ateş gelişebilir. Paraneoplastik sendromlar görülebilir.

2.3.2. Paraneoplastik Sendromlar

2.3.2.1. Hipoglisemi

Genellikle ilerlemiş HCC de görülür ve tümörün artmış metabolik ihtiyacına bağlı olduğu düşünülmektedir. Plazma glukoz düzeylerinde ciddi düşmeyle seyreder ve letarji ve konfüzyona yol açar. %5 den azında tümör IGF-2 sekrete ederek bazen hastalığın erken döneminde ciddi semptomatik hipoglisemiye yol açar [47,48].

2.3.2.2. Eritrositoz

HCC de eritrositoz muhtelen tümörün EPO sentezine bağlıdır. Hastaların %23 ünde serum EPO yüksek saptanmasına rağmen, hemoglobin konsantrasyonlarında ve hücre volümlerinde artış nadirdir. Hastaların çoğunluğu tanı konduğunda anemiktir.

2.3.2.3. Hiperkalsemi

Osteolitik metastazlara bağlı olabileceği gibi kemik metastazları yokluğunda PTH related peptid sekresyonuna bağlı da olabilir [49,50].

2.3.2.4. Sulu daire

HCC li sirozlu hastalarda, sirozlu kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksektir (%48 & %9). Nadiren de olsa hipokalemi ve aklorhidriye yol açan şiddetli ve dirençli ishal olabilir. Altta yatan mekanizma tam olarak anlaşılmamakla beraber Vazoaktif intestinal polipeptid (VIP), Gastrin gibi intestinal sekresyona yol açan peptid salımına bağlı olduğu düşünülmektedir [51].

2.3.2.5. Cilt bulguları

Dermatomiyozit, pemfigius folaceus, Leser-trelat işareti, pitriasis rotunda, porfiria kutanea tarda (PKT)

2.4. LABORATUAR BULGULARI

Genellikle nonspesifiktir. Hastaların çoğunda siroz zemininde HCC gelişmekte ve siroza bağlı trombositopeni, hipoalbuminemi, hipoproteinemi, hiperbilirubinemi mevcuttur. Genellikle orta derecede anemi, hiponatremi, hipokalemi, metabolik alkaloz gibi elektrolit imbalansı bulunur. Serum aminotransferaz, ALP ve GGT düzeyleri nonspesifik olarak yükselir.

2.5. EVRELEME

2.5.1. TNM Evrelemesi

TNM evreleme sistemi, hastalarda evreye bakılmaksızın açık bir prognostik faktör olan karaciğer hastalığını değerlendirmediğinden dolayı eleştirilmektedir (Tablo 2.1 ve Tablo 2.2) [52].

Tablo 2.1: Hepatosellüler karsinoma AJCC 6.versiyon TNM evreleme sistemi

Primer Tümör (T)	
Tx	Tümörün büyüklüğü değerlendirilememiştir
T0	Primer tümör kanıtı yok
T1	Vasküler invazyonu olmayan soliter tümör
T2	Vasküler invazyonlu soliter tümör veya hiç birisi >5 cm olmayan multipl tümör
T3	>5 cm olan multipl tümör veya portal veya hepatik venin bir dalını tutan tümör
T4	Safra kesesi dışındaki çevre organlara direkt uzanımı olan veya visseral peritonu perfore eden tümör
Bölgesel Lenf Bezleri (N)	
Nx	Bölgesel lenf bezlerinin değerlendirilememesi
N1	Bölgesel lenf bezi metastazları yok
N2	Bölgesel lenf bezi metastazları var
Uzak metastaz (M)	
Mx	Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Tablo 2.2: Hepatosellüler karsinoma AJCC 6.versiyon TNM evre grupları

Evre I	T1	N0	M0
Evre II	T2	N0	M0
Evre IIIA	T3	N0	M0
Evre IIIB	T4	N0	M0
Evre IIIC	Herhangi T	N1	M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

2.5.2 Child-Pugh skorlama sistemi

Child-Pugh skorlama sistemi HCC tedavisine sokulmıştur, çünkü altta yatan karaciğer fonksiyon durumunu değerlendirmekte ve tedaviyi etkilemektedir (Tablo 2.3) [53].

Tablo 2.3: Child-Pugh skorlama sistemi

Parametre	**Verilecek puan**		
	1	**2**	**3**
Asit	Yok	Hafif	Orta
Bilirubin (mg/dL)	<2	2-3	>3
Albumin (g/dL)	>3.5	2.8-3.5	<2.8
Protrombin zamanı			
Kontrolün üzerinde saniye	1-3	4-6	>6
INR	<1.7	1.7-2.3	>2.3
Ensefalopati	Yok	Evre 1-2	Evre 3-4

Total skor: *Evre A:*5-6, *Evre B:*7-9, *Evre C:*10-15

2.5.3 CLIP skorlama sistemi

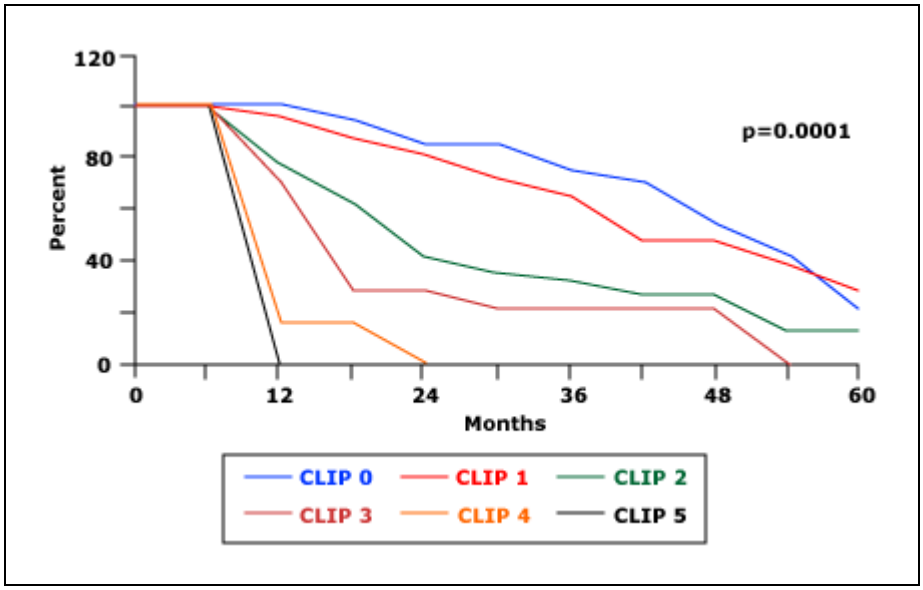
CLIP (The Cancer of the Liver Italian Program score) skorlama sistemi tümörün özellikleri (makroskopik morfoloji, serum AFP düzeyi, portal ven tromboz varlığı) ve sirozun şiddetine göre 0 ile 6 arasında skor veren prognostik bir yöntemdir (Tablo 2.4). Farklı coğrafi bölgelerde yapılan çeşitli çalışmalarda

özellikle cerrahi dışı tedavi alan hastalar için TNM, Okuda ve Child-Pugh sistemi ile karşılaştırıldığında daha iyi bir prognostik prediktördür [54].

Tablo 2.4: CLIP skorlama sistemi

Değişken	Skor
Child-Pugh skoru	
A	0
B	1
C	2
Tümör Morfolojisi	
Uninodüler	0
Multinodüler	1
Masif	2
AFP	
<400	0
>400	1
Portal ven trombozu	
Yok	0
Var	1

Yapılan bir çalışmada CLIP skoru 0, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 ya göre ortalama sağkalım oranları sırasıyla 31, 27, 13, 8, 2 ve 2 ay olarak bulunmuş (Şekil 2.1) [55].



Şekil 2.1: CLIP skoruna göre Kaplan-Meier sağkalım eğrisi [55]

2.6. EKSTRAHEPATİK YAYILIM PATERNİ

Tanı konulduğunda veya hastalığın rekürrensinde ekstrahepatik yayılım oranı %10-20 arasındadır [56-62].

En sık yayılım bölgeleri akciğer, intraabdominal lenf nodu, kemik, adrenal bez iken, nadiren beyine yayılır [63]. Tümör çapı >5 cm olan hastalarda ekstrahepatik metastaz sıktır. Perihepatik lenfadenopati ekstrahepatik yayılım olarak kabul edilmemektedir. Sirozlu hastalarda benign nodal büyüme sıktır ve genellikle porta hepatiste ve portakaval boşlukta görülür .

2.7. TANISAL YAKLAŞIM

Karaciğer sirozu, kronik viral hepatit gibi altta yatan karaciğer hastalığı olanlarda AFP yüksekliği de varsa HCC den şüphelenmelidir [44]. Hastaların USG, CT ve/veya MRG ile görüntülenmesi başlangıç tanısal yöntemdir. Sirozlu hastalarda herhangi bir solid nodül kesin olarak hemanjiom değilse aksi ispat edilene kadar HCC olarak kabul edilmelidir. Lezyon hipervasküler, artmış T2 intensitesi varsa, venöz invazyonu gösteriyorsa veya AFP yüksekliği eşlik ediyorsa HCC tanısı neredeyse kesindir. Eğer görüntüleme yöntemleri tanısal değilse, takip eden görüntülemeler tanıyı aydınlatır. Displastik nodül stabil kalırken, büyüyen dominant lezyon HCC lehine yorumlanır. Stabil nodüller yakın takip gerektirir. Displastik nodüllerin ileride HCC dönüşme riski yüksektir [64].

Sirozu olmayan hastalarda ise displastik nodül veya fokal nodüler hiperplazi tanısı kesin olmayan karaciğerde herhangi bir kitlede özelikle lezyon hipervasküler ise, HCC düşünülmelidir.

Tanıya spesifik ipuçlarının yokluğunda ise biyopsi uygundur.

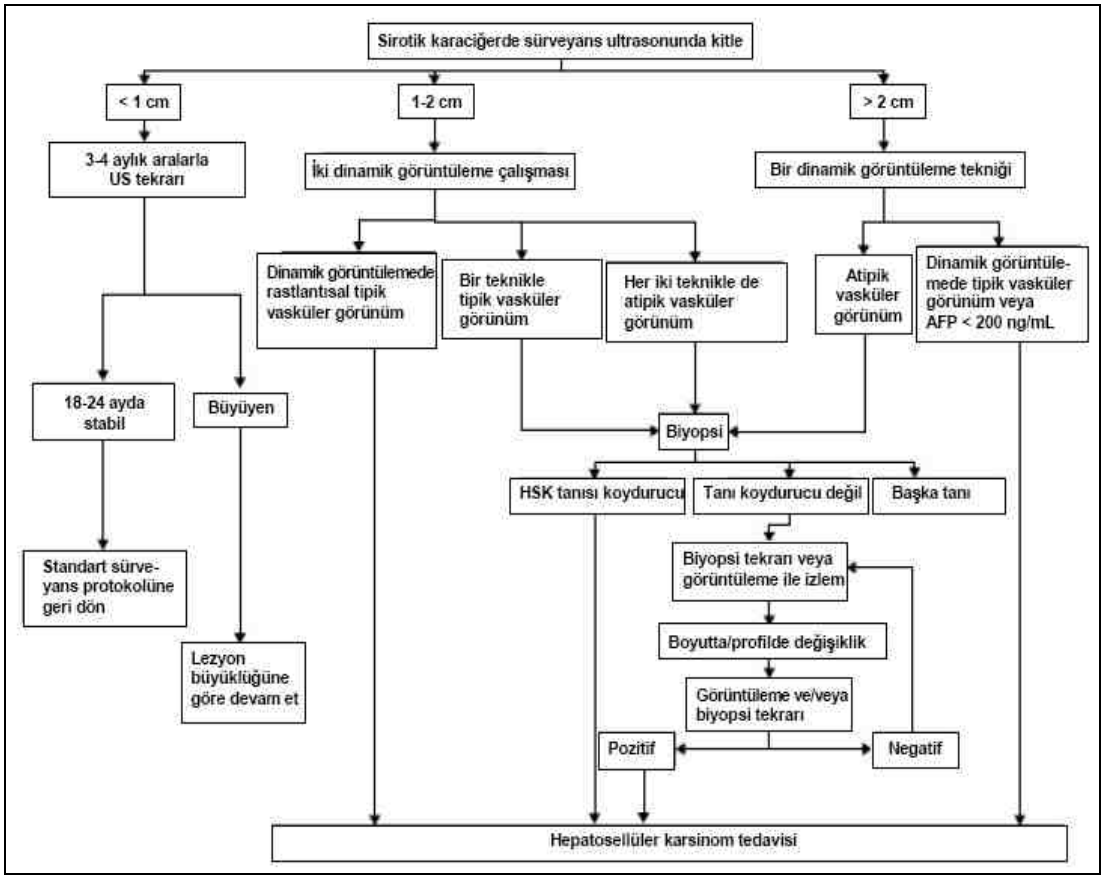
Perkutan biyopsinin sadece tanısal görüntüleme sonuçları kesin olmayan durumlarda yapılmalıdır. Biyopsinin kanama, tümör yayılımı gibi riskleri vardır. Yayılım riski %1.6-%5 arasında değişmektedir [65-69]. Biyopsi uygulama kararını verirken tümör yayılma riski göz önüne alınmalı, özellikle cerrahi rezeksiyon veya karaciğer transplantasyonu yapılacak hastalara uygulanmalıdır.

2.7.1 AASLD kılavuz

USG de saptanan 1 cm den küçük nodüller 3-6 ay aralıklarla USG takibi yapılır. 2 yıl süresince büyüme olmazsa (6-12 ay) rutin sürveyansa geçilir.

Sirotik karaciğerde USG de 1-2 cm bulunan nodül USG, kontrastlı CT veya kontrastlı MRG gibi iki dinamik inceleme yapılır. İki teknikte de tipik HCC bulguları (hipervasküler arteryel faz, portal/venöz fazda washout gibi) mevcutsa lezyon HCC olarak tedavi edilir. Bulgular karakteristik değil veya vasküler profil teknikler arasında koinsidental değilse biyopsi yapılmalıdır.

Başlangıçta nodül 2 cm den büyükse ve tipik dinamik görüntüleme özellikler varsa HCC tanısı için biyopsi gerekli değildir. Alternatif olarak AFP>200 ng/ml ise biyopsi gerekli değildir. Görüntülemede vasküler profil karakteristik değilse ve sirotik olmayan karaciğerde nodül saptanmışsa biyopsi yapılmalıdır. Küçük lezyonların biyopsisi uzman patologlar değerlendirmelidir. Biyopsi negatif gelirse lezyon kaybolana kadar, büyüyene kadar veya karateristik tanısal HCC lezyonu olana kadar USG ve CT ile 3-6 aylık aralıklarla takip edilmelidir. Lezyon büyürse fakat HCC için atipik olursa biyopsi tekrarlanmalıdır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Tarama veya sürveyans sırasında ultrasonda saptanan kitle için uygulanması önerilen akıs seması [44]

2.7.2. SERUM BELİRTEÇLERİ

Serum AFP düzeyi HCC için en sık kullanılan belirteçtir. AFP-L3, DCP, GPC3, GP73 gibi tek başına veya AFP ile kombinasyonu ile HCC de kullanılan diğer belirteçler de mevcuttur. Fakat klinik pratikte rutin kullanımı pek olmayan araştırma aşamasında olan belirteçlerdir.

2.7.2.1 AFP

Alfa fetoprotein, normalde gestasyonel dönemde fetal karaciğer ve yolk sac dan üretilen, HCC li hastalarda da serum konsantrasyonu yükselen glikoprotein yapıda belirteçtir. Serum AFP düzeyi HCC nin boyut, evre ve prognoz gibi klinik özellikler ile korelasyon göstermez. Serum AFP düzeyi gebelikte, gonadal kaynaklı tümörlerde ve akut veya kronik hepatit gibi HCC nin eşlik etmediği karaciğer hastalıklarında da yükselebilir [70]. HCV ye bağlı sirozda da hafif yüksek seyredebilir. HCV ye bağlı sirozlu hastalarda pegile interferon ve ribavirin tedavisi ile AFP düzeylerinde anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir [71].

Sirozlu hastalarda serum AFP düzeyinde artış, HCC gelişimiyle ilişkili olabilir. Genel olarak kabul edilen serum düzeylerinin >500 ng/ml ise HCC yüksek risklidir [72]. Takiplerde hastalara HCC tanısı konduğunda genellikle serum AFP düzeyleri düşüktür [70,73].

Tümörlerin hepsi AFP sekrete etmez, küçük HCC lerin %40 ından fazlasında serum AFP düzeyi normaldir [74].

Artmış AFP düzeyleri viral hepatite bağlı HCC de alkole bağlı karaciğer hastalığından daha sıktır [75]. 357 hastanın dahil edildiği çalışmada HCC olmayan HCV li hastalardan %23 hastada AFP >10 mg/dl saptanmış [76]. Artmış AFP düzeyleri evre 3 veya 4 fibrozis, yükselmiş inr düzeyi ve AST düzeyi ile ilişkilidir. Fibrolamellar karsinomalı hastaların büyük çoğunluğunda AFP düzeyleri normaldir. Sirotik hastalarda persistan AFP yüksekliği, fluktuasyon gösteren veya normal düzeylerle karşılaştırıldığında HCC gelişimi için artmış risk vardır [77]. Yapılan çalışmalarda AFP cut-off değeri >20 ng/ml olduğunda sensitivitesi %40-65, spesifitesi %80-94, pozitif olabilirlik oranı 3.1-6.8 , negatif olabilirlik oranı 0.4-0.6 olarak gösterilmiş [9].

Farklı cut-off değerlerine göre AFP nin sensitivitesi ve spesifitesi ise şöyledir [10]:

AFP cutoff 16 ng/ml (sensitivite %62, spesifite %89)

AFP cutoff 20 ng/ml (sensitivite %60, spesifite %91)

AFP cutoff 100 ng/ml (sensitivite %31, spesifite %99)

AFP cutoff 200 ng/ml (sensitivite %22, spesifite %99)

Pozitif prediktif değerin düşük olması, HCC li hastaların tanısal ve prognostik değerlendirilmesini kısıtlamaktadır [5,10].

2.7.2.2. Diğer serum belirteçleri

AFP ölçümlerinin kısıtlılığı nedeniyle HCC tanısal ve prognostik değerlendirilmesinde çeşitli serum belirteçlerinin tek başına veya AFP ile kombinasyonuna yönelik çalışmalar yapılmış.

Örneğin, spesifik şeker zincir yapılı dolaşan AFP, yüksek düzeylerde HCC nin benign karaciğer hastalıklarından ayırımında yararlıdır. Bu yaklaşım doğrultusunda lektin reaktif AFP profili (AFP-L3) AFP düzeyleri yüksek 33 HCC hasta ve 32 HCC li olmayan sirotik hastada yapılan çalışmada, HCC li hastalarda sirozlu hastalara göre %73 oranında anlamlı derecede yüksek bulunmuş [78].

AFP nin diğer bir izoformu Lens culinaris agglutinin-reaktif AFP HCC tanısında çalışılmış fakat rolü net değildir [79].

Des-gama-karboksi protrombin (protrombin produced by vitamin K antagonisti II [PIVKA II] de HCC tanısında ümir verici bir belirteçtir [80-84].

HCC li hastanın olduğu seride 69 hastada ortalama serum konsantrasyonu 900 mcg/l olarak artmış düzeylerde iken; kronik aktif hepatit, kc metastazı ve normal kişilerde sırasıyla 10 mcg/l, 42 mcg/l ve tespit edilemeyen olmak üzere düşük değerlere sahiptir [80]. Tümör çapı 3 cm den küçük tümörlerde DCP yüksekliği nadirdir [83-85].

HCC tanısına yönelik çalışmalar yapılan diğer belirteçler:

- Tümör ile ilişkili gamaglutamil transpeptidaz GGT izoenzimleri
- Üriner transforme edici büyüme faktörü beta-1
- İntersellüler adhezyon molekülü-1
- Alfa-L-fukosidaz aktivitesi
- Glypican-3 (hücre yüzeyi heparan sulfat proteoglikan)

2.7.3. Görüntüleme Yöntemleri

HCC tanısında kullanılan görüntüleme yöntemleri Ultrasonografi (USG), Bilgisayarlı Tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve anjiografidir. Taramada sıklıkla kullanılan yöntem AFP ile beraber USG dir. HCC tanısının konmasında bu görüntüleme modalitelerinden biriyle AFP yüksekliğinin kombinasyonu doğru klinik yaklaşım için genellikle yeterlidir. HCC nin radyolojik görünümü altta yatan nedenle ilişkilidir.

2.7.3.1. Ultrasonografi (USG)

HCC yi karaciğerdeki diğer solid tümörlerden ayıramamasına rağmen, kolay ulaşılabilir, noninvaziv ve HCC taramalarında yaygın bir kullanıma sahiptir.

USG hepatik kan akımı paterni ve tümörün vasküler invazyon varlığını değerlendirmede yararlıdır. Ayrıca hepatik rezeksiyon esnasında küçük tümör nodüllerinin tespiti için de intraoperatif kullanılmaktadır.

Bir derlemede USG nin sensitivitesi %60 (%95CI 44-76%), spesifitesi %97 (95%CI 95-98%) saptanmış [86].

USG nin sensitivitesi AFP kombinasyonu ile artar. Nonsirotik Hepatit B taşıyıcılarında yapılan büyük prospektif bir çalışmada USG nin sensitivitesi, spesifitesi ve pozitif prediktif değerleri sırasıyla %71, %93 ve %15 bulunmuş. AFP ile kombine edildiğinde sensitivite %79 a yükselmiş. Özellikle kontrastlı USG gibi yeni teknikler HCC tanısında bu modalitenin doğruluğunu artırmaktadır [87,88]. Düşük pozitif prediktif değeri nedeniyle USG de saptanan şüpheli lezyonların ek tetkiklerle tanısının ve evrelemenin doğrulanması gereklidir.

2.7.3.2. Endoskopik ultrasonografi (EUS)

EUS ile iğne biyopsisiyle HCC tanısı konabilir ve CT ve MRG ile karşılaştırıldığında tanısal doğruluğu artırır [89]. Şüpheli HCC li hastaları değerlendirmede rolü önemlidir.

2.7.3.3. Bilgisayarlı tomografi (BT)

Genellikle USG de saptanan anormallikleri değerlendirmede kullanılır. Bazı merkezlerde sirozlu hastalarda HCC taramasında primer modalite olarak kullanılır. Yeni BT teknolojileri konvansiyonel yöntemlere göre karşılaştırıldığında doğruluğu artırmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda sensitivitesi %68 ve spesifitesi %93 saptanmıştır [86]. Helikal BT teknolojisi ile BT nin HCC yi tespit imkanı artmıştır. Bu teknik hızlı kontrast madde uygulaması ile hızlı görüntülemenin

kombinasyonuna bağlıdır. Üç mm kadar küçük hipervasküler HCC leri arteryel fazda tespit eder. Helikal BT sensitivitesi %90 olmasına rağmen doğruluğu otopsi çalışmaları ile henüz konfirme edilememiştir [90]. Vaskülarite derecesi 1-2 cm gibi küçük tümörlerin doğru tanısı için yeterli sensitivite kriteri değildir [91].

Bazı tümörler, hem arteryel hem portal faz görüntülemede izoatenüe olabilir, kaybolurlar. Geç faz görüntülemenin (tri faz helikal BT) eklenmesi bu tümörlerin tespitinde artırır [92]. Ayrıca kontrast madde olarak intraarteryel lipoidal kullanımı ile %93-97 gibi yüksek sensitivite oranı sağlanmaktadır [93]. Fakat bu yöntem intraarteryel enjeksiyon gerekliliği nedeniyle sık kullanılmamaktadır.

2.7.3.4. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG)

Nefrotoksik kontrast madde veya iyonize radyasyon kullanımı olmaksızın karaciğerden yüksek çözünürlükte görüntüleme sağlama avantajı vardır. HCC tanısında helikal BT ile benzer sensitiviteye sahiptir. HCC MRG da T2 ağırlıklı görüntülemede hiperintens, T1 ağırlıklı görüntülemede hipointens görülür [94]. BT ve USG ye göre daha iyi sensitivite ve spesifiteye sahip olmasına rağmen sirotik hastalarda HCC ve rejeneratif nödül ayırımı zordur [95]. MR anjiografi ile arteryel-portalve geç venöz faz hakkında 3 boyutlu veriler elde edilir [96].

Trifazik BT ile karşılaştırıldığında >10 mm HCC lezyonlarının tespitinde daha yüksek sensitiviteye sahiptir (%76 & %61). MRG nini yüksek maliyeti, standart görüntü elde edilmesi için uzun süre gerekliliği nedeniyle çoğu radyolog tarafından halen tercih edilen yöntem Helikal BT dir. Renal yetmezlik ve BT de kullanılan kontrast madde alerjisi olanlar için MRG daha yararlıdır. MRG ayrıca özellikle aşırı nodüler karaciğerde BT sonucunun belirsiz olduğunda displastik nodüllerin HCC den ayrımını sağlar [95,97].

2.7.3.5. Anjiografi

HCC tanısında az invaziv teknikler konvansiyonel anjiografinin yerini almıştır. Fakat tümörün kemoembolizasyonu ve HCC rüptüründen kanamanın kontrolünde kullanılmaktadır.

2.7.3.6. BT Hepatik Arteriografi ve Arteryel Portografi

HCC nin karakteristik tespitini artırmak için BT veya MRG ile kombine edilebilir [98-101].

Bu yöntem BT veya MRG hemen öncesi intraarteryel (superior mezenterik, hepatik veya splenik arter) kontrast madde enjeksiyonu ve arteryel ve portal venöz fazlarda görüntüleri içerir. HCC de preoperatif değerlendirmede kullanılmakla beraber ABD de nadirdir. BT hepatik arteriografi ve arteryel portografinin yararı MRG ile karşılaştırıldığında net değildir. Ayrıca invazivdir ve doğruluğu daha yüksek değildir [102].

2.7.3.7. PET

Primer HCC tespitinde, tümör evrelemesinde, tedavi yanıtının değerlendirilmesinde ve prognostik açıdan [18F]fluorodeoxyglucose (FDG) positron emisyon tomografi (PET) rolü olduğu önerilmektedir [56,103-106]. Fakat HCC tanısındaki ve evrelemesindeki yeri net değildir.

HCC de değişik derecelerde FDG birikmesi, primer tümördeki sensitivitesini kısıtlamaktadır. HCC de PET/SPECT %55-65 pozitiftir. Yüksek grade'li tümörlerin düşük grade'li tümörlere göre büyük FDG aviditesi (yüksek SUV-standartize uptake değeri) vardır [107-109]. Bu değişkenlik PET'in tanısal amaçlı kullanımını

kısıtlamaktadır. Benign ve malign lezyonların ayırımı yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar nedeniyle sınırlıdır [104,107,110,111].

2.8. TEDAVİ YAKLAŞIMI

HCC kronik karaciğer hastalığı ve siroz zemininde gelişen agresif bir tümördür. Geç tanı almaktadır ve median sağkalım süresi 6-20 ay arasındadır [43]. Tedavinin esası cerrahi rezeksiyon olmasına rağmen tümörün genişliği ve altta yatan karaciğer disfonksiyonu nedeniyle hastaların çoğu cerrahiye uygun değildir.

Diğer tedavi modaliteleri;

- Karaciğer transplantasyonu
- Radyofrekans ablasyon (RFA)
- Perkutan etanol veya asetik asit ablasyon (PEI)
- Transarteryel kemoembolizasyon (TACE)
- Kryoablasyon
- Radyoterapi
- Sistemik kemoterapi

2.8.1. Parsiyel Hepatektomi

Küratif parsiyel hepatektomi HCC nin optimal tedavisidir. Soliter lezyonu olan, hepatik vasküler invazyonu olmayan, portal hipertansiyonu olmayan ve iyi korunmuş hepatik fonksiyonu olan hastalar rezeksiyon için uygundur. İyi seçilmiş vakalarda uzun dönem relapssız sağkalım oranları ortalama %40 ve beş yıllık sağkalım oranları %90 gibi yüksektir. Çoğu cerrah tarafından <5 cm çapındaki tümörler cerrahiye uygun olarak kabul edilir. Tümörün çapı ile ilgili genel bir kural yoktur. TNM evreleme sisteminde Evre IIIB, IIIC ve IV rezeksiyon ile inkürabıl

kabul edilmektedir. Bu evreler tümörün her iki lobda olması, portal veya hepatik ven invazyonu, safra kesesinde başka direkt organ invazyonu, tümör rüptürü ve nodal ve uzak metastazı içerir. Rezeksiyon seçiminde hepatik rezerv değerlendirilmesi önemlidir. İntraoperatif mortalite sirotik hastalarda 2 kat fazladır. Sirotik hastalarda Child-Pugh klas A daha güvenlidir. HCC de hepatik fonksiyonları CLIP evrelemesi ile değerlendirilmiş ve HCC sağkalımında tümör evresi kadar önemli olduğu gösterilmiş.

2.8.2. Karaciğer Transplantasyonu

Ortotopik karaciğer transplantasyonu (OLT) <5 cm soliter lezyon veya her biri <3 cm olan en az 3 lezyon varsa, büyük damar invazyonu, bölgesel lenf nodu ve uzak organ metastazı yoksa unrezektabıl hastalarda uygun seçenektir. Dezavantajı uzun donör organ bekleme süresidir. Donör karaciğer eksikliği hastaların MELD skoru gibi parametrelere göre değerlendirilip öncelik sırasına göre dağılım yapılmalıdır.

2.8.3. Radyofekans Ablasyon (RFA)

Yüksek frekanslı değişen akımların elektrodun ucundan çevre dokuya hareketi ile lezyona radyofrekans termal enerji lokal ugulamasıdır. İyonlar dokuda değişen akım doğrultusunda hareket eder. Bu hareket dokuda friksiyonel ısınmaya yol açar. Dokuda 60ºC varan ısı ile hücre ölümü başlar ve elektrod çevresinde bölgesel nekroz ile sonuçlanır. Cerrahi şansı olmayan fakat sadece karaciğerde hastalığı olanlar için iyi bir seçenektir. RFA için mutlak tümör çapı olmamakla beraber <4 cm solid tümörü olan hastalar en iyi sonuç alınır. Sirotik hastalar için bazı klinisyenler Child-Pugh klas A ve B ile sınırlamışlardır. Rezektabl HCC de parsiyel hepatektomi ile RFA nın yararı tartışmaldır. Retrospektif serilerde RFA nın uzun dönem sağkalımı gösterilmekle beraber iki tedavi modalitesinin randomize bir çalışması yoktur. Çoğu klinisyen eğer uygunsa cerrahiyi tercih etmektedir.

2.8.4. Perkutan Etanol veya Asetik Asit Ablasyonu (PEI)

RFA gibi küçük HCC li fakat kötü hepatik rezerv nedeniyle rezeksiyon için uygun aday olmayanda genellikle tercih edilir. Küçük tümörlü hastalarda cerrahi rezeksiyona benzer sağkalım oranları sağlamaktadır. RFA nın ortaya çıkışından önce, PEI en yaygın kabul gören minimal invaziv metottu. Düşük maliyet, minimal ekipman ihtiyacı, iyi klinik sonuçlara rağmen, çoğu merkezde RFA kolaylık ve etkinlik ile PEI inin yerine geçmiştir.

2.8.5. Transarteryel Kemoembolizasyon (TACE)

HCC'nin kan desteğinin büyük ölçüde hepatik arterden sağlanması, tümör kan desteğini ortadan kaldırmak ve tümöre direkt sitotoksik kemoterapi uygulanmasını amaçlayan tekniklerin geliştirilmesine yol açmıştır. TACE, hepatik artere lipiodol veya prokoagülan madde ile birlikte olabilen kemoterapötik ajan enjeksiyonudur. Lipiodol, kemoterapötik ajanların intratümöral retansiyonunu sağlayan yağ bazlı bir kontrast maddedir.

Rezeksiyon ve RFA gibi diğer tedavilere yanıt vermeyen büyük unrezektabıl HCC tedavisinde sıklıkla kullanılır. Transplantasyon önce 'bridging therapy' olarak nadiren tanımlanmıştır.

Kesin kontrendikasyonları hepatopedal kan akım yokluğu (portal ven trombozu), ensefalopati ve bilier obstrüksiyondur.

Rölatif konrendikasyonları ise :

-Serum bilirubin >2 mg/dL

-Laktat dehidrogenaz >425 unit/L

-Aspartat aminotransferaz >100 unit/L

-Tümor büyüklüğü karaciğerin >%50 ise

-Kardiyak veya renal yetmezlik

-Ascites, yakın zamanda varis kanaması, veya ciddi trombositopeni

2.8.6. Kriyoablasyon

Kriyoprob kullanımı ile tümörün içine değişen donma-çözülme siklusları uygulamasıdır. Unrezektabıl HCC li hastalarda uygulanmaktadır. Özellikle kollateral termal hasar riski nedeniyle RFA ile ulaşılamayan lezyonların tedavisinde de bir seçenektir.

2.8.7. Radyoterapi

HCC radyosensitif bir tümördür. Karaciğer 20 Gy kadarı tolere edebilir. Üç boyutlu düzlemsel plan veya stereotaksik odaklama ile 100 Gy kadar çıkılabilmektedir.

2.8.8. Selektif internal irradyasyon

Tümöre hepatik arterden selektif olarak radyoaktif izotop (iodine-131 [131I]-labeled lipiodol or yttrium-90 [90Y]-tagged glass microspheres) uygulanmaktadır. İntrahepatik arterden (90Y)-tagged glass microspheres uygulamasının erken sonuçlarında güvenlidir ve unrezektabıl HCC li hastalarda objektif yanıt artmıştır.

2.8.9. Sistemik Tedavi

2.8.9.1. Sitotoksik Kemoterapi

Kemoterapi ileri HCC de çeşitli nedenlerden dolayı rutin kullanılmamaktadır:

HCC rölatif olarak kemoterapiye dirençli bir tümör olarak kabul edilmektedir. Yüksek oranda ilaç rezistan gen ekspresyonu, p-glikoportein, glutatyon-S-transferaz, heat shock proteinleri ve p53 mutasyonu sorumlu olabilir. Ayrıca sistemik kemoterapi altta yatan ciddi hepatik disfonksiyon nedeniyle iyi tolere edilemez.

İntensif sistemik kemoterapi alan HCC'li hastalarda viral hepatit reaktivasyonu olursa, antiviral tedavinin eklenmesi önemlidir.

Kullanılan tedavi rejimleri

Doxorubisin, Epirubisin, Mitoksantron, yüksek doz Tamoksifen, 5-FU, 5-FU + Folinik Asit, Kapesitabin, Oxaliplatin, Gemsitabin, İrinotekan, Talidomid

Kombinasyonlar ise;

Sisplatin bazlı ve Gemsitabin bazlı olark 2 gruba ayrılır.

2.8.9.2. Hedefe Yönelik Tedavi – Sorafenib

SHARP çalışmasında sorafenib (tirozin kinaz inhibitörü) sadece destek tedavisi alan ileri HCC li hastalara göre istatiksel olarak anlamlı sağkalım yararı gösterilmiştir.

Ayrıca Sorafenib + Doxorubisin kombinasyon tedavisinin sadece Doxorubisin ile karşılaştırıldığı faz 2 çalışmasının ilk sonuçlarında kombinasyon

tedavinin yararı gösterilmiştir. Kontrol kolunun sadece sorafenib olduğu randomize çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.9. GLYPİCAN-3

2.9.1. Genel Özellikler

Glypican-3, hücresel büyüme, diferansiyasyon ve migrasyonda rol oynayan glikozilfosfatidilinositol (GPI) bağlı heparan sulfat proteoglikan (HSPG) olan glypican ailesindendir. Glypican ailesinin insanda tanımlanmış 6 üyesi vardır. Heparan sulfat proteoglikan (HSPG), hücre membranı ve ekstrasellüler matriks ile ilişkili molekül ailesinden oluşur. Hücre membranında glikozilfosfatidilinositol (GPI) bağlı 'glypican' ve transmemran 'syndecan' dan oluşurlar [11].

Glypican, proteroglikanlar ve Heparan sulfat glukozaminglikan (HSGAG) olarak bilinen iki polisakkarit ünitesi bağlanan cor proteinden oluşur. 60-70 kDa cor protein sentezlendikten sonra Golgi cisimciğinde glikozilasyon ile HSGAG eklenir. C-terminalin son 50 aa lik sekansı hidrofobik domainden oluşur. Buradan GPI ile hücre yüzeyine bağlanmaktadır [112]. GP3 mezoderm kaynaklı dokular gibi embriyonel yapılarda yüksek oranda eksprese edilmektedir. Erişkin dokularda ise ekspresyon azalmıştır.

Xq26.1 yerleşimlidir.

2.9.2. Glypican-3 ve Kanser

HSPG çoğunlukla mezodermal doku ve organların gelişiminin supresyon ve modülasyonu kapsar. IGF-II nin reseptörü ile etkileşimi ve dolayısıyla fonksiyonunu modüle eder. Büyümenin regülasyonu ve tümör predispozisyonunda potent bir rolü

vardır. Farklı büyüme faktörlerinin de sinyal mekanizmalarına etkindir. IGF-II erken evre tümörgenez de sağkalım faktörüdür. IGF-II ve GPC3 ün koekspresyonu embriyonel tümörlerde de gözlenmektedir. GPC3 ekspresyonu hücre-spesifik yolakta apoptozu indükler, bu etkisi IGF peptid birikimi ile ters olur. GPC3 induced apoptozdan hücreleri korunmak, GPC3 aracılı, artırılan veya inhibe edilen diğer faktörlere karşı hücresel yanıta izin vermek için IGF ler gereklidir. GPC3 mutasyonun yol açtığı Simpson-Golabi-Behmel Sendromu (SGBS) pre ve postnatal aşırı büyüme, konjenital kalp hastalıkları, displastik böbrekler, embriyonel tümörler, makroglossi, sindaktili, polidaktili, kosta ve vertebra anormallikleri, çok sayıda meme başı, umbilikal veya inguinal herni gibi klinik prezentasyon gösterir [113]. Aşırı büyüme sendromu olan ve artmış IGF-2 ekspresyonu ile ilişkili olduğu düşülen Beckwith-Wiedemann Sendromu ile önemli benzerlikler taşımaktadır.

GPC3 hücre proliferasyonu inhibitörüdür ve bazı tip tümör hücrelerinde apoptozu indükler [114]. Bu nedenle farklı orijinli bazı tümörlerde GPC3 ekspresyonu down regülasyonu olması şaşırtıcı değildir

Normal over hücrelerinde sentez edilirken, over kanseri hücrelerinin büyük bir oranında GPC3 ekspresyonu tespit edilememektedir. GPC3 ekspresyon kaybı olan tüm vakalarda GPC3 promotorun hipermetilasyon saptanırken mutasyon bulunamamış. Demetilasyon ajan tedavisi ile ekspresyon tekrar gözlenmiş. Sonuçta ektopik GPC3 ekspresyonu over kanser hücrelerinde hücre dizisinde koloni oluşum aktivitesini inhibe eder [115].

Ratlarda normal mezotelyal hücreler ve mezotelyoma hücre dizilerinde yapılan çalışmada GPC3 ün tümör hücre dizilerinde down regülasyonu gözlenmiş. Benzer down-regülasyon insan mezotelyoma hücrelerinde de mevcuttur. Over kanserine benzer şekilde GPC3 kodon sekansında mutasyon gözlenmemiş fakat çoğu tümör hücre dizisinde GPC3 promotor bölgesinde aberan metilasyonlar saptanmış [116].

Ayrıca meme kanseri,akciğer adenokanser, kolanjiosellüler karsinomada da GPC3 down regülasyonu gözlenmiş [117-119].

İlginçtir ki; karaciğer GPC3 ekspresyonu olmamasına rağmen tümörlerin büyük çoğunluğunda Glypican up-regülasyonu mevcuttur [120].

Benzer şekilde kolonda GPC3 ekspresyonu yokken, kolorektal kanserde yüksek oranda ekspresyonu gözlenmektedir.

Embriyonik karaciğer ve barsakta yüksek ekspresyon gösterirken normal erişkin dokularda sessiz kalması, GPC3 ün bu organlar için onkofetal protein olarak davrandığını düşündürür. Genel olarak onkofetal proteinler, tümör progresyonunda kritik rol oynamazken tümör belirteci veya immonuterapide potent bir hedef olarak kullanılırlar [12,13]

Hsu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HCC de GPC3 ün diğer bir onkofetal protein olan AFP ye göre daha fazla ekspresyonu ilk kez gösterilmiş [120].

Özetle, tümör progresyonunda GPC3 farklı ekspresyon paterni göstermektedir. GPC3 (+) erişkin dokulardan kaynaklı kanserlerde tümör progresyonu esnasında GPC3 ekspresyonu azalır. Bu azalmanın malign fenotipik oluşum rol oynadığı görülmektedir.

Öte yandan sadece embriyonik dönemde GPC3 ekspresyonu olan dokulardan kaynaklı tümörlerde ise malign transfomasyonda GPC3 reekspresyonu olmaktadır. GPC3 reekspresyonun bu tümörlerin progresyonudaki oynadığı rol hala tam bilinmemektedir. Doku spesifik fartklılıkların GPC3 ün her bir dokuda farklı büyüme ve sağkalım faktörleri regülasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir.

Glypican ve tümör progresyonu gösteren başka bir çalışmada GPC1 ekspresyonunun pankreas kanserinde anlamlı derecede arttığı gösterilmiş [121]. Bu çalışmada GPC1 transfeksiyonu pankreas kanser hücre kültüründe FGF2 ve heparin

bağlayan EGF benzeri büyüme faktörü (HB-EGF) karşı mitojenik cevabı inhibe eder [121].

2.9.3. HCC de Tümör Belirteci Olarak GPC3

Yapılan çalışmalarda HCC lilerin büyük bir kısmında GPC3 messenger RNA (mRNA) düzeylerinin arttığı gösterilmiş [122,123].

Ayrıca serum GPC3 düzeyleri sağlıklı gönüllüler ve malign olmayan karaciğer hastalarına göre HCC li hastalarda anlamlı olarak yüksek saptanmış [14,120,124].

GPC3, HCC li hastaların %40-53 ünde saptanırken bu hastaların 1/3 ünde AFP düzeyi normal bulunmuştur [14-16]. Bu nedenle AFP, DCP gibi diğer belirteçlerle kombinasyonda sensitivitesi %50-72 ye kadar yükselmektedir [16].

Tayland'da yapılan ve HCC, intrahepatik kolanjiokarsinom (ICC), metastatik karsinom (MCA), karaciğer siroz, kronik hepatit ve sağlıklı gönüllülerin dahil edildiği Tangkijvanich ve arkadaşlarının çalışmasında GPC3 ölçümleri ELISA yöntemi ile yapılmış. Kronik hepatit, ICC ve sağlıklı gönüllülerde GPC3 ölçülemezken, karaciğer sirozu grubunda sadece bir hastada; MCA grubunda bir hastada (skuamöz hücreli akciğer kanseri) tespit edilmiş [125]. HCC grubunda diğer gruplara göre istatiksel olarak anlamlı şekilde GPC3 yüksek bulunmuş. Sirotik HCC ve non-sirotik HCC subgruplarında ise serum GPC3 düzeyleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiş. Malign olmayan karaciğer hastalıkları (kronik hepatit ve siroz) ile sensitivitesi , spesifitesi, pozitif prediktif değeri, negatif pediktif değeri açısından karşılaştırılmış. GPC3 için sırasıyla %53, %99, %98.1 ve %67.8 olarak saptanırken AFP için de aynı parametrelere bakılmış. AFP_{20} (cut-off değeri 20 ng/ml) için sırasıyla %73, %77, %76 ve %74 iken AFP_{100} (cut-off değeri 100 ng/ml) için sırasıyla %50, %95, %90.9 ve %65,5 saptanmış.

Her iki tümör belirtecinin kombinasyonu da sensitivitesi , spesifitesi, pozitif prediktif değeri, negatif prediktif değeri açısından değerlendirilmiş. GPC3 ve AFP_{20} kombinasyonunda sırasıyla %88, %76, %78.6 ve %86.4 iken GPC3 ve AFP_{100} kombinasyonunda sırasıyla %78, %94, %92.9 ve %81 saptanmış.

Ayrıca Child-Pugh skoru, tümör boyutu, tümör sayısı, portal ven trombozu, ekstrahepatik metastaz ve CLIP skoru açısından da GPC3 ün anlamlı bir üstünlüğü gösterilememiş [125]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA SEÇİMİ VE ÇALIŞMA METODU

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı poliklinik ve servisinde takip edilen, yeni ve eski tanı hepatosellüler karsinomalı 75 hasta, kontrol grubu olarak yine bu kliniklerden bulunan karaciğer sirozlu 55 hasta ve sağlıklı 28 kişi kontrol grubu olmak üzere, üç grup çalışmaya dahil edildi. Kan örnekleri alındı.Bu örnekler 5000 devirde 7 dakika santrifüj edilerek serumlara ayrıldı. Alınan serumlar Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalında -80 C de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Araştırmaya dahil olma kriterleri:

1. Yeni ve eski tanı tüm hepatosellüler karsinomalı hastalar
2. Kontrol grubu olarak yeni ve eski tanı tüm karaciğer sirozlu hastalar
3. Kontrol grubu olarak bilinen sağlık problemi olmayan bireyler
4. Onsekiz yaşından büyük olma
5. Olur formunu kabul eden ve imzalayan hastalar

Araştırmaya dahil olmama kriterleri:

1. Onsekiz yaşından küçük olma
2. Olur formunu kabul etmeyen ve imzalamayan hastalar
3. Hepatosellüler karsinoma ve siroz dışında karaciğer hastalığı bulunan hastalar
4. Karaciğer metastazı olan kanserli hastalar

Serum GPC3 düzeyleri ELISA yöntemi ile, serum AFP düzeyleri kemoluminesans yöntemi ile ölçüldü. Daha önceki çalışmalar doğrultusunda ve ELISA kitinin üretici ticari firmanın öneri doğrultusunda GPC3 cut-off değeri 3.9 pg/ml olarak belirlendi. AFP cut-off değerleri 13 ng/ml, 20 ng/ml,100 ng/ml ve 200 ng/ml olmak üzere 4 subgruba ayrıldı.

3.2. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerin analizi için SPSS 15 programı kullanıldı. Gruplar arası yüzde karşılaştırırken Ki-kare testi kullanıldı. Gruplar arası ortalama karşılaştırırken grup sayısı iki ve dağılım normal ise t testi, normal değilse Mann Whitney-u testi kullanıldı. Grup sayısı ikiden fazla olduğunda dağılım normal ise ANOVA, normal değilse Kruskal Wallis testi kullanıldı. Yapılan test sonucunda bulunan p değeri anlamlı bulunduğunda, farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak için çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Çok değişkenli analiz yöntemi olan Logistik regresyon analizi ile risk faktoru olan iki bağımsız değişken (roc analizinde grupları ayırt etmede anlamlı çıkan değişkenler) için model oluşturarak tahmin edilen yeni veri setinin (combine) roc analizi ile ayırıcı özellik taşıyıp taşımadığı test edildi. İki değişkenin ayrı ayrı ve kombinenin ayırt etme güçleri (eğri altında kalan alanlarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde yuksek olup olmadığı test edildi) karşılaştırıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen kişiler toplam 3 gruba ayrıldı. HCC tanısı olan 75 hastalar Grup-1; karaciğer sirozu tanısı alan 55 hasta Grup-2; 28 sağlıklı birey Grup-3 olarak gruplama yapıldı. Gruplar arası yaş dağılımı ve cinsiyet açısından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). MELD ve Child-Pugh skoru açısından HCC (Grup-1) ve sirozlu (Grup-2) hastalar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hastaların demografik, etyolojik ve prognostik özellikleri

Değişken	**HCC (n=75) Grup-1**	**Siroz (n=55) Grup-2**	**Sağlıklı (n=28) Grup-3**	**P**
Yaş (Yıl)	63±9.9	58±12.7	62.2±12.3	0.064
Erkek / Kadın	54/21	33/22	16/12	0.225
Etyoloji				
HBV/HBV+HDV	39/3/	16/5		
HCV/HBV+HCV	17/2	9/1		
Alk/Krpt/Otom/Wil	2/12/0/0	6/14/2/2		
Child skoru A/B/C	28/27/20	11/21/23	28/0/0	0.067
CLIPskoru				
0/1/2/3/4/5/6	10/18/17/14/9/6/1			
TNM Evrelemesi				
1/2/3/4	3/20/38/14			
Lezyon sayısı				
1/2/3/4/>5/diffüz	37/9/6/4/14/5			
PVT/E.M..	22 / 14			

GPC3 ve AFP nin sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer sonuçlarına baktığımızda; GPC3 için sensitivite %61.33, özgüllük %41.82, pozitif prediktif değer %58.97, negatif prediktif değer %44.43 saptandı. AFP_{13} için sensitivite %68.57, spesifite %94.55, pozitif prediktif değer %94.12, negatif prediktif değer %70.27 saptandı. AFP_{20} için sensitivite %60,

spesifite %98.08, pozitif prediktif değer %97.67, negatif prediktif değer %64.56 saptandı. AFP_{100} için sensitivite %45.71, spesifite %100, pozitif prediktif değer %100, negatif prediktif değer %59.14 saptandı. AFP_{200} için sensitivite %38.57, spesifite %100, pozitif prediktif değer %100, negatif prediktif değer %56.12 saptandı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. GPC3 , $AFP_{13,}$ AFP_{20}, AFP_{100}, AFP_{200} ölçümlerinin sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer istatiksel olarak değerlendirilmesi.

	GPC3	**AFP_{13}**	**AFP_{20}**	**AFP_{100}**	**AFP_{200}**
Sensitivite (%)	61.33	68.57	60	45.71	38.57
Spesifite (%)	41.82	94.55	98.08	100	100
PPV (%)	58.97	94.12	97.67	100	100
NPV (%)	44.43	70.27	64.56	59.14	56.12

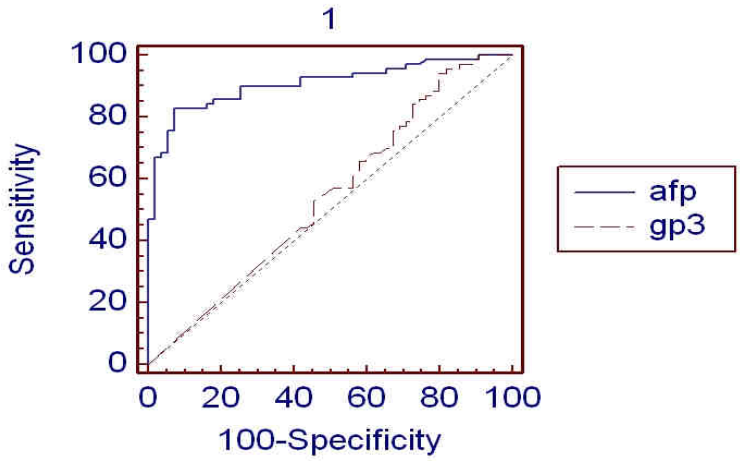
$GPC3+AFP_{13,}$ $GPC3+AFP_{20}$, $GPC3+AFP_{100}$, $GPC3+AFP_{200}$ ölçümlerinin sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer istatiksel olarak değerlendirilmesinde;

$GPC3+AFP_{13}$ için sensitivite %67.35, spesifite %71.88, pozitif prediktif değer %88, negatif prediktif değer %41.82 saptandı. $GPC3+AFP_{20}$ için sensitivite %66.67, spesifite %67.65, pozitif prediktif değer %85.33, negatif prediktif değer %41.82 saptandı. $GPC3+AFP_{100}$ için sensitivite %64.84, spesifite %58.97, pozitif prediktif değer %78.67, negatif prediktif değer %41.82 saptandı. $GPC3+AFP_{200}$ için sensitivite %64.04, spesifite %56.1, pozitif prediktif değer %76, negatif prediktif değer %41.82 saptandı (Tablo 4.3).

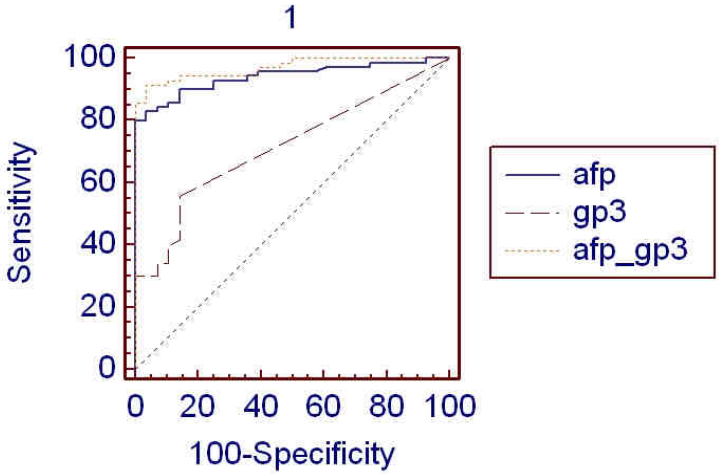
Tablo 4.3. GPC3+AFP_{13}, GPC3+AFP_{20}, GPC3+AFP_{100}, GPC3+AFP_{200} ölçümlerinin sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer istatiksel olarak değerlendirilmesi.

	GPC3+ AFP_{13}	**GPC3+AFP_{20}**	**GPC3+AFP_{100}**	**GPC3+ AFP_{200}**
Sensitivite (%)	67.35	66.67	64.84	64.04
Spesifite (%)	71.88	67.65	58.97	56.1
PPV (%)	88	85.33	78.67	76
NPV (%)	41.82	41.82	41.82	41.82

ROC analizi ile ayırıcı özellik taşıyıp taşımadığı test edildi. GPC3 ve AFP belirteçlerinin ayrı ayrı ve kombinasyonun ayırt etme güçleri karşılaştırıldı. ROC eğrisinde GPC3 ve AFP kombinasyonu, sadece AFP ye göre üstün görülse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).



Şekil 4.1. AFP ile GPC3 ROC eğrisi



Şekil 4.2. AFP, GPC3 ve AFP & GPC3 kombinasyonu ROC eğrisi

HCC li hastaların GPC3, $AFP_{13,}$ AFP_{20}, AFP_{100}, AFP_{200} ölçümleri ile portal ven trombozu, ekstrahepatik metastaz, Child-Pugh skoru, TNM evrelemesi, CLIP skoru, lezyon çapı ve lezyon sayısı ile gibi prognostik faktörlerle ilişkisi değerlendirildi. Portal ven trombozu, ekstrahepatik metastaz, Child-Pugh skoru, TNM evrelemesi, Erken evre (TNM 1+2) HCC, CLIP skoru ve uninodüler lezyon tespitinde GPC3, $AFP_{13,}$ AFP_{20}, AFP_{100}, AFP_{200} ölçümleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Lezyon çapı 10-19 mm, 20-29 mm ve $\geq$30 mm olan hasta gruplarında AFP_{100}, AFP_{200} ölçümleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptandı. Fakat GPC3 , $AFP_{13,}$ AFP_{20} ölçümlerinde anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. HCC li hastaların prognostik özelliklerine göre GPC3, AFP_{13}, AFP_{20}, AFP_{100}, AFP_{200} ölçümlerinin istatiksel olarak değerlendirilmesi.

P değeri	**GPC3**	**AFP_{13}**	**AFP_{20}**	**AFP_{100}**	**AFP_{200}**
Portal ven trombozu	0.792	0.574	0.154	0.074	0.043
Ekstrahepatik metastaz	0.865	0.303	0.745	0. 498	0.511
Child-Pugh skoru	0.210	0.170	0.704	0.281	0.361
TNM evrelemesi	0.237	0.426	0.190	0.426	0.444
Erken Evre (TNM 1+2)	0.646	0.900	0.678	0.439	0.649
CLIP skoru	0.373	0.900	0.153	**0.041**	0.077
Lezyon çapı 10-19 mm (n=15) **Lezyon çapı 20-29 mm (n=12)** **Lezyon çapı ≥30 mm (n=42)**	0.178	Yetersiz	0.154	**0.006**	**0.029**
Uninodüler lezyon (n=35)	0.742	0.122	0.329	0.337	0.086

5. TARTIŞMA

HCC, kanser ile ilişkili ölümlerde dünyada 4.sırada olup coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. Kronik Hepatit B ve Hepatit C enfeksiyonu ve siroz en önemli risk faktörüdür. HCC tanısı alan hastaların büyük çoğunluğu tanı konulduğu esnada küratif tedavi şansını kaybetmiş olup semptomatik yaklaşımda bulunulmaktadır. Erken tanı ve tedavi ile hastaların sağkalımı uzatılmaya çalışılmaktadır. Radyolojik ve laboratuar tanı yöntemleri ile risk grubundaki hastaların HCC gelişi açısından yakın takibi yapılmalıdır.

İdeal bir tümör belirtecin varlığında hastalığın sürveyansı ve hastaların sağkalımına olumlu etkisinin olacağı şüphesizdir.

Son 50 yıldır kullanılan AFP tümör belirtecinin HCC tanı ve takibindeki etkinliği sınırlıdır. Yapılan çalışmalar ışığında AFP cut-off değeri >20 ng/ml olduğunda sensitivitesi %40-65, spesifitesi %80-94 olarak gösterilmiş [9]. Erken HCC de AFP sensitivitesi %39-64, spesifitesi %76-91 ve pozitif prediktif değeri %9-32 olarak değerlendirilmiştir [9,10].

HCC için rutindeki yegane tümör belirteci olan AFP özellikle erken tanıda yeterli klinik yarar görülememesi klinisyenleri yeni tümör belirteci arayışına itmiştir.

Son yıllarda özellikle Genetik ve İmmünoloji başta olmak üzere tıptaki gelişmeler ivme kazanmıştır. Bu doğrultuda tanı ve tedavide daha etkin yöntemler için araştırmalar artmıştır.

Benzer şekilde HCC gibi tedavi modaliteleri sınırlı olan ve sağkalımı düşük bir malignitede yeni tanı yöntemleri araştırılmaktadır. İdeal tümör belirteci olmak

için geçerli olan analitik ve klinik özelliklerin yanı sıra maliyet-etkin olması da önemlidir.

Gerek dokuda gerek serumda tespit edilen makromoleküler veya genomik düzeyde tümör belirteçleri için çalışmalar devam etmektedir.

Çalışmamızda amacımız Glypican-3 tümör belirtecinin HCC de tanısal ve prognostik değerini objektif parametreler doğrultusunda değerlendirmek ve HCC için klinik pratikte rutin kullanılan AFP tümör belirteci ile mevcut parametrelere göre karşılaştırmaktı.

AFP ölçümlerinde kemolüminisan yöntemini kullanmış olup kitin üst sınırı olan 13 ng/dl; daha önce yapılan çalışmalar ve kılavuzlar göz önüne alınarak tespit edilen 20 ng/dl, 100 ng/dl ve 200 ng/dl olmak üzere 4 adet cut-off değeri belirledik. GPC3 ölçümlerinde ELISA yöntemini kullanmış olup daha önceki çalışmalar doğrultusunda ve kiti üretici ticari firmanın önerisi doğrultusunda GPC3 cut-off değeri olarak 3.9 pg/ml belirledik.

Değerlendirme kriterlerimiz hem tanısal hem de prognostik olarak iki grupta inceleyebiliriz.

Çalışmamız, mevcut kriterlere göre GPC3 ve AFP yi karşılaştıran literatürdeki ikinci çalışmadır.

Tanısal özellikler açısından sensivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerlerin sonuçlarına bakıldığında :

GPC3 için sensitivite %61.33, spesifite %41.82, pozitif prediktif değer %58.97, negatif prediktif değer %44.43 saptandı.

AFP_{13} için sensitivite %68.57, spesifite %94.55, pozitif prediktif değer %94.12, negatif prediktif değer %70.27 saptandı.

AFP_{20} için sensitivite %60, spesifite %98.08, pozitif prediktif değer %97.67, negatif prediktif değer %64.56 saptandı.

AFP_{100} için sensitivite %45.71, spesifite %100, pozitif prediktif değer %100, negatif prediktif değer %59.14 saptandı.

AFP_{200} için sensitivite %38.57, spesifite %100, pozitif prediktif değer %100, negatif prediktif değer %56.12 saptandı.

AFP_{13} ve AFP_{20} için mevcut rakamlar önceki çalışmaları teyit ediyordu. Cut-off değeri yükseldikçe beklenildiği gibi sensitivitesi düştü.

Komtomg ve arkadaşlarının yaptığı ve GPC3 ve AFP yi karşılaştıran ilk çalışmada GPC3 sensitivitesi %47 spesifitesi %100, AFP_{20} sensitivitesi %57 spesifitesi %82 , saptanmış [126].

Tangkijvanich ve arkadaşlarının yüksek insidans bölgelerinden olan Tayland'da yaptığı çalışmada iseGPC3 ün sensitivitesi %53, spesifitesi %99, pozitif prediktif değeri %98.1, negatif pediktif değeri %67.8 olarak saptanmış.

AFP_{20} için sensitivite %73, spesifite %77, pozitif prediktif değer %76, negatif prediktif değer %74 saptandı. AFP_{100} için sensitivite %50, spesifite %95, pozitif prediktif değer %90.9, negatif prediktif değer %65.5 saptandı.

Bizim sonuçlarımıza baktığımızda tanısal parametreler gerek GPC3 gerek AFP için önceki iki çalışmanın sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Fakat GPC3 tümör belirteci sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer açısından AFP ile karşılaştırıldığında AFP ye göre üstünlüğü gösterilemedi.

Çalışmamızda ayrıca GPC3 ve AFP kombinasyonunu değerlendirdik:

GPC3+AFP_{13} için sensitivite %67.35, spesifite %71.88, pozitif prediktif değer %88, negatif prediktif değer %41.82 saptandı.

GPC3+AFP_{20} için sensitivite %66.67, spesifite %67.65, pozitif prediktif değer %85.33, negatif prediktif değer %41.82 saptandı.

GPC3+AFP_{100} için sensitivite %64.84, spesifite %58.97, pozitif prediktif değer %78.67, negatif prediktif değer %41.82 saptandı.

GPC3+AFP_{200} için sensitivite %64.04, spesifite %56.1, pozitif prediktif değer %76, negatif prediktif değer %41.82 saptandı.

ROC eğrisinde GPC3 ve AFP kombinasyonu, sadece AFP ye göre üstün görülse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Komtomg ve arkadaşlarının yaptığı GPC3 ve AFP_{20} kombinasyonunda sensitivite %80 spesifite %82 saptanmış.

Tangkijvanich ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sensitivitesi, spesifitesi, pozitif prediktif değeri, negatif prediktif değeri GPC3 ve AFP_{20} kombinasyonunda sırasıyla sensitivite %88, spesifite %76, pozitif prediktif değeri % 78.6 ve negatif prediktif değeri %86.4 iken GPC3 ve AFP_{100} kombinasyonunda sırasıyla sensitivite %78, spesifite %94, pozitif prediktif değeri %92.9 ve negatif prediktif değeri %81 saptanmış

GPC3 belirteci hücre proliferasyonu inhibitörüdür ve bazı tip tümör hücrelerinde apoptozu indükler [114]. Bu nedenle farklı orijinli bazı tümörlerde GPC3 ekspresyonu down regülasyonu olması şaşırtıcı değildir. Embriyonik karaciğer ve barsakta yüksek ekspresyon gösterirken normal erişkin dokularda sessiz kalması, GPC3 ün bu organlar için AFP gibi onkofetal bir protein olarak davrandığını düşündürür. İlginçtir ki; karaciğer GPC3 ekspresyonu olmamasına rağmen tümörlerin büyük çoğunluğunda Glypican up-regülasyonu mevcuttur [120].

Benzer şekilde kolonda GPC3 ekspresyonu yokken, kolorektal kanserde yüksek oranda ekspresyonu gözlenmektedir.

Normal over hücrelerinde sentez edilirken, over kanseri hücrelerinin büyük bir oranında GPC3 ekspresyonu tespit edilememektedir. Ayrıca meme kanseri, akciğer adenokanser, kolanjiosellüler karsinomada da GPC3 down regülasyonu gözlenmiş [117-119].

HCC nin heterojen moleküler temele sahip olması ve GPC3 belirtecinin tümörgenezde ortak yolakta rol oynaması GPC3 ün HCC için ideal bir belirteç olmasını güçleştirmektedir.

Daha önceki yapılan çalışmalar ışığında GPC3 ün HCC tanısında önemli bir tümör belirteci olduğu belirtilse de bizim yaptığımız çalışmada sadece GPC3 ün AFP ye üstünlüğü olmadığı gibi GPC3 ve AFP kombinasyonun da istatistiksel olarak anlamlı olmadığını saptadık.

GPC3 belirtecinin hem tek başına hem de kombinasyonda AFP'ye üstünlüğü olmaması GPC3'ün tümör belirteci olarak klinik pratikte kullanımını kısıtlamaktadır. Kombinasyonda kullanımı ise tanısal değeri zayıf olması nedeniyle maliyet-etkinlik açısından rasyonel bir yaklaşım olmamaktadır.

Prognostik özellikler açısından ise lezyon çapı, lezyon sayısı, Child-Pugh skoru, TNM evrelemesi, CLIP skoru, portal ven trombozu ve ekstrahepatik metastaz gibi parametrelere bakıldı.

Mevcut parametrelerle GPC3'ün istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyonu gözlemlemedik..

AFP_{13} ve AFP_{20} için de benzer sonuçlar elde ettik. AFP_{100} için CLIP skoru ve lezyon çapında korelasyon gözlenirken AFP_{200} için sadece lezyon çapında korelasyon saptandı.

Tangkijvanich ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise GPC3'ün benzer sonuçlar elde edilmiş. AFP_{20} de tümör boyutu, tümör çapı ve CLIP skorunda korelasyon; AFP_{100} de ise tümör boyutu, portal ven invazyonu ve CLIP skorunda korelasyon saptanmış.

Gerek bizim çalışmamızda gerek Tangkijvanich ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada AFP nin yüksek cut-off değerinde korelasyon göstermesi istatiksel olarak anlamlı olsa da klinik pratikte yeterli değildir. Tümör belirteçlerinin esas değerlendirme kriterleri olan sensitivite ve spesifite gibi analitik parametreler cut-off değeri yükseldikçe etkinliği azalmaktadır.

Beklentimiz ideal belirtecin erken tanı için tümör boyutu, tümör çapı, evre gibi parametreler açısından üstün olmasıdır. Özellikle HCC gibi tedavi modaliteleri sınırlı ve sağkalımı düşük olan malignitede erken tanının prognostik önemi büyüktür.

Ayrıca portal ven trombozu, ekstrahepatik metastaz gibi kötü prognostik faktörlerde de korelasyon gözlenmedi. Hastalığın tanısında olduğu kadar takibinde de kullanılan tümör belirtecinin özellikle tedaviden sonra düşmesi ve nüks veya metastazlarla korelasyon gösterip yükselmesi yine tümör belirtecinden beklenen bir özelliktir.

Gerek rutinde kullanılan AFP, gerek GPC3 belirteci mevcut bulgular değerlendirildiğinde;

Her iki belirteç de hastalığın erken tanısında ve tanı konduktan sonra tedavi süresince takiplerde hastalığın seyri hakkında yeterli katkı sağlamamaktadır.

Tümör immünobiyolojisi net aydınlatılmamış bir malignite olması da HCC tanı ve tedavisini kısıtlayıcı etkenlerin başında gelmektedir.

Moleküler mekanizmalar tam anlaşıldığında hem tanısal hem tedavi açısından büyük gelişmelere yol açması muhtemeldir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda GPC3'ün tümör belirteci olarak HCC'de tanısal ve prognostik yerini değerlendirdik ve AFP ile karşılaştırdık.

Çalışmaya katılanlar HCC olanlar (Grup 1), karaciğer sirozu olanlar (Grup 2) ve sağlıklı kontrol (Grup 3) olmak üzere 3 grup şeklinde sınıflandırıldı. Buna göre;

1. GPC3, sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer gibi tanısal parametrelere göre rutinde kullanılan AFP'ye üstünlüğü gösterilememiştir.
2. GPC3, lezyon çapı, lezyon sayısı, Child-Pugh skoru, TNM evrelemesi, CLIP skoru, portal ven trombozu ve ekstrahepatik metastaz gibi prognostik parametreler açısından ise bir korelasyon göstermemekle beraber AFP'ye üstünlüğü gösterilememiştir.
3. GPC3'nin AFP subgrupları ile kombinasyonu sadece AFP'ye göre olan göreceli üstünlüğü istatistiksel olarak anlamlı değildir.
4. AFP gibi GPC3 de ideal tümör belirteci değildir.

Sonuç olarak;

Mevcut bulgular ışığında GPC3 ün HCC tanı yöntemleri arasında klinik pratikte kulanılmasının tanısal ve prognostik katkısı olmayacaktır. Daha fazla hastanın dahil olduğu ve uzun takip süreli prospektif çalışmalar, GPC3'ün HCC de tanısal ve prognostik değeri konusunda bize daha aydınlatıcı bilgiler verecektir.

ÖZET

HEPATOSELLÜLER KARSİNOMADA GLYPİCAN-3 TÜMÖR BELİRTECİNİN TANISAL DEĞERİ VE PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ: ALFA FETOPROTEİN İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Erdal H.,Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Tezi, Ankara, 2010.

Hepatosellüler karsinoma (HCC) dünyada 3.sıklıkta görülen ve 4.sırada ölüme neden olan kanserdir. Genellikle ileri dönemde tanı konan HCC nin prognozu kötü olup, HCC erken tanısında yararlanılan AFP'den daha duyarlı ve özgül serum belirteçlerinin geliştirilmesi, hastaların sağkalımında artış sağlayabilir.

Bu çalışma GPC3 tümör belirtecinin HCC tanısındaki önemini ve prognostik takibindeki yerini belirlemek amacıyla ve AFP ile karşılaştırmak amacıyla yapıldı.

HCC tanısı alan 75 hasta ve kontrol grubu olarak 55 karaciğer sirozlu hasta ve 28 sağlıklı birey araştırmaya alındı. Serum GPC3 düzeyleri ELISA yöntemi ile, serum AFP düzeyleri kemoluminesans yöntemi ile ölçüldü. GPC3 cut-off değeri 3.9 pg/ml olarak belirlendi. AFP cut-off değerleri 13 ng/ml, 20 ng/ml,100 ng/ml ve 200 ng/ml olmak üzere 4 subgruba ayrıldı.

Sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer gibi tanısal parametrelerde GPC3 ile $AFP_{13,}$ AFP_{20}, AFP_{100}, AFP_{200} subgrupları ve GPC3+$AFP_{13,}$ GPC3+AFP_{20}, GPC3+AFP_{100}, GPC3+AFP_{200} kombinasyonları karşılaştırıldı.

GPC3 belirtecinin AFP ye üstünlüğü gösterilemedi. GPC3 ve AFP kombinasyonu, AFP ye göre üstün görülse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Prognostik açıdan yapılan değerlendirmede ise lezyon çapı, lezyon sayısı, Child-Pugh skoru, TNM evrelemesi, CLIP skoru, PVT ve ekstrahepatik metastaz

gibi parametrelerde GPC3 ile $AFP_{13,}$ AFP_{20}, AFP_{100}, AFP_{200} subgrupları karşılaştırıldı. AFP ve GPC3 belirteçlerinin korelasyonu gözlenmedi ($p>0.05$).

Sonuç olarak; GPC3 ün HCC tanı yöntemleri arasında klinik pratikte kulanılmasının tanısal ve prognostik katkısı olmayacağı düşünüldü. Daha fazla hastanın dahil olduğu ve uzun takip süreli prospektif çalışmalar, GPC3'ün HCC de tanısal ve prognostik değeri konusunda bize daha aydınlatıcı bilgiler verebilir..

Anahtar Kelimeler: ELISA, GPC3, AFP, Hepatosellüler karsinoma, tümör belirteci

SUMMARY

VALUE OF GLYPICAN 3 (GPC3) AS A TUMOR MARKER AND ITS CORRELATION WİTH PROGNOSTIC FACTORS IN PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA AND COMPARISON WITH ALPHA FETOPROTEIN (AFP)

Erdal H., Ankara University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine, Ankara, 2010.

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the third most common and the fourth leading cause of cancer-related death in the world. The most important factors in development of HCC are chronic hepatitis B and C infections and cirrhosis. AFP is commonly used in early diagnosis of HCC and development of more sensitive and specific serum markers may improve the survival of the patients.

The aims of this study were to determine the significance of GPC3 in diagnosis and prognostic follow up of the patients with HCC and compare with AFP.

A total of 128 patients (75 patients with HCC, 55 patients wtih cirrhosis and 28 healty controls) were included in this study. Serum GPC3 levels were measured by using a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Serum AFP levels were measured by chemoluminesance method. GPC3 cut-off value is decided as 3.9 pg/ml. AFP divided into 4 subgroup according to cut-off values with 13 ng/ml, 20 ng/ml,100 ng/ml and 200 ng/ml.

Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive values of GPC3 and AFP_{13} , AFP_{20} , AFP_{100}, AFP_{200} subgroups and also GPC3+$AFP_{13,}$ GPC3+AFP_{20}, GPC3+AFP_{100}, GPC3+AFP_{200} combinations are compared .

GPC3 superiority to AFP was not shown. Although the combination of GPC3 and AFP was superior then AFP alone, statistically significant difference was not found.

GPC3 has also been compared with $AFP_{13,}$ AFP_{20}, AFP_{100}, AFP_{200} in subgroups of patients according to prognostic parameters such as tumor size, tumor

type, Child-Pugh classification, TNM staging, CLIP score, PVT and extrahepatic methastasis. There were no correlation between GPC3 and AFP ($p>0.05$).

We concluded that, GPC3 is not a useful marker in HCC diagnosis and prognostic evaluation. Prospective studies with more patients and longer follow-up may further clarify the diagnostic and prognostic value of GPC3.

Key Words: ELISA, Glypican-3, Alpha-fetoprotein, Hepatocellular carcinoma, tumor marker

KAYNAKLAR

1. Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. Lancet Oncol 2001; 2:534-43.

2. Beasley RP, Lin CC, Hwang LY, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus: A prospective study of 22,707 men in Taiwan. Lancet 1981; 2:1129,

3. Tsukuma H, Hiyama T, Tanaka S, Nakao M, Yabuuchi T, Kitamura T, Nakanishi K, Fujimoto I, Inoue A, Yamazaki H. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. New England Journal of Medicine 1993; 328:1797.

4. Yu MW, Chen CJ. Hepatitis B and C viruses in the development of hepatocellular carcinoma. Critical Reviews in Oncology/Hematology 1994; 17:71.

5. Sherman M, Peltekian KM, Lee C. Screening for hepatocellular carcinoma in chronic carriers of hepatitis B virus: Incidence and prevalence of hepatocellular carcinoma in a North American urban population. Hepatology 1995; 22:432**.**

6. Villeneuve JP, Desrochers M, Infante-Revard CI, Willems B, Raymond G, Bourcier M, Côté J, Richer G . A long-term follow-up study of asymptomatic hepatitis B surface antigen-positive carriers in Montreal. Gastroenterology 1994; 106:1000.

7. Bruix J, Barrera JM, Calvet X, Ercilla G, Costa J, Sanchez-Tapias JM, Ventura M, Vall M, Bruguera M, Bru C. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. Lancet 1989; 2:1004.

8. Colombo M, Kuo G, Choo QL, Donato MF, Del Ninno E, Tommasini MA, Dioguardi N, Houghton M. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. Lancet 1989; 2:1006.

9. Gupta S, Bent S, Kohlwes J. Test Characteristics of alpha-Fetoprotein for Detecting Hepatocellular Carcinoma in Patients with Hepatitis C. A Systematic Review and Critical Analysis. Annals of Internal Medicine 2003; 139:46.

10. Trevisani F, D'Intino PE, Morselli-Labate AM, Mazzella G, Accogli E, Caraceni P, Domenicali M, De Notariis S, Roda E, Bernardi M. Serum alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: influence of HBsAg and anti-HCV status. Journal of Hepatology 2001; 34:570.

11. Jakubovic BD, Jothy S. Glypican-3: From the mutations of Simpson-Golabi-Behmel genetic syndrome to a tumor marker for hepatocellular carcinoma. Experimental and Molecular Pathology 82 (2007) 184-189.

12. Coggin JH. The implications of embriyonic gene expression in neoplsia.CRC Crit.rev.Onco./Hemat. 1992;5: 37-55

13. Matsuura H, Takio K, Titani K, Greene T, Levery SB, Salyan ME, Hakomori S. The oncofetal structure of human fibronectin defined by monoclonal antibody FDC-6. Unique structural requirement for the antigenic specificity provided by a glycosylhexapeptide.The Jornal of Biological Chemistry. 1988;263(7):3314-22.

14. Nakatsura T, Yoshitake Y, Senju S, Monji M, Komori H, Motomura Y, Hosaka S, Beppu T, Ishiko T, Kamohara H, Ashihara H, Katagiri T, Furukawa Y, Fujiyama S, Ogawa M, Nakamura Y, Nishimura Y. Glypican-3, overexpressed specifically in human hepatocellular carcinoma, is a novel tumor marker. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2003 ;306(1):16-25.

15. Capurro M, Wanless IR, Sherman M, Deboer G, Shi W, Miyoshi E, Filmus J.Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma. Gastroenterology. 2003;125(1):89-97

16. Hippo Y, Watanabe K, Watanabe A, Midorikawa Y, Yamamoto S, Ihara S, Tokita S, Iwanari H, Ito Y, Nakano K, Nezu J, Tsunoda H, Yoshino T, Ohizumi I, Tsuchiya M, Ohnishi S, Makuuchi M, Hamakubo T, Kodama T, Aburatani H.Identification of soluble NH2-terminal fragment of glypican-3 as a serological marker for early-stage hepatocellular carcinoma. Cancer Researsch. 2004;64(7):2418-23.

17. Munoz N, Bosch X. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. In: Neoplasms of the Liver, Okuda, K, Ishak, KG (Eds), Springer, Tokyo 1989. p.3.

18. Parkin DM (ed). Cancer Incidence in five continents: IARC scientific publications volume VIII (No. 155), Lyon: IARCPress 2002.

19. Skolnick AA. Armed with epidemiologic research, China launches programs to prevent liver cancer (news). The Journal Of the American Medical Association 1996; 276:1458

20. Okuda K. Epidemiology of primary liver cancer. In: Primary Liver Cancer in Japan, Tobe T (Ed), Springer-Verlag, Tokyo 1992. p.3.

21. Wong R, Corley DA. Racial and ethnic variations in hepatocellular carcinoma incidence within the United States. American Journal of Medicine 2008; 121:525.

22. Liang TJ, Jeffers LJ, Reddy KR, De Medina M, Parker IT, Cheinquer H, Idrovo V, Rabassa A, Schiff ER. Viral pathogenesis of hepatocellular carcinoma in the United States. Hepatology 1993; 18:1326.

23. Yang, HI, Lu, SN, Liaw, YF, You SL, Sun CA, Wang LY, Hsiao CK, Chen PJ, Chen DS, Chen CJ; Taiwan Community-Based Cancer Screening Project Group. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. New England Journal of Medicine 2002; 347:168

24. Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, Huang GT, Iloeje UH; REVEAL-HBV Study Group et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. The Journal Of the American Medical Association 2006; 295:65

25. Chen CJ, Yang HI, Iloeje U. Models to predict hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B infection: The REVEAL HBV study (abstract). Hepatology 2005; 42 Suppl 1:714A

26. Tong MJ, Blatt LM, Kao JH, Cheng JT, Corey WG . Basal core promoter T1762/A1764 and precore A1896 gene mutations in hepatitis B surface antigen-positive hepatocellular carcinoma: a comparison with chronic carriers. Liver International 2007; 27:1356.

27. Liu S, Zhang H, Gu C, Yin J, He Y, Xie J, Cao G. Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. Journal of the National Cancer Institute 2009; 101:1066.

28. Sung JJ, Tsoi KK, Wong VW, Li KC, Chan HL. Meta-analysis: Treatment of hepatitis B infection reduces risk of hepatocellular carcinoma. Alimentary Pharmacology & Therapeutics 2008; 28:1067

29. Maki A, Kono H, Gupta M, Asakawa M, Suzuki T, Matsuda M, Fujii H, Rusyn I. Predictive power of biomarkers of oxidative stress and inflammation in patients with hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. Annals of Surgical Oncology 2007; 14:1182.

30. Bressac, B, Kew, M, Wands, J, Ozturk, M. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. Nature 1991; 350:429.

31. Unsal H, Yakicier C, Marçais C, Kew M, Volkmann M, Zentgraf H, Isselbacher KJ, Ozturk M. Genetic heterogeneity of hepatocellular carcinoma. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1994; 91:822.

32. Ueno Y, Nagata S, Tsutsumi T, Hasegawa A, Watanabe MF, Park HD, Chen GC, Chen G, Yu SZ. Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. Carcinogenesis 1996; 17:1317.

33. Yu MC, Tong MJ, Govindarajan S, Henderson BE. Nonviral risk factors for hepatocellular carcinoma in a low-risk population, the non-Asians of Los Angeles County, California. Journal of the National Cancer Institute 1991; 83:1820.

34. Kuper H, Tzonou A, Kaklamani E, Hsieh CC, Lagiou P, Adami HO, Trichopoulos D, Stuver SO. Tobacco smoking, alcohol consumption and their interaction in the causation of hepatocellular carcinoma. International Jornal of Cancer 2000; 85:498.

35. Donato F, Tagger A, Gelatti U, Parrinello G, Boffetta P, Albertini A, Decarli A, Trevisi P, Ribero ML, Martelli C, Porru S, Nardi G. Alcohol and hepatocellular carcinoma: The effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. American Jornal of Epidemiology 2002; 155:323

36. Brechot C, Nalpas B, Feitelson MA. Interactions between alcohol and hepatitis viruses in the liver. Clinics in Laboratory Medicine 1996; 16:273.

37. El-Serag HB, Tran T, Everhart JE. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 2004; 126:460.

38. Jee SH, Ohrr H, Sull JW, Yun JE, Ji M, Samet JM**.** Fasting serum glucose level and cancer risk in Korean men and women. The Journal Of the American Medical Association 2005; 293:194.

39. Inoue M, Iwasaki M, Otani T, Sasazuki S, Noda M, Tsugane S. Diabetes mellitus and the risk of cancer: results from a large-scale population-based cohort study in Japan. Archives of Internal Medicine 2006; 166:1871

40. Marrero JA, Fontana RJ, Su GL, Conjeevaram HS, Emick DM, Lok AS. NAFLD may be a common underlying liver disease in patients with hepatocellular carcinoma in the United States. Hepatology 2002; 36:1349.

41. Kew MC, Dos Santos HA, Sherlock S. Diagnosis of primary cancer of the liver. British Medical Journal 1971; 4:408.

42. Schwartz JM, Larson AM, Gold PJ. Hepatocellular carcinoma: A one year experience at a tertiary referral center in the United States (abstract). Hepatology 1999; 30:278A.

43. A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 435 patients: the Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) investigators. Hepatology 1998; 28:751.

44. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. Hepatology 2005; 42:1208.

45. Llovet JM, Bustamante J, Castells A, Vilana R, Ayuso Mdel C, Sala M, Brú C, Rodés J, Bruix J. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma. Rationale for the design and evaluation of therapeutic trials. Hepatology 1999; 29:62.

46. Sugano S, Miyoshi K, Suzuki T, Kawafune T, Kubota M. Intrahepatic arteriovenous shunting due to hepatocellular carcinoma and cirrhosis, and its change by transcatheter arterial embolization. The American Jornal of Gastroenterology 1994; 89:184.

47. Eastman RC, Carson RE, Orloff DG, Cochran CS, Perdue JF, Rechler MM, Lanau F, Roberts CT Jr, Shapiro J, Roth J. Glucose utilization in a patient with hepatoma and hypoglycemia. Assessment by positron emission tomography. The Jornal of Clinical Investigation 1992; 89:1958.

48. Tietge UJ, Schöfl C, Ocran KW, Wagner S, Böker KH, Brabant G, Zapf J, Manns MP. Hepatoma with severe non-islet cell tumor hypoglycemia. The American Jornal of Gastroenterology 1998; 93:997.

49. Knill-Jones RP, Buckle RM, Parsons V, Calne RY, Williams R. Hypercalcemia and increased parathyroid-hormone activity in a primary hepatoma. Studies before and after hepatic transplantation. New England Journal of Medicine 1970; 282:704.

50. Yen TC, Hwang SJ, Wang CC, Lee SD, Yeh SH. Hypercalcemia and parathyroid hormone-related protein in hepatocellular carcinoma. Liver 1993; 13:311.

51. Bruix J, Castells A, Calvet X, Feu F, Bru C, Solé M, Bruguera M, Rodés J. Diarrhea as a presenting symptoms of hepatocellular carcinoma. Digestive Disease and Sciences 1990; 35:681.

52. Lau WY, Leung TW, Ho SK, Chan M, Machin D, Lau J, Chan AT, Yeo W, Mok TS, Yu SC, Leung NW, Johnson PJ. Adjuvant intraarterial iodine-131-labeled lipiodol for respectable hepatocellular carcinoma.A prospective randomized trial. Lancet 1999;353:797-801

53. Venook AP. Regional strategies for managing hepatocellular carcinoma. Oncology 2000;14:347-354

54. Cho YK, Chung JW, Kim JK, Ahn YS, Kim MY, Park YO, Kim WT, Byun JH. Comparison of 7 staging systems for patients with hepatocellular carcinoma undergoing transarterial chemoembolization. Cancer 2008; 112:352

55. Farinati F, Rinaldi M, Gianni S, Naccarato R. How should patients with hepatocellular carcinoma be staged? Validation of a new prognostic system. Cancer. 2000 Dec 1;89(11):2266-73.

56. Yoon KT, Kim JK, Kim do Y, Ahn SH, Lee JD, Yun M, Rha SY, Chon CY, Han KH . Role of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in detecting extrahepatic metastasis in pretreatment staging of hepatocellular carcinoma. Oncology 2007; 72 Suppl 1:104.

57. Wudel LJ Jr, Delbeke D, Morris D, Rice M, Washington MK, Shyr Y, Pinson CW, Chapman WC. The role of [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging in the evaluation of hepatocellular carcinoma. The American Surgeon 2003; 69:117.

58. Otegbayo, JA, Atalabi, OM, Yakubu, A. Clinicoradiologic and sonographic patterns of metastasis in hepatocellular carcinoma. Journal of the National Medical Association 2006; 98:1620.

59. Yuki K, Hirohashi S, Sakamoto M, Kanai T, Shimosato Y. Growth and spread of hepatocellular carcinoma. A review of 240 consecutive autopsy cases. Cancer 1990; 66:2174.

60. Yang Y, Nagano H, Ota H, Morimoto O, Nakamura M, Wada H, Noda T, Damdinsuren B, Marubashi S, Miyamoto A, Takeda Y, Dono K, Umeshita K, Nakamori S, Wakasa K, Sakon M, Monden M.. Patterns and clinicopathologic features of extrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection. Surgery 2007; 141:196.

61. Aramaki M, Kawano K, Kai T, Yokoyama H, Morii Y, Sasaki A, Yoshida T, Kitano S . Treatment for extrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma following successful hepatic resection. Hepatogastroenterology 1999; 46:2931.

62. Tonolini M, Solbiati L, Ierace T, Kirn V, Croce F. Extrahepatic recurrence and second malignancies after treatment of hepatocellular carcinoma: spectrum of imaging findings. Radiol Med (Torino) 2002; 103:196.

63. Choi HJ, Cho BC, Sohn JH. Brain metastases from hepatocellular carcinoma: prognostic factors and outcome: Brain metastasis from HCC. J Neuro-oncology 2009; 91:307.

64. Borzio M, Fargion S, Borzio F, Fracanzani AL, Croce AM, Stroffolini T, Oldani S, Cotichini R, Roncalli M. Impact of large regenerative, low grade and high grade dysplastic nodules in hepatocellular carcinoma development. Journal of Hepatology 2003; 39:208.

65. John T, Garden O. Needle track seeding of primary and secondary liver carcinoma after percutaneous liver biopsy. HepatoPancreatoBiliary Surgery 1993; 6:199.

66. Durand F, Regimbeau JM, Belghiti J, Sauvanet A, Vilgrain V, Terris B, Moutardier V, Farges O, Valla D**.** Assessment of the benefits and risks of percutaneous biopsy before surgical resection of hepatocellular carcinoma. Journal of Hepatology 2001; 35:254.

67. Huang GT, Sheu JC, Yang PM, Lee HS, Wang TH, Chen DS**.** Ultrasound-guided cutting biopsy for the diagnosis of hepatocellular carcinoma — a study based on 420 patients. Journal of Hepatology 1996; 25:334.

68. Kim SH, Lim HK, Lee WJ, Cho JM, Jang HJ. Needle-tract implantation in hepatocellular carcinoma: frequency and CT findings after biopsy with a 19.5-gauge automated biopsy gun. Abdominal Imaging 2000; 25:246.

69. Ohlsson B, Nilsson J, Stenram U, Akerman M, Tranberg KG**.** Percutaneous fine-needle aspiration cytology in the diagnosis and management of liver tumours. The British Journal of Surgery 2002; 89:757.

70. Collier J, Sherman M. Screening for hepatocellular carcinoma. Hepatology 1998; 27:273.

71. Di Bisceglie AM, Sterling RK, Chung RT, Everhart JE, Dienstag JL, Bonkovsky HL, Wright EC, Everson GT, Lindsay KL, Lok AS, Lee WM, Morgan TR, Ghany MG, Gretch DR; HALT-C Trial Group. Serum alpha-fetoprotein levels in patients with advanced hepatitis C: results from the HALT-C Trial. Journal of Hepatology 2005; 43:434.

72. Wu JT. Serum alpha-fetoprotein and its lectin reactivity in liver disease: A review. Annals of Clinical and Laboratory Science 1990; 20:98

73. Lok AS, Lai CL. Alpha-fetoprotein monitoring in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection: Role in the early detection of hepatocellular carcinoma. Hepatology 1989; 9:110.

74. Chen DS, Sung JL, Sheu JC, Lai MY, How SW, Hsu HC, Lee CS, Wei TC**.** Serum alpha-fetoprotein in early stages of human hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 1984; 86:1404.

75. Fasani P, Sangiovanni A, De Fazio C, Borzio M, Bruno S, Ronchi G, Del Ninno E, Colombo M. High prevalence of multinodular hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis attributable to multiple risk factors. Hepatology 1999; 29:1704.

76. Hu KQ, Kyulo NL, Lim N, Elhazin B, Hillebrand DJ, Bock T. Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein (AFP) in patients with chronic hepatitis C, but not hepatocellular carcinoma. The American Journal of Gastroenterology 2004; 99:860.

77. Colombo M, de Franchis R, Del Ninno E, Sangiovanni A, De Fazio C, Tommasini M, Donato MF, Piva A, Di Carlo V, Dioguardi N. Hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis. New England Journal of Medicine 1991; 325:675.

78. Sato Y, Nakata K, Kato Y, Shima M, Ishii N, Koji T, Taketa K, Endo Y, Nagataki S**.** Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein. New England Journal of Medicine 1993; 328:1802.

79. Leerapun A, Suravarapu SV, Bida JP, Clark RJ, Sanders EL, Mettler TA, Stadheim LM, Aderca I, Moser CD, Nagorney DM, LaRusso NF, de Groen PC, Menon KV, Lazaridis KN, Gores GJ, Charlton MR, Roberts RO, Therneau TM, Katzmann JA, Roberts LR. The utility of Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: evaluation in a United States referral population. Clinical Gastroenterology and Hepatology 2007; 5:394.

80. Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo KJ, Lee SD, Coleman MS, Furie B . Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. New England Journal of Medicine 1984; 310:1427.

81. Nomura F, Ishijima M, Horikoshi A, Nakai T, Ohnishi K. Determination of serum des-gamma-carboxy prothrombin levels in patients with small-sized hepatocellular carcinoma: Comparison of the conventional enzyme immunoassay and two modified methods. The American Journal of Gastroenterology 1996; 91:1380.

82. Aoyagi Y, Oguro M, Yanagi M, Mita Y, Suda T, Suzuki Y, Hata K, Ichii K, Asakura H. Clinical significance of simultaneous determinations of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin in monitoring recurrence in patients with hepatocellular carcinoma. Cancer 1996; 77:1781.

83. Weitz IC, Liebman HA. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin and hepatocellular carcinoma: A critical review. Hepatology 1993; 18:990.

84. Marrero JA, Su GL, Wei W, Emick D, Conjeevaram HS, Fontana RJ, Lok AS. Des-gamma carboxyprothrombin can differentiate hepatocellular carcinoma from nonmalignant chronic liver disease in american patients. Hepatology 2003; 37:1114.

85. Nakamura S, Nouso K, Sakaguchi K, Ito YM, Ohashi Y, Kobayashi Y, Toshikuni N, Tanaka H, Miyake Y, Matsumoto E, Shiratori Y. Sensitivity and specificity of des-gamma-carboxy prothrombin for diagnosis of patients with hepatocellular carcinomas varies according to tumor size. The American Journal of Gastroenterology 2006; 101:2038.

86. Colli A, Fraquelli M, Casazza G, Massironi S, Colucci A, Conte D, Duca P. Accuracy of ultrasonography, spiral CT, magnetic resonance, and alpha-fetoprotein in diagnosing hepatocellular carcinoma: a systematic review. The American Journal of Gastroenterology 2006; 101:513.

87. Whittingham TA. New and future developments in ultrasonic imaging. British Journal of Radiology 1997; 70 Spec No:S119.

88. Hayakawa S, Goto H, Hirooka Y. A new ultrasound imaging method in the abdominal area: Harmonic imaging without an enhancing agent (abstract). Gastroenterology 1998; 114:1253.

89. Singh P, Erickson RA, Mukhopadhyay P, Gopal S, Kiss A, Khan A, Ulf Westblom T. EUS for detection of the hepatocellular carcinoma: results of a prospective study. Gastrointestinal Endoscopy 2007; 66:265

90. Hollett MD, Jeffrey RB Jr, Nino-Murcia M. Dual-phase helical CT of the liver: Value of arterial phase scans in the detection of small (<1.5 cm) malignant hepatic neoplasms. AJR American Journal of Roentgenology 1995; 164:879.

91. Bolondi L, Gaiani S, Celli N, Golfieri R, Grigioni WF, Leoni S, Venturi AM, Piscaglia F. Characterization of small nodules in cirrhosis by assessment of vascularity: the problem of hypovascular hepatocellular carcinoma. Hepatology 2005; 42:27.

92. Lim JH, Choi D, Kim SH, Lee SJ, Lee WJ, Lim HK, Kim S. Detection of hepatocellular carcinoma: Value of adding delayed phase imaging to dual-phase helical CT. AJR American Journal of Roentgenology 2002; 179:67.

93. Ngan H. Lipiodol computerized tomography: How sensitive and specific is the technique in the diagnosis of hepatocellular carcinoma? British Journal of Radiology 1990; 63:771.

94. Ishiguchi T, Shimamoto K, Fukatsu H, Yamakawa K, Ishigaki T. Radiologic diagnosis of hepatocellular carcinoma. Seminars in Surgical Oncology 1996; 12:164.

95. Libbrecht L, Bielen D, Verslype C, Vanbeckevoort D, Pirenne J, Nevens F, Desmet V, Roskams T. Focal lesions in cirrhotic explant livers: Pathological evaluation and accuracy of pretransplantation imaging examinations. Liver Transplantation 2002; 8:749.

96. Burrel M, Llovet JM, Ayuso C, Iglesias C, Sala M, Miquel R, Caralt T, Ayuso JR, Solé M, Sanchez M, Brú C, Bruix J; Barcelona Clínic Liver Cancer Group. MRI angiography is superior to helical CT for detection of HCC prior to liver transplantation: An explant correlation. Hepatology 2003; 38:1034.

97. Lencioni R, Mascalchi M, Caramella D, Bartolozzi C. Small hepatocellular carcinoma: Differentiation from adenomatous hyperplasia with color Doppler ultrasound and dynamic Gd-DTPA enhanced MR imaging. Abdominal Imaging 1996; 21:41.

98. Heiken JP, Weyman PJ, Lee JK, Balfe DM, Picus D, Brunt EM, Flye MW. Detection of focal hepatic masses: Prospective evaluation with CT, delayed CT, CT during arterial portography and MR imaging. Radiology 1989; 171:47.

99. Yu JS, Kim KW, Lee JT, Yoo HS. MR imaging during arterial portography for assessment of hepatocellular carcinoma: Comparison with CT during arterial portography. AJR American Journal of Roentgenology 1998; 170:1501.

100. Kanematsu M, Hoshi H, Murakami T, Inaba Y, Kim T, Yamada T, Kato M, Yokoyama R, Nakamura H. Detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: MR imaging versus angiographically assisted helical CT. AJR American Journal of Roentgenology 1997; 169:1507.

101. Murakami T, Oi H, Hori M, Kim T, Takahashi S, Tomoda K, Narumi Y, Nakamura H. Helical CT during arterial portography and hepatic arteriography for detecting hypervascular hepatocellular carcinoma. AJR American Journal of Roentgenology 1997; 169:131.

102. Choi D, Kim S, Lim J, Lee W, Jang H, Lee S, Lim H. Preoperative detection of hepatocellular carcinoma: ferumoxides-enhanced mr imaging versus combined helical CT during arterial portography and CT hepatic arteriography. AJR American Journal of Roentgenology 2001; 176:475.

103. Shiomi S, Nishiguchi S, Ishizu H, Iwata Y, Sasaki N, Tamori A, Habu D, Takeda T, Kubo S, Ochi H. Shiomi, S, Nishiguchi, S, Ishizu, H, et al. Usefulness of positron emission tomography with fluorine-18-fluorodeoxyglucose for predicting outcome in patients with hepatocellular carcinoma. The American Journal of Gastroenterology 2001; 96:1877.

104. Iwata Y, Shiomi S, Sasaki N, Jomura H, Nishiguchi S, Seki S, Kawabe J, Ochi H. Clinical usefulness of positron emission tomography with fluorine-18-fluorodeoxyglucose in the diagnosis of liver tumors. Annals of Nuclear Medicine 2000; 14:121.

105. Seo, S, Hatano, E, Higashi, T, et al. Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography predicts tumor differentiation, P-glycoprotein expression, and outcome after resection in hepatocellular carcinoma. Clin Cancer Res 2007; 13:427.

106. Yang SH, Suh KS, Lee HW, Cho EH, Cho JY, Cho YB, Yi NJ, Lee KU. The role of (18)F-FDG-PET imaging for the selection of liver transplantation candidates among hepatocellular carcinoma patients. Liver Transplantation 2006; 12:1655.

107. Delbeke D, Martin WH, Sandler MP, Chapman WC, Wright JK Jr, Pinson CW. Evaluation of benign vs malignant hepatic lesions with positron emission tomography.Archives of Surgery 1998; 133:510.

108. Trojan J, Schroeder O, Raedle J, Baum RP, Herrmann G, Jacobi V, Zeuzem S. Fluorine-18 FDG positron emission tomography for imaging of hepatocellular carcinoma. The American Journal of Gastroenterology 1999; 94:3314.

109. Khan MA, Combs CS, Brunt EM, Lowe VJ, Wolverson MK, Solomon H, Collins BT, Di Bisceglie AM. Positron emission tomography scanning in the evaluation of hepatocellular carcinoma. Journal of Hepatology 2000; 32:792.

110. Jeng LB, Changlai SP, Shen YY, Lin CC, Tsai CH, Kao CH. Limited value of 18F-2-deoxyglucose positron emission tomography to detect hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus carriers. Hepatogastroenterology 2003; 50:2154.

111. Schroder O, Trojan J, Zeuzem S, Baum RP. Limited value of fluorine-18-fluorodeoxyglucose PET for the differential diagnosis of focal liver lesions in patients with chronic hepatitis C virus infection. Nuklearmedizin 1998; 37:279.

112. Filmus J.,Glypicans in growth control and cancer.2001 Mar;11(3):19R-23R.Review

113. Pilia G, Hughes-Benzie RM, MacKenzie A, Baybayan P, Chen EY, Huber R, Neri G, Cao A, Forabosco A, Schlessinger D.Mutations in GPC3, a glypican gene, cause the Simpson-Golabi-Behmel overgrowth syndrome. Nature Genetics. 1996;12(3):241-7.

114. Gonzalez AD, Kaya M, Shi W, Song H, Testa JR, Penn LZ, Filmus J OCI-5/GPC3, a glypican encoded by a gene that is mutated in the Simpson-Golabi-Behmel overgrowth syndrome, induces apoptosis in a cell line-specific manner. The Journal of Cell Biology. 1998 ;141(6):1407-14.

115. Lin H, Huber R, Schlessinger D, Morin PJ. Frequent silencing of the GPC3 gene in ovarian cancer cell lines. Cancer Research. 1999;59(4):807-10

116. Murthy SS, Shen T, De Rienzo A, Lee WC, Ferriola PC, Jhanwar SC, Mossman BT, Filmus J, Testa JR. Expression of GPC3, an X-linked recessive overgrowth gene, is silenced in malignant mesothelioma. Oncogene. 2000;19(3):410-6.

117. Xiang YY, Ladeda V, Filmus J. Glypican-3 expression is silenced in human breast cancer. Oncogene. 2001;20(50):7408-12**.**

118. Kim H, Xu GL, Borczuk AC, Busch S, Filmus J, Capurro M, Brody JS, Lange J, D'Armiento JM, Rothman PB, Powell CA. The heparan sulfate proteoglycan GPC3 is a potential lung tumor suppressor.American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 2003;29(6):694-701.

119. Man XB, Tang L, Zhang BH, Li SJ, Qiu XH, Wu MC, Wang HY. Upregulation of Glypican-3 expression in hepatocellular carcinoma but downregulation in cholangiocarcinoma indicates its differential diagnosis value in primary liver cancers. Liver International. 2005 ;25(5):962-6.

120. Hsu HC, Cheng W, Lai PL. Cloning and expression of a developmentally regulated transcript MXR7 in hepatocellular carcinoma: biological significance and temporospatial distribution.Cancer Research. 1997;57(22):5179-84.

121. Kleeff J, Ishiwata T, Kumbasar A, Friess H, Büchler MW, Lander AD, Korc M. The cell-surface heparan sulfate proteoglycan glypican-1 regulates growth factor action in pancreatic carcinoma cells and is overexpressed in human pancreatic cancer. The Journal of Clinical Investigation. 1998;102(9):1662-73.

122. Filmus J, Church JG, Buick RN. Isolation of a cDNA corresponding to a developmentally regulated transcript in rat intestine. Molecular and Cellular Biology. 1988;8(10):4243-9

123. Bernfield M, Götte M, Park PW, Reizes O, Fitzgerald ML, Lincecum J, Zako M. Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. Annual Review of Biochemistry. 1999;68:729-77.

124. Zhu ZW, Friess H, Wang L, Abou-Shady M, Zimmermann A, Lander AD, Korc M, Kleeff J, Büchler MW. Enhanced glypican-3 expression differentiates the majority of hepatocellular carcinomas from benign hepatic disorders. Gut. 2001;48(4):558-64.

125. Tangkijvanich P, Chanmee T, Komtong S, Mahachai V, Wisedopas N, Pothacharoen P, Kongtawelert P. Diagnostic role of serum glypican-3 in differentiating hepatocellular carcinoma from non-malignant chronic liver disease and other liver cancers. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2009.

126. Komtong S, Mahachai V, Kongtawelert P, Tangkijvanich P. The diagnostic role of serum glypican-3 in hepatolcellular carcinoma. Thailand Journal of Gastroenterology 2007; 8(2):51-56.

EKLER

Ek 1.Etik kurul onayı

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI

Sayı : B.30.2.ANK.0.20.00.00
Konu: 1-17/E.K

11435 15.05.2009

Gastroenteroloji Bilim Dalı
Başkanlığına

Bilim Dalımız öğretim üyesi Prof.Dr.Hasan Özkan'ın sorumluluğunda yürütülecek olan "HCC'de glypican-3 tümör markeri ile tanınan değeri" başlıklı çalışma dosyası, etik kurulumuzun 04 Mayıs 2009 tarihli toplantısında görüşülmüş olup, alınan karar örneği ilişikte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve ilgiliye tebliğini saygı ile rica ederim.

Dekan Adına

Prof.Dr.T.Murat Özsan
Dekan Yardımcısı

Eki: 2 karar örneği

Santral : 0 (312) 310 30 10 Faks : 0 (312) 310 63 70 06100-Sıhhiye / ANKARA
E-mail : dekanlik@medicine.ankara.edu.tr

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ETİK KURULU
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, ANKARA UNIVERSITY
ANKARA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	
	PROTOKOL ADI	HCC'de glypican-3 tümör markeri ile tanınan değeri
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof.Dr.Hasan Özkan
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Ankara Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı
	DESTEKLEYİCİ FİRMA	

	Belge Adı	Değişiklik No. / Tarihi	Dili
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BİLGİLER	PROTOKOL		
	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ		
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLURU		
	OLGU RAPOR FORMU		

ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALARI KLAVUZU

KARAR BİLGİLERİ	Karar No.: 151-4728	Tarih: 04 Mayıs 2009
	Araştırma protokolüne tamamen uyulmak, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Yönergesinde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve Yönergenin 11/h maddesi gereği sorumluluk araştırıcılara ait olmak üzere klinik çalışmasının fakültemizde yürütülmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan öğretim üyelerinin oybirliği ile karar verildi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ

Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof. Dr. İsmail Hakkı Ayhan Başkan	Farmakoloji	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Efser Kerimoğlu Başkan Yardımcısı	Çocuk Psikiyatrisi	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Özden Palaoğlu Sekreter	Farmakoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	

Bünyamin KARATAŞOĞLU
A. Ü. Tıp Fakültesi
Akademik Büro

15 Mayıs 2009

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr.Handan Onur Üye	Tıbbi Onkoloji	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof.Dr. Ajlan Tükün Üye	Tıbbi Genetik	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof.Dr. Esra Erden Üye	Patoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Aydan İkincioğulları Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Ethem Geçim Üye	Genel Cerrahi	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Erdal Onar Üye	Hukuk	Ankara Üniv. Hukuk Fakültesi	E	
Prof. Dr. Yasemin Oğuz Üye	Deontoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	Toplantıda
Prof. Dr. Bülent Gümüşel Üye	Farmakoloji-Eczacı	Hacettepe Üniv. Eczacılık Fakültesi	E	
Doç.Dr.Aslıhan Avcı Üye	Biyokimya	Ankara Tıp Fakültesi	K	Kongrede
Gülsüm Aslan	Sağlık Mesleği Dışı	Emekli	K	

Cüneyamin KARATAŞOĞLU
A.Ü. Tıp Fakültesi
Akademik Büro