

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KRONİK HEPATİT B'YE SEKONDER İLERİ EVRE FİBROZİS VE SİROZ
HASTALARINDA HEPATOSELÜLER KARSİNOMA GELİŞİMİ
RİSKİNİN, GLİPİKAN 3, HEAT SHOCK PROTEİN-70, CD 34 VE
GLUTAMİN SENTETAZ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Yusuf ÖZTÜRK

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2019

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KRONİK HEPATİT B'YE SEKONDER İLERİ EVRE FİBROZİS VE SİROZ
HASTALARINDA HEPATOSELÜLER KARSİNOMA GELİŞİMİ
RİSKİNİN, GLİPİKAN 3, HEAT SHOCK PROTEİN-70, CD 34 VE
GLUTAMİN SENTETAZ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Yusuf ÖZTÜRK

Danışman
Doç. Dr. Tuğrul PÜRNAK

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2019

TEŞEKKÜR

Hayatımın her alanında yardımlarını esirgemeyen anne ve babama;

Akademik yaşamımda rol modelim, bilgi ve tecrübelerini büyük bir özveri ile aktaran, kendisi ile çalıştığım için çok şanslı olduğum tez danışmanım değerli hocam Doç.Dr. Tuğrul Pürnak'a, tezimin hazırlanmasında emeği geçen ve yardımlarını esirgemeyen Patoloji Ana Bilim Dalı değerli öğretim görevlisi Prof.Dr. Cenk Sökmenoğlu ve tüm laboratuvar çalışanlarına;

Tez yazım sürecinde teknik bilgi birikimini benimle paylaşan Dr.Murat Turgutalp ve Dr.Rıza Can Kardeş'a;

İç hastalıkları eğitimi benim için daha güzel hale getiren çalışma arkadaşlarıma ve hocalarıma teşekkür ederim.

ÖZET

ÖZTÜRK Y. Kronik Hepatit B'ye sekonder İleri Evre Fibrozis ve Siroz Hastalarında Hepatoselüler Karsinoma Gelişimi Riskinin, Glipikan 3, Heat Shock Protein-70, CD-34 Ve Glutamin Sentetaz ile Değerlendirilmesi

Hacettepe Üniveristesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2019

Hepatoselüler karsinom (HSK) altıncı en sık kanserdir. Kanser ölümlerinin üçüncü en sık sebebidir (1). HSK hastalarının yarısından fazlasını kronik hepatit B (KHB) hastaları oluşturur. HSK hastalarının ana ölüm nedeni geç tanıdır. Bu nedenle erken tanı ölüm oranı başarılı nakil sonucu gibi klinik sonuçları iyileştirmek için çok önemlidir (133). Bizim çalışmamızda Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesinde takip edilen 2003 Ocak-2013 Aralık tarihleri arasında Ishak skorlama sistemine göre fibrozis skoru 4 ve üzerinde karaciğer patolojisi olan KHB tanısı almış ve HSK gelişmiş hastalar çalışıldı. Çalışmaya bu şartlarda 31 hasta dahil edildi. Ayrıca karaciğer patolojisi olan KHB tanısı almış, fibrozis skoru 3'den küçük, HSK gelişmemiş 10 tane kontrol hasta grubu belirlendi. Hastaların hem HSK'ya hem de KHB'ye ait olan biyopsi materyalleri erken HSK tanısında kullanılan glutamin sentetaz (GS), Heat Shock Protein-70 (HSP-70), CD 34 ve glipikan-3 (GLP-3) doku belirteçleri kullanılarak değerlendirildi. Değerlendirme bu konuda deneyimli tek bir patolog tarafından yapıldı. Bu belirteçlerle boyamadaki amaç, hastalarda HSK gösterilmeden hücresel düzeyde bir bozukluğun olup olmadığının test edilmek istenmesidir. Non-neoplastik dokuda bir boyanma saptanmasının ve bu hastalarda HSK'nın gelişmesinin, tarama algoritmasını kökten değiştirebileceği düşünüldü.

Biyopsiyle gösterilmiş HSK'sı olan hastalarda, GS bütün non-neoplastik dokularda zayıf boyandı. Neoplastik dokuların ise çoğunda (%87,5) GS kuvvetli boyandı. HSP-70 non-neoplastik dokuların yarısında, neoplastik dokuların ise %87,5'unda kuvvetli boyandı. CD34 ise non-neoplastik dokuların çoğunda (%87,5) zayıf, neoplastik dokuların tamamında kuvvetli boyandı. GLP-3 hem non-neoplastik hem de neoplastik dokuların %87,5'unda kuvvetli boyandı. GLP-3 boyanma patterni hem non-neoplastik hem de neoplastik dokularda benzerdi. Sonuç olarak, KHB'ye bağlı sirozu olan hastalarda, karaciğer biyopsisinde güçlü GLP-3 boyanması, ileride bu hastalarda HSK gelişimini tahmin edebilir.

Anahtar Kelimeler: Glipikan-3, Kronik Hepatit B, Hepatoselüler karsinom, İmmünohistokimya

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TTU-2018-15717 proje numarası ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

ÖZTÜRK Y. The evaluation of the risk of Hepatocellular carcinoma development using Glypican-3, Heat Shock Protein -70, CD-34 and Glutamine Synthetase in patients with advanced fibrosis or cirrhosis secondary to Chronic hepatitis B

Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine, Ankara, 2019.

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the sixth most common cancer. It is the third most common cause of cancer death (1). Chronic hepatitis B (CHB) patients constitute more than half of HCC patients. The main cause of death in HCC patients is to diagnose these patients in advanced stage. Therefore early diagnosis is very important to improve clinical outcomes such as mortality rate, successful transplantation outcome. (133). CHB patients followed in Hacettepe University Hospital between January 2003 and December 2013 with advanced fibrosis or cirrhosis (fibrosis according to Ishak scoring ≥ 4) were included in our study. In addition, 10 patients with CHB with fibrosis score < 3 and who did not develop HCC were included as a control group. Both HCC and CHB biopsy materials were re-evaluated by using glutamine synthetase (GS), heat shock protein-70 (HSP-70), CD 34 and glypican-3 (GPC-3), which are tissue markers used in the diagnosis of early HCC. A single, experienced pathologist evaluated all specimens included in the study. The purpose of staining with these markers is to test the presence of a cellular disorder/atypia before the clinical presentation of HCC. It was thought that detection of these markers in non-HCC patients whom eventually developed HCC would change the screening algorithm for HCC in these patients.

In patients who eventually developed biopsy-confirmed HCC, GS was weakly stained in all non-neoplastic specimens. Almost all neoplastic (87.5%) specimens showed strong GS staining. HSP-70 was strongly stained in 50% of non-neoplastic and 87.5% of neoplastic specimens. CD 34 was weakly stained in 87.5% of non-neoplastic specimens. All neoplastic tissues showed strong CD 34 staining. GPC-3 was strongly stained in 87.5% of both non-neoplastic and neoplastic specimens. GPC-3 staining pattern was similar in both non-neoplastic and neoplastic tissues. Therefore, strong GPC-3 staining of liver biopsy of CHB patients with cirrhosis may predict eventual development of HCC.

Keywords: Glypican-3, Chronic Hepatitis B, Hepatocellular Carcinoma, Immunohistochemistry

This thesis was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Unit with project number TTU-2018-15717.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
1 GİRİŞ	1
2 GENEL BİLGİLER	3
2.1 Hepatoselüler karsinom	3
2.1.1 Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri.....	3
2.1.2 Tanı ve Tarama	4
2.1.3 Evreleme.....	7
2.1.4 Tedavi	7
2.2 Hepatit B	11
2.2.1 Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri.....	11
2.2.2 Akut Hepatit B ve Kronik Hepatit B	11
2.2.3 KHB Tanısı Alan Hastaların Başlangıç Değerlendirmesi	12
2.2.4 Tedavi	13
2.2.5 KHB'den Siroz ve HSK'ya İlerleme İlgili Faktörler.....	15
2.2.6 Evreleme ve Skoring	16
2.2.7 KHB'den HSK Gelişim Mekanizması.....	18
2.2.8 İmmünohistokimyasal Belirteçler	19
3 MATERYAL VE METOD	22
3.1 Hasta Seçimi ve Hasta Grupları	22
3.2 Bakılan Parametreler	23
3.3 İmmünohistokimyasal Yöntem	23
3.4 İmmünohistokimyasal Değerlendirme	24
3.5 İstatistiksel Analiz	24
3.6 Araştırmanın Etik Yönü	25
4 BULGULAR	26
4.1 Grupların demografik ve laboratuvar parametrelerinin verileri	26
4.1.1 Belirli bir takip süresi sonrası HSK tanısı alan hastalar ile HSK tanısı almayan hastaların demografik ve laboratuvar parametrelerinin analizi.....	27
4.2 Grupların Karaciğer Patoloji Verileri	30

4.2.1	Doku belirteçlerinin neoplastik ve sirotik olmayan non-neoplastik karaciğer dokusundaki boyanma paterni analizi	31
4.2.2	Doku belirteçlerinin neoplastik ve sirotik non-neoplastik karaciğer dokusundaki boyanma paterni	32
4.2.3	Doku belirteçlerinin sirotik ve sirotik olmayan non-neoplastik karaciğer dokusundaki boyanma paterninin analizi	34
5	TARTIŞMA.....	38
6	KAYNAKLAR	44

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AASLD	: Amerikan Karaciğer Hastalıkları Çalışma Birliği
ADV	: Adefovir Dipivoxil
AHB	: Akut Hepatit B
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
APASL	: Asya-Pasifik Karaciğer Hastalıkları Çalışma Birliği
BCLC	: Barcelona Klinik Karaciğer Kanseri
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
DCP	: Des-Gamma-Karboksi Protrombin
EASLD	: Avrupa Karaciğer Hastalıkları Çalışma Birliği
ETV	: Entecavir
GGT	: Gama-Glutamil Transpeptidaz
GLP-3	: Glipikan-3
GS	: Glutamin Sentetaz
HAİ	: Histolojik Aktivite İndeksi
HAV	: Hepatit A virüsü
HBV	: Hepatit B Virüsü
HCV	: Hepatit C Virüsü
HIV	: İnsan İmmün Yetmezliği Virüsü
HSK	: Hepatoselüler Karsinom
HSP-70	: Heat Shock Protein-70
IFN	: İnterferon
KHB	: Kronik Hepatit B
KHC	: Kronik Hepatit C
LAM	: Lamivudin

MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NA	: Nükleozid/Nükleotid Analogları
NCCN	: Ulusal Kapsamlı Kanser Merkezi
OLT	: Ortotopik Karaciğer Nakli
PEI	: Perkütan Etanol Enjeksiyonu
REACH-B	: Risk estimation for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B
RFA	: Radyofrekans Ablasyonu
ROS	: Reaktif Oksijen Türlerini
TACE	: Transarterial Kemoembolizasyon
TAF	: Tenofovir Alafenamid
TBV	: Telbivudine
TDF	: Tenofovir Disoproxil Fumarat
TKİ	: Tirozin Kinaz İnhibitörü
TNM	: Tümör Özellikleri, Lenf Nodu, Metastaz
Y90	: Yttrium-90

ŞEKİLLER

Şekil 1. REACH-B skorlaması.....	16
Şekil 2. HBV patogenezi (Xu et al. 2017'den uyarlanmıştır.) (131)	19
Şekil 3. Hasta seçimi.....	22
Şekil 4. Doku belirteçlerinin boyanma paternleri	25

TABLOLAR

Tablo 1 Yüksek riskli hasta grubunda HSK tarama önerileri	6
Tablo 2 İshak skorlama sistemine göre HAİ derecelendirmesi (104).....	17
Tablo 3 İshak skorlama sistemine göre fibrozisin evrelendirmesi (104).....	17
Tablo 4 Grupların belirlenmesi ve özellikleri	23
Tablo 5 İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan antikorlar, dilüsyonları, markası ve klonu	24
Tablo 6 Grupların demografik ve laboratuvar parametrelerinin verileri	26
Tablo 7 Grup 1 ve kontrol grubundaki hastaların demografik ve laboratuvar parametrelerinin analizi.....	28
Tablo 8 Grup 1-3 ve kontrol grubundaki hastaların KHB tanısı aldığı dönemdeki demografik ve biyokimyasal parametrelerinin analizi	29
Tablo 9 Gruplardaki hastaların karaciğer patoloji verileri.....	31
Tablo 10 Grup 1 ve 2'e ait neoplastik karaciğer dokusuyla kontrol grubuna ait sirotik olmayan non-neoplastik karaciğer dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterninin analizi	32
Tablo 11 Grup 1' deki hastaların neoplastik dokusuyla sirotik non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterninin analizi	33
Tablo 12 Aynı karaciğer patolojisinin neoplastik ve çevresindeki sirotik non-neoplastik dokunun doku belirteçleri ile boyanma paterninin analizi	34
Tablo 13 Grup 1 ve kontrol grubundaki hastaların KHB tanısı aldığı karaciğer patolojisinin non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterni ve patoloji verilerinin analizi	35
Tablo 14 Grup 1-3 ve kontrol grubundaki hastaların KHB tanısı aldığı karaciğer patolojisinin non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterni ve patoloji verilerinin analizi	36
Tablo 15 Grup 1-2-3 ve kontrol grubundaki hastaların KHB tanısı aldığı karaciğer patolojisinin non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterninin analizi...	37

1 GİRİŞ

Hepatoselüler karsinom (HSK) altıncı en sık kanser, kanser ölümlerinin üçüncü en sık sebebi olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur (1). HSK için en önemli risk faktörü sirozdur. Ülkemizde sirozun en sık nedenleri viral hepatitler (Hepatit B, Hepatit C) ve alkoldür. Bunların dışında HSK riskini arttıran diğer faktörler; erkek cinsiyet, aflatoksin maruziyeti, nonalkolik karaciğer yağlanması, diyabetes mellitus, sigara kullanımı, hemokromatozis, alfa-1-antitripsin eksikliğidir (2). Tüm dünyada birincil risk faktörü kronik hepatit B (KHB)'ye bağlı siroz iken, kronik hepatit C (KHC)'ye bağlı siroz 2. sırada yer almaktadır. Uzak doğuda daha çok KHB, sirozun ve dolayısıyla HSK'nın sık sebebi iken, batı dünyasında KHC ve alkole bağlı siroz daha önemli bir yer tutmaktadır (3). Ülkemizde yapılan çalışmalar KHB'nin en önemli risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur (4,5).

HSK'yı erken evrede yakalamak, diğer kanser türlerinde olduğu gibi tedavi yaklaşımını ve hastaların prognozunu oldukça değiştirmektedir. Bu sebeple, kılavuzlarla iyi belirlenmiş bir süreyans yaklaşımı hemen tüm dünyada rutin olarak kabul görmektedir. Ülkemizde de siroz hastaları 6 aylık ultrasonografi (USG) ve alfa-fetoprotein (AFP) düzeyleri ölçülerek HSK erken düzeyde yakalanmaya çalışılmaktadır. Tespit edilen nodüller daha sonra dinamik görüntüleme (dinamik bilgisayarlı tomografi (BT) veya kontrastlı manyetik rezonans görüntüleme (MRG)) ile tipik arteriyel belirginleşme venöz veya geç boşalma paterni gösterilerek biyopsi gereksinimi olmadan tanılabilmektedir. HSK taraması sirotik hastalarda rutin olarak uygulanırken, siroz olmadan da aşağıdaki şartları taşıyan ve siroz olmayan hastalarda da önerilmektedir. Bu şartlar KHB hastaları için ailede HSK öyküsü olmak, aktif KHB olmak ve yaşanılan yerde HSK insidansı riski yüksek olmaktır (6). Ülkemizin düşük ve yüksek HSK sıklığı olan ülkeler arasında orta bir konumda olduğu düşünülmektedir.

Erken HSK tanım olarak 2 cm altındaki ve küratif evredeki HSK için kullanılan bir tanımdır ve tüm tarama stratejilerinde HSK bu aşamada yakalanmaya çalışılmaktadır. HSK diğer gastrointestinal kanserlerden farklı olarak tipik bir adenoma-karsi-

noma sekansında olduğu gibi belirli bir tumorigenesis paterni göstermez. HSK'ya kadar olan tumör gelişim basamakları net olarak tanımlanmış değildir. Klinik olarak displastik nodül sebebiyle takip edilen bir hastada tamamen nodülsüz ancak sirotik bir karaciğer bölgesinde HSK gelişebilir. Yüksek dereceli displastik nodül ve erken HSK ayırımında son yıllarda kılavuzlara da girmiş olan glipikan-3 (GLP-3), glutamin sentetaz (GS), Heat Shock Protein-70 (HSP-70) ve CD 34 gibi doku belirteçlerinin tanısal amaçlı kullanımı önerilmektedir. İleri evre HSK'da bu belirteçler diffüz olarak boyanırken, erken HSK'da fokal bir tutulum olmaktadır (6–8).

Bizim çalışmamızın amacı sirotik veya ileri evre fibrozisi (Ishak'a göre 4 ve üzeri) olan KHB hastalarında HSK gelişimi riskinin erken düzeyde yakalanmasının mümkün olup olmadığının test edilmesidir.

Bizim çalışmamıza 10 yıl (2003 Ocak -2013 Aralık) içerisinde Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji kliniğinde KHB tanısı olan sonrasında HSK tanısı alan hastalar dahil edildi. Hastaların hem HSK patolojileri hem de sirotik ve ileri evre fibrozisi (ISHAK fibrozis skoru 4 ve üzeri) olan biyopsi materyalleri erken HSK tanısında kullanılan GS, HSP-70, CD 34 ve GLP-3 doku belirteçleri kullanılarak değerlendirildi.

Bu belirteçlerle boyamadaki amaç, hastalarda HSK gelişmeden hücresel düzeyde bir bozukluğun olup olmadığının test edilmek istenmesidir. Eğer daha klinik olarak bir bulgu olmadan bu aşamada bir boyanma saptanması ve bu hastalarda izlemde HSK'nın gelişmesinin gösterilmesi tarama algoritmasını kökten değiştirebilir.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Hepatoselüler karsinom

2.1.1 Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Hepatoselüler karsinom(HSK) en sık görülen primer karaciğer malignitesidir ve altıncı en sık kanserdir. Dünyada kanserden üçüncü, Amerika’da dokuzuncu ölüm nedenidir. Genel olarak karaciğer kanseri 2,4:1 oranıyla erkeklerde kadınlardan daha yaygındır (9). 50-60 yaşları arasında daha sık görülmektedir (8).Türkiye’de HSK insidansı 2009 yılındaki verilere göre erkeklerde 2,1/100.000, kadınlarda 1,2/100.000 olarak saptanmıştır (10). HSK insidansı coğrafi farklılıklar göstermekle birlikte 3-90/100.000 civarındadır. Afrika’nın sahra altı bölgesi, Çin Cumhuriyeti, Hon Kong ve Tayvan yüksek insidansa sahip bölgelerdir (15/100.000’in üstünde). HSK hastalarının %40’ından fazlası Çin’de bulunmaktadır. Doğu ve Güney Avrupa’daki bazı ülkeler, Tayland, Endonezya, Jamaika, Yeni Zelanda orta insidansa sahip bölgelerdir(3-15/100.000’in altında). Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa’nın çoğu ve Orta Doğu düşük insidansa sahip bölgelerdir (3/100.000’in altında) (1). Türkiye bu veriler ışığında düşük insidansa sahip bölgeler arasında yer almaktadır.

HSK için en önemli risk faktörü sirozdur. Tüm dünyada birincil risk faktörü KHB’ye bağlı siroz iken, KHC’ye bağlı siroz ikinci sırada yer almaktadır. Uzak doğuda daha çok KHB, sirozun ve dolayısıyla HSK’nın sık sebebi iken, batı dünyasında KHC ve alkole bağlı siroz daha önemli bir yer tutmaktadır (11). Bunların dışında HSK riskini arttıran diğer faktörler; erkek cinsiyet, aflatoksin maruziyeti, nonalkolik karaciğer yağlanması, diyabetes mellitus, sigara kullanımı, hemokromatozis, alfa-1-antitripsin eksikliğidir (10). HSK’yi önlemek için hepatit B virüsü (HBV) ve hepatit C virüsü (HCV) ile enfeksiyonu önlemeye odaklanmalı, tedavi için aday olan viral hepatitli hastaları tedavi etmeye, çevresel toksinlerden kaçınmaya, ağır alkol kullanımının durmasını teşvik etmeye ve hemokromatozisi olan hastalarda aşırı demirden uzaklaşmaya odaklanılmalıdır. HSK'nın gelişimi ile ilgili çeşitli önemli risk faktörleri vardır. HSK'lı kişilerde siroz prevalansı dünya çapında otopsi serilerinde yaklaşık % 80'dir (12). HBV ve HCV ile ilişkili sirozlu hastalarda HSK riski artmıştır. HBV enfeksiyonu siroz olmadan HSK gelişimine neden olabilir. Prospektif kontrollü bir çalışmada, HBV taşıyıcılarında yıllık

HSK insidansı % 0,5' tir (13). Bilinen sirozlu hastalarda HSK insidansı yılda % 2,5, yüksek HBV prevalansı olan bölgelerde 5 yıllık kümülatif HSK riski %15, batıda %10' dur (14). Ülkemizde sirozun en sık nedenleri viral hepatitler (HBV, HCV) ve alkoldür. Ülkemizde yapılan çalışmalar KHB'nin en önemli risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur. Ülkemizde gerçekleştirilen HSK'lı hastalarda yapılan çalışmalarda HBV sıklığı %44,4-65,7 ve HCV sıklığı ise %21,3- 28,6 arasında bildirilmiştir (8,15).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de son yıllarda, HSK insidansı iki katına çıkmış ve HSK mortalite oranları artmıştır. HSK için tahmini 5 yıllık sağkalım oranı % 12'nin altındadır ve ABD'de daha hızlı artış gösteren ölüm nedenlerinden biri olmuştur (15,16). Bazı çalışmalar kronik HBV ve HCV enfeksiyonlarına yönelik tedavinin HSK riski üzerindeki etkisini değerlendirmiştir; bir çalışma, antiviral tedavinin 5 yıllık kümülatif HSK insidansını, HCV enfeksiyonu olanlarda % 7,8 oranında ve HBV enfeksiyonu olanlarda % 7,1 oranında azalttığını bildirmiştir (17). Hastaların genellikle kronik karaciğer hastalığının semptomları dışında hiçbir semptomu yoktur. Daha önce kompanse sirozu olup dekompanse olan hastalarda HSK şüphesi daha da artmıştır. Çünkü bu genellikle tümörün hepatik veya portal vene ya da arteriovenöz şant içine yayılması ile ilişkilidir (18). Ekstrahepatik yayılım, tanı anında vakaların % 15'inde görülür. Sırasıyla en sık yayılan bölgeler akciğer, karın içi lenf bezleri, kemik ve adrenal bezdir.

2.1.2 Tanı ve Tarama

HSK taraması yapılan yüksek riskli hastalar, tarama yapılmayanlara göre daha erken bir aşamada tanı aldığı için hastaların takibi önemlidir. Erken tanı alan hastalar daha fazla tedavi seçeneğine ve daha iyi prognoza sahiptir. Randomize kontrollü bir çalışma, iki yılda bir yapılan taramanın HSK mortalitesini % 37 oranında azalttığını gösterdi (19).

2010'da Amerikan Karaciğer Hastalıkları Çalışma Birliği (AASLD) kılavuzu, aşağıda belirtilen yüksek riskli hasta gruplarının gözetimini önermektedir. HBV taşıyıcısı olan 40 yaşından büyük Asyalı erkekler, 50 yaşından büyük Asyalı kadınlar, Afrikalılar, Afrikalı Amerikalılar ve ailesinde HSK öyküsü olan (gözetim <40 yaşından başlamalı)

ve tüm sirozlu hastalar gözetim altında tutulmalıdır. AASLD, virüsü temizlenmiş olsa da HBV enfeksiyonu için tedavi alan hastalara da takip önermektedir. Karaciğer hastalığı aynı zamanda insan immün yetmezliği virüsü (HIV) ve HBV veya HCV ile koinfekte olan hastalarda daha hızlı ilerler (20,21). Koinfekte hastaların HSK taraması için programlara girme kriterleri, monoinfekte olan hastalarla aynıdır.

HSK taraması için mevcut yöntemler, hem serolojik belirteçleri hem de radyografik testleri içerir. HSK tanısı için en yaygın kullanılan görüntüleme testleri USG, çok fazlı BT ve MRG bulunmaktadır. BT ve MRG incelemede HSK'ya özel erken arteriyel fazda kanlanma ve geç venöz fazda ise '*washout*' görülür. Bu tipik vasküler patern ile sirotik hastada kolaylıkla tanı konabilir. 2010 AASLD taramanın 6 aylık aralıklarla USG ile yapılmasını önermektedir (8,22). Bununla birlikte USG'nin yetersiz olduğu ortotopik karaciğer nakli (OLT) bekleme listesinde olan hastalar için BT veya MR tercih edilebilir (23). Retrospektif çalışmalarda özellikle küçük lezyonlar için USG'ye kıyasla BT ve MRG'nin daha sensitif olduğu gösterilmiş (24) (USG, BT ve MRG'nin genel duyarlılıkları sırasıyla % 46, % 65 ve % 72'idi.).

Her ne kadar serum AFP HSK'lı hastalarda sıklıkla artsa da, bir çalışmada duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla % 41 ile % 65 ve % 80 ile % 94 olarak bulundu (25). Genellikle yüksek riskli hastalarda serum seviyenin 500 µ/L'den büyük olması HSK için tanısız olduğu kabul edilir (26). Ancak, negatif değerler HSK'yı dışlamaz. AFP ayrıca kanser yokluğunda kronik karaciğer hastalığı olan hastalarda (özellikle inflamasyonlu), hamilelikte, gonadal kökenli tümörler ve çeşitli başka malignitelerde yükselebilir. Serum AFP ölçümlerinin kısıtlılığı nedeniyle, tek başına veya AFP ile kombinasyon halinde kullanılan bazı HSK serum belirteçleri değerlendirilmiştir.

Bazı dernek veya kurumların HSK taraması için kılavuz önerileri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1 Yüksek riskli hasta grubunda HSK tarama önerileri

Dernek/ Kurum	Kılavuz Öneri
Amerikan karaciğer hastalıkları çalışma birliği (AASLD) (8,19)	6 ayda bir USG
Avrupa karaciğer hastalıkları çalışma birliği (EASLD) (27)	6 ayda bir USG
Asya-pasifik karaciğer hastalıkları çalışma birliği (APASL) (28)	AFP+6 ayda bir USG
Ulusal kapsamlı kanser merkezi (NCCN) (29)	AFP+6-12 ayda bir USG

AFP-L3'ün toplam AFP'ye oranı olan AFP-L3 %, düşük serum AFP seviyelerinde ve HSK'nın erken teşhisinde faydalı olabileceği söylenmiştir (30,31). Anormal bir protrombin formu olan des-gamma-karboksi protrombin (DCP)'de HSK'nın teşhisinde ümit vermiştir, ancak warfarin malignite yokluğunda bu testin yükselmesine neden olduğu için warfarin kullanan hastalarda kullanılamayacağı belirtilmiştir. Bazı çalışmalar, HSK'nın sirozdan ayrılmasında DCP'nin toplam AFP veya AFP-L3'ten önemli ölçüde daha iyi olduğunu göstermiştir (32), ancak diğer çalışmalar, DCP'nin AFP ile kombinasyonunun tek başına olandan daha yüksek hassasiyet ve özgüllüğe sahip olduğunu göstermiştir (33).

Bilinen HBV ilişkili siroz veya başka bir etiyolojinin sirozu olan bir hastanın tarama sırasında tesadüfen bulunan bir kitlenin HSK olması muhtemeldir. 1 cm'den küçük olan nodüller genellikle HSK değildir; stabil olduğu kanıtlanana veya kitle gerile-yene kadar 3-6 aylık aralıklarla USG ile takip edilmelidir ve 2 yıla kadar bir süre boyunca büyüme olmaması durumunda, rutin sürveyansa geri dönülmesi gerekir (34).

Çapı 1 cm'den büyük lezyonlar BT veya MRG ile değerlendirilmelidir. Görünüş HSK için tipikse, başka bir araştırma gerekmez, ancak özellikler HSK için tipik değilse, bir biyopsi yapılabilir. Biyopside HSK net olarak ayırt edilemezse tümör belirteçleri olarak CD 34, CK 7, GLP-3 ve HSP-70 kullanılabilir (35). Bununla birlikte, HSK tanısı vakaların % 90'ından fazlasında biyopsi olmadan konulur. Biyopsi sonucu HSK için negatifse, hastalar nodül kaybolana, büyüyene veya HSK'nın teşhis özelliklerini gösterene kadar 3-6 aylık aralıklarla görüntülemeyle takip edilmelidir. Lezyon büyür ancak

HSK açısından atipik kalırsa, tekrarlanan bir biyopsi önerilir. Biyopsilerin tamamen zararsız olmadığını bilmek önemlidir. Bir çalışmada % 0,4 kanama oranı (11 hastanın 5'i kan kaybından ölmüş) ve % 0,2 implantasyon metastazı oranı bildirildi (34).

2.1.3 Evreleme

Altta yatan karaciğer hastalığının ciddiyeti, tümörün boyutu, tümörün komşu yapılara yayılması ve metastaz varlığı sağkalımın önemli belirleyicileridir. HSK'nın evrelemesi ve prognozu için en yaygın kullanılan 4 sistem; tümör özellikleri, lenf nodu, metastaz (TNM) sistemi, Okuda sistemi, Barcelona Klinik Karaciğer Kanseri (BCLC) sistemi ve HSK için prognostik evreleme sistemi (CLIP puanı) şeklindedir. HSK'lı hastaların sağkalımını tahmin etmede hangi evreleme sisteminin en iyi olduğu konusunda fikir birliği yoktur (36). 2010'da güncellenen Amerikan *Hepato-Pancreato-Biliary* Derneği'nin bildirisinde, TNM sisteminin rezeksiyon veya karaciğer transplantasyonunun sonuçlarını öngörmede kullanılması, BCLC sisteminin cerrahi için aday olmayan ileri HSK'lı hastalar için kullanılması önerilmektedir (37). BCLC evreleme sınıflandırması, primer lezyonun boyutu, performans durumu, kitleye özel semptomların varlığı, vasküler invazyon, ekstrahepatik yayılma ve Okuda evresine dayanan 4 aşamadan oluşmaktadır (38). Erken evre (A) hastalar asemptomatiktir ve radikal tedaviler için uygun tümörlere sahiptir; orta evre (B) hastalar asemptomatiktir ve multinodüler HSK vardır; ileri evre (C) hastalarda semptomatik tümörler, vasküler invazyon ve / veya ekstrahepatik yayılma; evre D hastalığı olan hastalarda Okuda evre III tümörleri veya Doğu Kooperatif Onkoloji Grubu performans durumu 3 veya 4'tür. Okuda evrelemesi, sirozun ciddiyetinin ölçümü olarak kullanılan tümör boyutunu, asiti, serum albümini ve sarılığı içerir (39).

2.1.4 Tedavi

HSK erken bir aşamada teşhis edilirse cerrahi olarak rezeksiyon veya karaciğer transplantasyonu ile tedavi edilebilir; bununla birlikte, HSK'lı hastaların çoğunda ileri hastalık ve altta yatan karaciğer fonksiyon bozukluğu mevcut olduğundan, sadece % 15'i küratif tedavilere uygundur (40). Genellikle ortanca sağkalım süreleri 1 yıldan az kötü prognozlu hastalardır (41). Radyofrekans ablasyonu (RFA), mikrodalga ablasyonu, perkütan etanol enjeksiyonu (PEI), transarterial kemoembolizasyon (TACE),

radioembolizasyon, kriyoablasyon, radyasyon terapisi, stereotaktik radyoterapi, sistemik kemoterapi ve moleküler hedefli terapiler (sorafenib gibi) dahil olmak üzere başka çeşitli tedavi yöntemleri mevcuttur.

BCLC evreleme sınıflandırması, hastaların prognozlarını ve tedavi stratejilerini iyi bir şekilde belirlemek için kullanılır (38).

Tümör rezeksiyonu: HSK'nın potansiyel rezekte edilebilirliği, tümörün karaciğerle sınırlı olup olmadığına, büyüklüğüne ve konumuna ve altta yatan karaciğer fonksiyonunun morbidite ve mortaliteyi arttırmadan rezeksiyona izin verip vermeyeceğine bağlıdır. Rezeksiyon, vasküler yapının invazyonunun radyografik kanıtı dışında karaciğer ile sınırlı soliter tümörü olan ve karaciğer fonksiyonunun korunduğu (normal bilirubin ve hepatik venöz basınç gradyanı ≤ 10 mmHg, trombosit sayısı > 100.000 , endoskopide varisleri olmayan) hasta grubunda birinci basamak tedavi olarak kabul edilir (42,43). Rezeksiyon sonrası bu popülasyonda 5 yıllık sağkalım oranları % 41 ile % 74 kadardır (44). Rezeksiyon aynı zamanda Milan kriterlerini içeren multifokal HSK veya OLT için uygun olmayan hafif portal hipertansiyonlu hastalar içinde yapılabilir (45). Ama bu tip hastaların lokal tedaviden fayda görüp görmeyeceği belli değildir ve cerrahi sonrası karaciğer dekompanseasyonu gelişip gelişmeyeceği de tartışmalıdır. Aslında, HSK rezeksiyonu sonrası sirozlarda perioperatif mortalite yaklaşık % 2 ile % 3'tür. Beklendiği gibi sirozu olmayanlara göre daha yüksektir (42). Genel bir kural olarak, siroz komplikasyonları (kanama, asit veya belirgin portal hipertansiyon gibi) olan hastalar, kısmi bir hepatektomiye dayanacak kadar yeterli karaciğer rezervine sahip değildir. Birçok cerrah, çapı 5 cm veya daha küçük tümörleri olan hastalara rezeksiyon için uygunluğu sınırlandırma getirirse de, vasküler invazyon ve yayılma riski, tümör boyutuyla birlikte artmasına rağmen, rezeksiyon için hasta seçiminde tümörün boyutu ile ilgili genel bir kural yoktur (46,47). Lokal rezeksiyon yapma kararını etkileyen bir diğer faktör, postrezeksiyon sonrası tümör nüksü riskidir. Nüks oranları 5 yıl sonra % 70'e kadar yüksek olabilir (23,42). Rezeksiyon sonrası de novo tümör gelişimi görülebilir, ancak 1 ile 2 yıl içerisinde HSK nükslerinin çoğu primer tümörden yayılmaya ikincildir. Postrezeksiyon sonrası tümör nüksünde tekrar rezeksiyon uygulamak, yeterli çalışma olmamasına rağmen nadiren ideal bir yöntemdir. Bunun yerine, karaciğer

transplantasyonu veya oral multi-kinaz inhibitörleri ile birlikte veya yalnız diğer lokal tedaviler daha uygun olabilir (44).

Karaciğer transplantasyonu: Tümör rezeksiyonu yapılamayan hastalar arasında, en uygun cerrahi seçenek, sıklıkla TACE veya perkütan ablasyon gibi adjuvan tedaviyle birlikte, karaciğer naklidir (48,49). Karaciğer transplantasyonu tüm hastalar için uygun değildir, sınırlı imkanlar olduğu için kapsamlı bir değerlendirme yapılmalıdır (42). 1996 yılında Mazzaferro ve arkadaşları (50), Milan kriterleri olarak bilinen, önceden tanımlanmış kriterler altında (≤ 5 cm olan tek HSK veya herbiri ≤ 3 cm üç HSK) transplante edilen 50'den az HSK'lı hastayı kapsayan önemli bir çalışma yayınladı ve yıllık sağkalım %75 olarak gösterildi. Bu ölmüş donörlerden karaciğer nakli HSK tedavisi için uygun bir seçenek olarak görülmüştür. Milan kriterleri doğrultusunda HSK için karaciğer transplantasyonunun daha sonraki sonuçları 5 yılda %70 hayatta kalma şeklindeydi ve tekrarlayanlarda bu oran %15'in altındaydı (8,22,27,51). Bu sonuçlar HSK tanısı olmayan karaciğer transplantasyonu yapılan sirozlu hastalarla benzerdir (52).

Perkütan Lokal Ablasyon: Radyofrekans Ablasyonu ve Perkütan Etanol Enjeksiyonu: RFA ve PEI içeren perkütan lokal ablasyon, cerrahi için uygun olmayan BCLC evre 0-A için standart tedavidir. RFA, dokunun nekrozu ile sonlanan yüksek frekanslı bir akım sağlar (53). %95 etanolün bir iğneyle doğrudan bir tümör içine enjekte edilmesi, lokal pıhtılaşma nekrozunu ve fibröz bir reaksiyonun yanı sıra, tümör mikrovasküler sisteminin trombozuna ve doku iskemisine neden olabilir. 3 cm veya daha büyük tümörlerde, hem RFA hem de PEI ile yapılan perkütan lokal ablasyon, % 80'den % 90'a kadar rezeksiyon ile yarışacak şekilde tam nekroz elde eder (54,55).

Transarteriyel kemoembolizasyon: TACE, büyük multifokal HSK'lı hastalar veya tümör özellikleri cerrahi veya ablatif tedavi için uygun olmayan, vasküler invazyon veya ekstra hepatik yayılma olmadan, BCLC evre B multinodüler asemptomatik tümöre sahip hastalar için birinci basamak, küratif olmayan bir tedavi olarak önerilmektedir (23,56). HSK'ya giden kan akımının önemli bir kısmının, portal venden ziyade hepatik arterden gelmesi, tümörün kan akımını engellemek veya sitotoksik kemote-

rapiyi doğrudan tümöre uygulamak için tasarlanmış tekniklerin geliştirilmesine yol açmıştır. Sistematik bir derlemede, TACE'nin hastaların % 50'sinden fazlasında yaygın tümör nekrozu oluşturduğu ve Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre, tedaviye cevabın % 16 ile % 60 arasında olduğu raporlandı (57). TACE, embolik malzeme ile karıştırılmış, tümörün beslenme arterlerine verilen ve kan damarlarını tıkayarak nekroza yol açan yüksek intratümöral ilaç konsantrasyonu elde etmek için kullanılan kemoterapötik ajan enjeksiyonunu içerir. Kemoterapötik ajan seçimi standartlaştırılmamıştır, ancak doksorubisin, sisplatin, mitomisin ve epirubisin dahil olmak üzere çeşitli ajanlar kullanılmıştır. TACE konusunda birçok araştırma yapılmıştır ve çalışma tasarımlarının çeşitliliği, hasta özellikleri ve kullanılan spesifik TACE yöntemleri dikkate alındığında, sağkalım ve nüks oranlarını tahmin etmek zordur. Tedavi edilen hastalarda sağkalımda iyileşme, 2 yılda % 20 ile % 60 arasında değişebilir (58).

Yttrium-90 (Y90) - İşaretli Mikroküreler Radyoembolizasyonu: Fokal radyoterapiyi sağlamanın alternatif bir yolu radyoaktif izotop Y90 etiketli mikroküreleri kullanmaktır ve bunlar seçici olarak hepatik arter yoluyla tümöre iletilir (59). Bu teknik, TACE'nin en önemli kontraendikasyonlarından biri olan portal ven neoplastik trombozunda kullanılma avantajına sahiptir (60,61). Bununla birlikte, Y90 belirgin hepatopulmoner şanti olan hastalarda kontrendikedir. Çünkü çok yüksek seviyelerde pulmoner radyasyona maruz kalma ile sonuçlanabilir (15).

Sistemik Tedavi: Geçmişte incelenen hem sitotoksik hem de hormonal ajanları içeren sistemik tedaviler, HSK tanısı olan hastalar için sınırlı kalmıştır ya da hiç yarar sağlamamıştır (47). 2007 yılında tirozin kinaz inhibitörü (TKİ) olan Sorafenib plaseboya göre sağkalımda iyileşme sağlaması nedeniyle onaylandı (62,63). Hastaların %20 ile %38'i yan etkilerden dolayı kullanımını kesmektedir. Diğer TKİ'lerde olduğu gibi, Sorafenib'in ciltle ilişkili toksisiteler, hipertansiyon, proteinüri, diyare ve sitopeniler gibi yan etkileri vardır. Aynı zamanda tromboembolizm, kanama ve bağırsak delinmesi gibi hayati tehlike oluşturan komplikasyonları vardır (64,65). HSK'lı hastaların diğer alternatif sistemik tedavisi için faz 2 ve 3 gelişiminde antianjiyogenik özellikleri olan ajanlar arasında bevacizumab, ramucirumab, ABT-869, everolimus ve ARQ 197 bulunur (66).

2.2 Hepatit B

2.2.1 Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Dünyada yaklaşık 2 milyar kişinin HBV ile karşılaştığı ve yaklaşık 400 milyon kişinin ise KHB olduğu bilinmektedir. Her yıl 500.000-700.000 kişinin HBV enfeksiyonu ve ilgili komplikasyonlar nedeniyle yaşamını yitirdiği tahmin edilmektedir (67,68).

Parenteral, vertikal ve horizontal yol ile bulaşan bu virüsün sıklığı ülkeden ülkeye değişmektedir. Sık kan nakli yapılanlar, hemodiyaliz hastaları, sağlık personeli, uyuşturucu bağımlıları, dövme yaptıranlar, kulak deldirenler, inaktif HBV taşıyıcı annelerin çocukları, seks işçileri, zihinsel engelliler, bakımevinde yaşayanlar, ailesinde inaktif HBV taşıyıcısı olanlar ve mahkumlar risk gruplarını oluşturmaktadır.

2.2.2 Akut Hepatit B ve Kronik Hepatit B

Akut hepatit B (AHB), virüs ile karşılaştıktan sonra 6 hafta ile 6 ay arasında süren inkübasyon periyodu sonrasında gelişir. Asemptomatik enfeksiyon şeklinde izleyebildiği gibi karaciğer yetmezliği gibi ağır bir klinik tablo ile de izleyebilir (69). İnkübasyon döneminde virüs hepatosit içerisine girerek çoğalır. Sonrasında HBV kendisine ait antijenik yapılar üretip zamanla birçok hepatositi enfekte eder. HBV oluşturduğu immün yanıt ile karaciğer hasarı yapar (70). AHB'de iyileşme aşaması HBsAg'nin negatifleşmesi ve anti-HBs'nin pozitifleşmesiyle sonuçlanır. Enfeksiyon sonrası altı ay içinde anti-HBs gelişmezse KHB kabul edilir (69,71).

KHB, immün toleran dönem, immün klirens dönemi (immün aktif dönem), inaktif hepatit B virüsü taşıyıcılığı dönemi, reaktivasyon dönemi olmak üzere dört farklı dönemden oluşur. İmmün toleran dönem, genellikle doğumda ya da erken çocukluk döneminde enfekte olan vakalarda görülür. Bazen az da olsa erişkin dönemde de görülebilir (72). Bu dönemde immün sistem tam gelişmediği için yeterli immün yanıt sağlanamaz ve virüs hepatositlerde çoğalır. Hastalarda virusun replikasyonu devam ettiği için, HBV DNA düzeyi yüksek, HBeAg pozitifdir. Yetersiz immün yanıt nedeniyle hepatosit hasarı gelişmez, nekroinflamasyon olmaz, transaminaz düzeyleri normal seyirde izlenir (73). Bu dönem sıklıkla rastlantı sonucu farkedilir. Çünkü hastalar asemptomatiktir. Bu dönem iyi seyirli olduğundan tedavi gerektirmez (74). İmmün

klirens dönemi, bu dönemde immün sistem HBV antijenlerine karşı yeterli yanıt oluşturduğu için hepatositlerde hasar oluşturur (75). Serum HBV DNA ve ALT düzeyleri değişiklik gösterirken, HBeAg pozitifdir. Aktif inflamasyon ve kronik hepatit bulguları olan bu döneme HBeAg-pozitif KHB denilebilir (69,71). Genellikle bu dönemde asemptomatik seyreden hastalarda akut hepatite benzeyen karaciğer yetmezliğiyle sonuçlanabilen ağır tablolarda görülebilir (76). Bu tabloların sıklığı ve uzun sürmesi karaciğer hasarının ilerlemesine neden olarak karaciğer sirozu ve HSK gelişme sıklığını artırmaktadır (77,78) (77,79). İnaktif hepatit B virüsü taşıyıcılığı dönemi, bu dönemde HBV antijenlerine karşı immün yanıt sona erer, immün temizleme dönemi başlar. Bu dönemde transaminaz düzeyleri normal aralıkta seyreder, virüs replikasyonu düşüktür ve karaciğerde nekroinflamatuvar aktivite hafif düzeydedir. HBV DNA düzeyi düşük, anti-HBe pozitifdir (78)(61). Hastalar bu dönemde uzun yıllar kalırlar. Bu dönemdeki hastalarda karaciğerde minimal fibroz ve hafif şiddette bir hepatit tablosu olabilir. 40 yaşın üzerindeki bazı hastalarda önemli karaciğer hasarı da olabilmektedir (80,81). Reaktivasyon dönemi, HBeAg-negatif ve antiHBe-pozitif olgularda viral replikasyonun devam etmesine bağlı olarak karaciğerde nekroinflamasyonun oluşumuyla ALT düzeyi ve HBV DNA düzeyinin yüksek seyrettiği dönemdir (82). İyileşme dönemi, HBsAg'nin kendiliğinden negatifleştiği dönemdir. Batı toplumlarında Doğu ve Asya toplumlarına göre daha sıklıkla gerçekleşmektedir. Enfeksiyonun Doğu toplumlarında daha erken yaşta başlamasının ve genotipik farklılığın bu duruma neden olduğu düşünülmektedir (83,84).

2.2.3 KHB Tanısı Alan Hastaların Başlangıç Değerlendirmesi

Kronik HBV enfeksiyonu olan bir hastanın ilk değerlendirmesinde tam bir öykü, fiziksel muayene, karaciğer hastalığının ciddiyeti ve HBV enfeksiyonun belirteçlerinin değerlendirilmesi olmalıdır. Ayrıca, tüm birinci dereceden akrabaların ve kronik HBV enfeksiyonu olan kişilerin cinsel partnerlerinin HBV serolojik belirteçlerine (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc) bakılmalıdır ve bu belirteçler negatiflerse aşılmalıdır. Karaciğer hastalığının ciddiyetinin değerlendirilmesi tedavi ve HSK gözetimi açısından önemlidir. Bu değerlendirme fiziksel muayene ve biyokimyasal parametrelere (aspar-

tat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT), gama-glutamil transpeptidaz (GGT), alkalen fosfataz(ALP), bilirubin ve serum albümin ve gama globülinler, tam kan sayımı ve protrombin zamanı) dayanmaktadır. Abdominal USG bütün hastalara yapılması önerilir. Karaciğer biyopsisi veya non invaziv bir test HBV serolojik belirteçleri ve biyokimyasal parametreler yetersiz kaldığında hastalık aktivitesine karar vermek için yapılmalıdır (85). Karaciğerin sertlik ölçümü ve fibrozisin serum biyomarkırlarının kullanıldığı non-invaziv test elastografinin kullanımı siroz taramasında en yüksek tanısal başarıya sahip gibi görünmektedir. Bütün non invaziv metodların tanısal başarısı siroz ve fibrozis gelişimini belirlemek dışında iyidir (85,86). Transient elastografinin sonuçları yüksek ALT seviyesi ile ilişkili inflamasyon kadar şaşırtıcı olabilir (85,86). HBeAg ve anti-HBe tespiti, kronik HBV enfeksiyonu fazının belirlenmesi için önemlidir. HBV DNA serum seviyesinin ölçümü tanı, enfeksiyon fazının belirlenmesi, tedavi ve takip açısından gereklidir. Serum HBsAg miktarı HBe Ag negatif kronik hepatit B tanılı hastalarda interferon (IFN) alfa ile tedavi olmak açısından önemlidir. İlk değerlendirmede HBV genotipi gerekli değildir. Fakat IFN alfa ile tedavi olacak hastaları ve HSK riskini belirlemede faydalı olabilir. Hepatit A virüsüne karşı antikolar (anti-HAV) bakılmalıdır, negatifse aşı yapılmalıdır (87).

2.2.4 Tedavi

KHB tanısı olan hastalarda tedavinin temel amacı yaşam süresi ve yaşam kalitesini artırmak ve HSK gelişimini önlemektir. Ek olarak amaç anneden çocuca bulaşmayı, HBV'nin yeniden aktivasyonu önlemek ve HBV ile ilişkili ekstrahepatik bulguların tedavisini sağlamaktır. Bu hedeflere ulaşmak enfeksiyonun doğal seyri boyunca tedavinin zamanı, hastalığın evresi ve hastanın tedavisine başlama yaşına bağlıdır (87).

HBV replikasyon seviyesi, hastalığın ilerlemesi ve KHB'nin uzun dönem sonuçları açısından tek başına güçlü bir biyomarkırdır. Antiviral tedavilerle viral replikasyonu inhibe etmek hastaların çoğunda KHB'nin indüklediği nekroinflamasyon aktivitesine ve karaciğer fibrosizinin ilerlemesine engel olur ve böylece HSK riski azalır (88–91).

HBV DNA'nın uzun süreli baskılanması tedavi stratejilerinin temel noktasını oluşturur. Anti- HBe serokonversiyonu olsun veya olmasın HBeAg kaybının indüklenmesi KHB enfeksiyonunun immün kontrolü açısından önemlidir. Biyokimyasal cevap olarak ALT değerinin normal seviyelerde tutulması uzun süreli HBV replikasyonun süpresyonu olarak değerlendirilmelidir. Anti-HBs serokonversiyonu olsun veya olmasın HBsAg kaybı viral replikasyonun ve protein ekspresyonunun ciddi derecede bastırıldığını gösteren optimal son noktadır (87).

HBeAg pozitif veya negatif KHB tanısı olan HBV DNA>2000 IU/ml, serum ALT seviyesi normal limitin üst sınırından büyük ve/veya az da olsa karaciğer nekroinflamasyonu veya fibrozisi başlamış hastalar tedavi edilmelidir. Kompanse veya dekompanse sirozu olan hastalar HBV DNA ve ALT düzeyine bakılmadan tedavi edilmelidir. HBV DNA>20000 IU/ml ve serum ALT seviyesi normal limitin üst sınırınının 2 katından büyük olan hastalar fibrozis derecesine bakılmadan tedavi edilmelidir. Normal serum ALT seviyesi ve yüksek HBV DNA düzeyleri ve 30 yaşından büyük olan HBeAg pozitif KHB tanılı hastalar karaciğer histolojik lezyonlarının ciddiyetine bakılmaksızın tedavi edilebilir. Ailede HSK veya siroz öyküsü ve ekstrahepatik bulguları olan HBeAg pozitif veya negatif olan hastalar tipik tedavi endikasyonları olmasa bile tedavi edilebilirler (87).

HBeAg pozitif, 30 yaşından genç, kronik HBV enfeksiyonu olan hastalar en az 3-6 ayda bir takip edilmelidir. HbeAg negatif, serum HBV DNA<2000 IU/ml ve KHB enfeksiyonu olan hastalar her 6-12 ayda bir takip edilmelidir. HbeAg negatif, HBV DNA>2000 IU/ml ve KHB enfeksiyonu olan hastalar ilk yıl 3 ayda bir sonra 6 ayda bir takip edilmelidir (87).

Son zamanlarda kronik hepatit B tanılı hastalar için nükleozid/nükleotid analogları(NA) ve IFN-alfa şeklinde ana iki tedavi seçeneği vardır. Avrupa'da onaylanan NA'ları lamivudin (LAM), adefovir dipivoxil (ADV), entecavir (ETV), telbivudine (TBV), tenofovir disoproksil fumarat(TDF), tenofovir alafenamid(TAF) şeklindedir. LAM, ADV, TBV NA'ları HBV direnci düşük, ETV, TDF, TAF NA'ları HBV direnci yüksek olarak sınıf-

landırılır (88,92,93). HBV direncine karşı potent olan NA'lar (ETV, TDF, TAF) uzun dönem ölçülemeyen HBV DNA düzeylerine neden olurlar (88,92,93) . Bu ilaçlar HBV ile enfekte olmuş dekompanse karaciğer hastalığı, karaciğer nakli, ekstrahepatik bulguları olan hastalarda güvenle kullanılabilirler (93,94). Aynı zamanda NA'ları immünsüpresyon altındaki hastalarda HBV reaktivasyonun önlenmesi için tek seçenektir. Ek olarak NA'ları tipik tedaviye başlama kriterlerine uymayan yüksek viremiye sahip hastalarda da kullanılabilir (88,92,93,95–97). IFN-alfa tedavisi uzun dönem immünolojik kontrolü kısa sürede sağlamalıdır. IFN-alfa tedavisinin dezavantajı tedavi cevabının fazla değişkenlik göstermesi ve olumsuz güvenlik profilidir (88,92). Bu tedavi seçimi hasta profili, hastalık aktivitesi, HBV DNA, HBsAg ve HBeAg durumu, HBV genotipi hastalığın evresi gibi durumlara bağlı olarak değişiklik gösterir (88,92). Teorik olarak NA ve IFN-alfa kombine kullanımı NA antiviral etkisine IFN-alfanın immün modülasyonu eklenerek tedavi açısından faydalı olabilir (88,92,98,99). Bununla birlikte böyle bir kombinasyonun üstünlüğüne ilişkin kanıtlar kısıtlıdır, kombinasyonun süresi, hasta seçimi, zamanlaması gibi konularda hala çözülememiş birçok sorun vardır.

2.2.5 KHB'den Siroz ve HSK'ya İlerleme İlgili Faktörler

KHB'nin siroz ve HSK'ya ilerleme riski konağın immün yanıtına bağlı olarak değişir. Tedavi edilmemiş KHB'de 5 yıllık siroz insidansı %8 ile %20 arasında değişir. Sirozu olanlar arasında 5 yıllık karaciğer yetmezliği gelişmesi riski %20'dir (100,101). HSK gelişme riski (siroz, kronik hepatik nekroinflamasyon, ileri yaş, erkek cinsiyeti, Afrika kökenli olmak, alkolün kötüye kullanımı, diğer hepatitlerle birlikte kronik viral enfeksiyonlar veya HIV, diyabet veya metabolik sendrom, aktif sigara, pozitif aile öyküsü) gibi konakla ilişkili birden fazla faktörle ilgili olarak ve / veya HBV (yüksek HBV DNA ve / veya HBsAg seviyeleri, HBV genotip C> B, spesifik mutasyonlar) özelliklerine göre artmaktadır (102).

Son zamanlarda KHB hastalarında HSK gelişimini öngörebilmek amacıyla birkaç risk puanı geliştirildi. GAGHCC, CU-HCC ve REACH-B (*Risk estimation for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B*) gibi skorlar geliştirildi ve Asya'lı KHB hastalarında kullanıldı(25). KHB tanısı olan hastalarda HSK gelişim riskini tahmin etmede kullanılan REACH-B skoru hesaplamasında hastanın cinsiyeti, yaşı, serum ALT seviyesi,

HBeAg durumu, serum HBV DNA seviyesi parametreleri kullanılır. Bu parametreler ile aşağıda Şekil 1’de gösterilen puanlama ile skor belirlenip, bu skora göre 3, 5 ve 10 yıllık HSK gelişme riski hesaplanmıştır (103).

REACH-B HCC risk score developed using REVEAL cohort (n=3,584)

Risk predictor	Risk score	Cumulative risk score	HCC risk		
			At 3 rd year	At 5 th year	At 10 th year
Gender					
Female	0	0	0.0%	0.0%	0.0%
Male	2	1	0.0%	0.0%	0.1%
Age					
30-34	0	2	0.0%	0.0%	0.1%
35-39	1	3	0.0%	0.1%	0.2%
40-44	2	4	0.0%	0.1%	0.3%
45-49	3	5	0.1%	0.2%	0.5%
50-54	4	6	0.1%	0.3%	0.7%
55-59	5	7	0.2%	0.5%	1.2%
60-65	6	8	0.3%	0.8%	2.0%
ALT, U/L					
<15	0	9	0.5%	1.2%	3.2%
15-44	1	10	0.9%	2.0%	5.2%
≥45	2	11	1.4%	3.3%	8.4%
HBeAg					
Negative	0	12	2.3%	5.3%	13.4%
Positive	2	13	3.7%	8.5%	21.0%
HBV DNA level, copies/mL					
<300 (Undetectable)	0	14	6.0%	13.6%	32.0%
300-9999	0	15	9.6%	21.3%	46.8%
10000-99999	3	16	15.2%	32.4%	64.4%
100000-999999	5	17	23.6%	47.4%	81.6%
≥10 ⁶	4				

Yang HI et al. *Lancet Oncol* 2011;12:568-574

Şekil 1. REACH-B skorlaması

2.2.6 Evreleme ve Skorlama

Histopatolojik inceleme KHB tanılı hastalarda inflamasyon ve fibrozisin değerlendirilmesinde kullanılır. Bir kaç tane skorlama sistemi geliştirilmiştir. Ülkemizde en çok kullanılan skorlama sistemi modifiye knodell sistemidir (Ishak). Schuer, Metavir skorlaması diğer yaygın kullanılan sınıflamalardır. Ishak skorlama sistemiyle perportal veya perseptal interface hepatiti, konfluent nekroz, fokal litik nekroz, apoptoz, fokal inflamasyon ve portal inflamasyon ayrı ayrı değerlendirilip skorlama yapılarak histolojik aktivite indeksi (HAI) ve bağ dokusu artışı ve fibrozis derecesi ile de fibrozis evre skoru verilmektedir. HAI toplam 18 puan üzerinden değerlendirilmektedir. Fibrozis ise toplam 6 evre üzerinden değerlendirilir (104). ISHAK skorlama sistemine göre HAI derecelendirmesi Tablo 2 ve fibrozisin evrelendirmesi Tablo 3 gösterilmiştir.

Tablo 2 Ishak skorum sistemine göre HAI derecelendirmesi (104)

Modifiye HAI derecelendirmesi	Skor
Periportal veya periseptal interface hepatiti(piecemeal nekrozu)	
Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alanda)	1
Hafif/orta (fokal, portal alanın çoğunda)	2
Orta (trakt ya da septaların %50'den fazlasında, çevresinde devamlılık gösteren)	3
Şiddetli (trakt ya da septaların %50'den fazlasında, çevresinde devamlılık gösteren)	4
Konfluent nekroz	
Yok	0
Fokal konfluent nekroz	1
Zon 3 nekroz (bazı alanlarda)	2
Zone 3 nekroz (çoğu alanda)	3
Zone 3 nekroz+seyrek portal-santral (P-C) köprüleşme	4
Zone 3 nekroz+ çok sayıda portal-santral köpüleşme	5
Panasiner veya multiasiner nekroz	6
Fokal (spotty) litik nekroz, apopitoz ve fokal inflamasyon	
Yok	0
1 veya daha az odak (x100'lük büyütmede)	1
2-4 odak (x100'lük büyütmede)	2
5-10 odak (x100'lük büyütmede)	3
10'dan fazla odak (x100'lük büyütmede)	4
Portal inflamasyon	
Yok	0
Hafif (bazı veya tüm portal alanlarda)	1
Orta (bazı veya tüm portal alanlarda)	2
Orta/Belirgin (tüm portal alanlarda)	3
Belirgin (tüm portal alanlarda)	4

Tablo 3 Ishak skorum sistemine göre fibrozisin evrelendirmesi (104)

Fibrozisin evrelendirmesi	Skor
Fibrozis yok	0
Birkaç portal alanda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	1
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	2
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve seyrek portal-portal (P-P) köprüleşme	3
Portal alanlarda fibröz genişleme ve belirgin köprüleşme (P-P ve P-C)	4
Belirgin köprüleşme (P-P ve/veya P-C) ile seyrek nodül (inkomplet siroz)	5
Siroz (olası veya kesin)	6

2.2.7 KHB'den HSK Gelişim Mekanizması

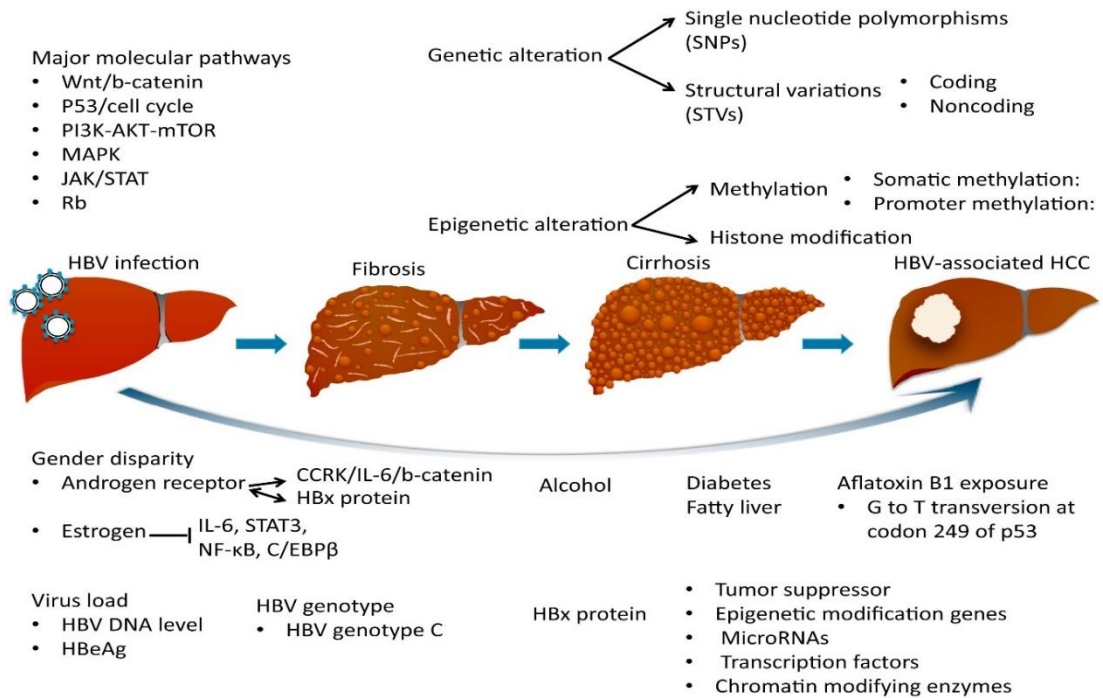
Kronik HBV enfeksiyonu, HSK gelişimi açısından önemli bir risk faktörüdür. HBV doğrudan veya dolaylı yollarla karsinoma neden olabilir. Doğrudan onkojenik etki, HBV DNA'nın konakçı genomuna entegrasyonu ve HBV x proteini ile konak proteinler arasındaki etkileşiminin kromozomal instabilite ve sayısız mutasyona neden olmasıdır (105). Dolaylı yoldan etkisi, kronik inflamasyon, karaciğerde genetik ve epigenetik bozulmalara neden olan oksidatif stres, kronik hepatit, fibrozis, siroz ve son olarak tümörün başlaması ve ilerlemesi yer alır. Ek olarak, alkol tüketimi, metabolik hastalıklar, sex hormonları, aflotoksin maruz kalma, HIV veya HCV ile birlikte enfeksiyonda karaciğerin mikroortamını etkileyerek HSK gelişmesine moleküler yolları değiştirerek katkıda bulunabilir (106).

HBV ilişkili HSK belirli bir mutasyondan kaynaklanmaz, birkaç onkojenik yol içerir (107,108). En sık mutasyon, telomeraz reaktivasyonuna yol açarak hücrelerin programlanmış hücre ölümünün engellenerek malign potansiyel kazanmasına neden olan telomeraz ters transkriptaz promotoründe bulunur (107). TP53, HSK gelişimine katkıda bulunan diğer tümör süpresör genidir (109). Çeşitli onkolojik yollardaki Wnt sinyal (107), hücre döngüsü (110,111), oksidatif stres (109,112), epigenetik düzenleyiciler (110), PI3K-AKT-mTOR (113), MAPK (113), JAK / STAT (113) ve retinoblastoma yolları (107,108,111) gibi birkaç somatik mutasyonların da HBV ile HSK arasındaki ilişkileri bulundu. Yüksek serum HBV DNA düzeyi, HBeAg durumundan, ALT seviyesinden ve karaciğer sirozundan bağımsız olarak hastalık ilerlemesinde ve HSK gelişiminde güçlü bir risk belirleyicisi gibi görünmektedir (114). Tayvanlı hastalarda yapılan araştırmada, HBV DNA seviyesinin sürekli > 20.000 IU / mL olanların, HBV DNA < 2.000 IU / mL olanlara göre 10 kat daha fazla HSK geliştiği gösterilmiştir (115,116).

Afrikalılar ve Tayvanlılarda yapılan çalışmalarda, HBeAg pozitif hastalarda antiHBe pozitif hastalara kıyasla artmış HSK gelişme riski olduğunu gösterilmiştir (117). Hem yüksek HBV DNA seviyesi hem de HBeAg pozitifliği HBV DNA entegrasyonu, karaciğer hasarı, siroza dönüşüm, kromozomal instabilite, DNA hasarı, inflamasyon ve oksidatif stres sıklığını arttıran viral replikasyonu aktive eder.

HBV'nin onkojenik özellikleri genotipik özellikleriyle de ilişkilidir. HBV 9 genotip (A, B, C, D, E, F, G, H, I) ve bir de %8'den fazla yanılma payına göre kabul edilen (J) genotip olarak sınıflandırılır (118–122). A, B, C, D 4 ana HBV genotopidir (123). B ve C Asya Pasifik bölgesinde, A ve D genotipleri Avrupa, Afrika ve Hindistan'da daha yaygın görülür (120,124,125).

HBV genotip C'nin DNA çift sarmal kırılmalarını indüklemesi, reaktif oksijen türlerini (ROS) biriktirmesi ve ardından endoplazmik retikulum stresi tetiklemesi diğerlerine göre daha olasıdır. Bunun yanında, HBV genotip C, konakçı genomuna entegrasyonu daha iyidir, bu da kromozomal instabilite ve DNA hasarı riskini artırır, HSK'nın başlatılmasını ve gelişmesini uyarır (126–130). Batı Avrupa ve Kuzey Amerika'da, genotip D, genotip A'dan daha fazla HSK insidansı ile ilişkilidir.



Şekil 2. HBV patogenezi (Xu et al. 2017'den uyarlanmıştır.) (131)

2.2.8 İmmünohistokimyasal Belirteçler

HSP-70 strese karşı hücreyi koruyan şaperon proteinlerdir. HBV enfeksiyonu stres yaratan bir durumdur ve HSP-70 sentezini uyarır. HSP-70 apoptozisi önleyen ve karsinojenik bir rol üstlenen bir proteindir (132). HSP-70 antiapoptotik etkisi ile hü-

relerin hayatta kalmasını sağlar ve böylece tümör hücrelerinin proliferasyonunu desteklemiş olur. HSK'lı hastalarda HSP-70 geninin ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir (133) ve erken HSK döneminde de artmıştır (134). HSP-70 immünohistokimyasal olarak çoğunlukla fokal ve nükleostoplazmik boyanma paterni gösterir. HSP-70 moleküler ekspresyonu ve immünohistokimyasal paterni HSK'yı erken evrede yakalamada kullanılabilir.

Beta katenin, hücre adezyonunu ve WNT-sinyal yolağı ile ilişkili hücre proliferasyonunu düzenlemede görevli bir proteindir. Beta katenin geninin ekzon 3 içindeki genetik değişiklikleri HSK ile ilişkilidir. HSK hastalarının %20'sinden fazlasında beta katenin geninde mutasyon vardır (135). Bu mutasyonlar beta katenin proteinin nükleer translokasyonunu etkileyerek GS artışına neden olur. GS glutamat ve amonyaktan glutamin sentezleyen enzimdir. Glutamin tümör hücreleri için enerji kaynağıdır. Normalde memeli ve fare karaciğerinde GS terminal hepatik venlerin çevresinde bulunur (136). Fakat hepatoselüler tümörlerde beta katenin geninin mutasyonuna da bağlı olarak GS diffüz bir patern seyrederek (137). GS'nin prekanseröz lezyonlarda, erken ve ilerlemiş HSK da immünohistokimyasal olarak ekspresyonunun arttığı bulundu (138). Bu yüzden GS HSK tanısında önemli bir belirteç olabilir.

GLP-3, hücre yüzeyine glikozilfosfatidilinozitol ile bağlanan heparan sülfat proteoglikandır. Sitoplazmik membranda boyanma paterni gösterir ama normal karaciğer veya hepatoselüler adenomda bulunmaz (139). GLP-3 hücre proliferasyonunu azaltabilir ve spesifik dokularda apoptozisi indükler (140). GLP-3 ekspresyonu HSK'lı hastalarda yüksek seviyede gösterilmiştir. Sung ve arkadaşları (141) ve Capurra ve arkadaşları (138) HSK'lı hastalarda GLP-3 ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir. Bu yüzden HSK'nın prekürsör lezyonlarında önemli bir belirteç olabilir.

Vasküler bir belirteç olan CD 34, kan akımının artışıyla ilişkili stromal kapillarizasyonu tespit eder, normal karaciğer sinizoitlerinde bulunmaz. Stromal kapillarizasyon siroz seyri sırasında karaciğer dokusunda farklılaşma olduğunu gösterir ve CD 34 boyanması ile değerlendirilmektedir. Stromal kapillarizasyon genellikle düşük evreli

displastik nodül, yüksek evreli displastik nodül, erken HSK, ilerlemiş HSK'da artış gösterir (142). Bir çalışmada HbsAg birikimin karaciğer inflamasyonuna neden olduğu bunun da kök hücre popülasyonu harekete geçirdiği gösterilmiş ve muhtemel bir onkogenik mekanizmayı gösteren gen ekspresyon datasında CD 34 artışı olduğu gösterilmiştir (143).

3 MATERYAL VE METOD

3.1 Hasta Seçimi ve Hasta Grupları

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesinde takip edilen 2003 Ocak-2013 Aralık tarihleri arasında KHB tanısı almış ve HSK gelişmiş hastalar çalışıldı. ICD koduna göre HSK tanısı girilmiş 9587 HSK hastası tarandı. Bu hastalardan etiyojisi HBV olan 95 hasta vardı. Bu 95 hastadan HCV pozitif hastalar, HIV pozitif hastalar, okkült hepatit B hastaları ve patolojik spesimeni olmayan veya histolojik tanıya elverişli olmayacak derecede yetersiz olan hastalar çalışmadan dışlandı. Bu kriterleri sağlayan ve Ishak skorlama sistemine göre fibrozis skoru 4 ve üzerinde karaciğer patolojisi olan 31 tane hasta vardı. Çalışmaya bu 31 hasta dahil edildi. 31 KHB tanısı olan hasta HSK tanı alma şekli ve KHB'ye ait patoloji zamanlamasına göre 3 gruba ayrıldı. KHB tanısına ait karaciğer biyopsisi olan belirli bir süre sonra karaciğer biyopsisi ile HSK tanısı alan hasta grubu grup 1 olarak belirlendi. Bu grupta 8 hasta yer aldı. HSK ve KHB tanısı için eş zamanlı karaciğer biyopsisi olan hasta grubu grup 2 olarak belirlendi. Bu gruptaki hastaların karaciğer patolojisinde HSK tanısı almış alan ve çevre dokuda KHB'ye ait özellikler vardı. Bu grupta 16 hasta yer aldı. KHB tanısına ait karaciğer biyopsisi olan belli bir süre sonra HSK tanısı alan ama tanıyı dinamik görüntüleme (BT veya MRG) ile alan hasta grubu grup 3 olarak belirlendi. Bu grupta 7 hasta yer aldı. Ayrıca belli takip süresi içinde HSK tanısı almamış, Hepatit B tanısı olan, ishak skorlama sistemine göre fibrozis skoru 2 ve altında olan 10 tane de kontrol hasta grubu seçildi. Grupların belirlenmesindeki parametreler Tablo 4'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Hasta seçimi

Tablo 4 Grupların belirlenmesi ve özellikleri

Parametreler	Grup 1 N:8	Grup 2 N:16	Grup 3 N:7	Kontrol Grubu N:10
KHB tanısı	+	+	+	+
HSK tanısı	+	+	+	-
KHB ayrı patoloji	+	-	+	+
HSK ayrı patoloji	+	-	-	-
HBV ve HSK aynı patoloji	-	+	-	-
Fibrozis skoru ≥ 4	+	+	+	-
Fibrozis skoru ≤ 2	-	-	-	+

3.2 Bakılan Parametreler

Hastaların demografik bilgileri, laboratuvar parametreleri ve karaciğer patoloji bulguları toplandı. Demografik verileri olarak yaş ve cinsiyetleri kaydedildi. Hastaların laboratuvar parametreleri olarak serum ALT, AST, ALP, GGT, total bilirubin, albümin, INR, HbeAg, Anti Hbe, HBV DNA şeklinde kaydedildi. Hastaların KHB tanısı aldığı dönemdeki laboratuvar sonuçları kaydedildi. Hastaların demografik ve laboratuvar verileri kullanılarak REACH-B skoru hesaplandı. Ayrıca grup 1, grup2 ve kontrol grubunun takip süreleri kaydedildi. Grup 1 ve grup 2 takip süresi hastanın KHB ve HSK tanısı aldığı dönem arası olarak, kontrol grubu takip süresi hastanın KHB tanısı aldığı ve en son görüntüleme (USG, BT veya MRG) yöntemiyle kontrol edildiği dönem arası olarak kaydedildi. Hastaların patolojik olarak HAI ve fibrozis skorları hesaplandı ve immünohistokimyasal olarak GS, HSP-70, CD 34 ve GLP-3 doku belirteçlerinin karaciğer dokusunda boyanma paterni incelendi. Hastaların patoloji bulguları tanılardan habersiz bağımsız tek bir patolog tarafından değerlendirildi. Bu doku belirteçlerinin gruplar arasında analizi yapılırken KHB'e ait biyopsi materyali non-neoplastik doku, HSK'ya ait biyopsi materyali neoplastik doku ismi altında sonuçlar kısmında gösterildi.

3.3 İmmünohistokimyasal Yöntem

Formalinle fikse edilmiş parafine gömülmüş dokulardan bloklar hazırlandı. Bu bloklar üzerinde immünohistokimyasal boyamalarla çalışıldı. GS antikoru (abcam, ab176562), HSP-70 antikoru (abcam, ab45133), CD 34 antikoru (abcam, ab110643), GLP-3 antikoru (abcam ab95363) kitleri kullanıldı. Doku blok kesitleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim dalı immünohistokimya laboratuvarına

ait otomatik cihaz ile üreticinin talimatları doğrultusunda hazırlanmıştır (Leica, Bond-Max) (144). İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan antikör markası, dilüsyon oranı ve klonlar Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5 İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan antikörler, dilüsyonları, markası ve klonu

Antikör	Dilüsyon	Marka	Klon
Glutamin sentetaz	1:200	Abcam	EPR13022(B)
HSP 70	1:200	Abcam	EP1007Y
CD 34	1:200	Abcam	EPR2999
Glipikan 3	1:100	Abcam	SP86

3.4 İmmünohistokimyasal Değerlendirme

GS, CD 34, HSP-70, GLP-3 belirteçleri boyanma özelliklerine göre zayıf ve güçlü boyanma olarak değerlendirildi.

GS, HSP-70, GLP-3 boyanma paterni; boyanma yaygınlığı %50’nin altında olan ve mikroskopta ancak x40’lık büyütmede görülebilen boyanma özelliği olan zayıf boyanma, boyanma yaygınlığı %50’nin üzerinde olan ve mikroskopta x10’luk büyütmede görülebilen boyanma özelliği olan güçlü boyanma olarak değerlendirildi.

CD 34 boyanma paterni; asiner zone 1 boyanma özelliği olan zayıf boyanma, zone 1’den fazla boyanma özelliği olan güçlü boyanma olarak değerlendirildi.

3.5 İstatiksel Analiz

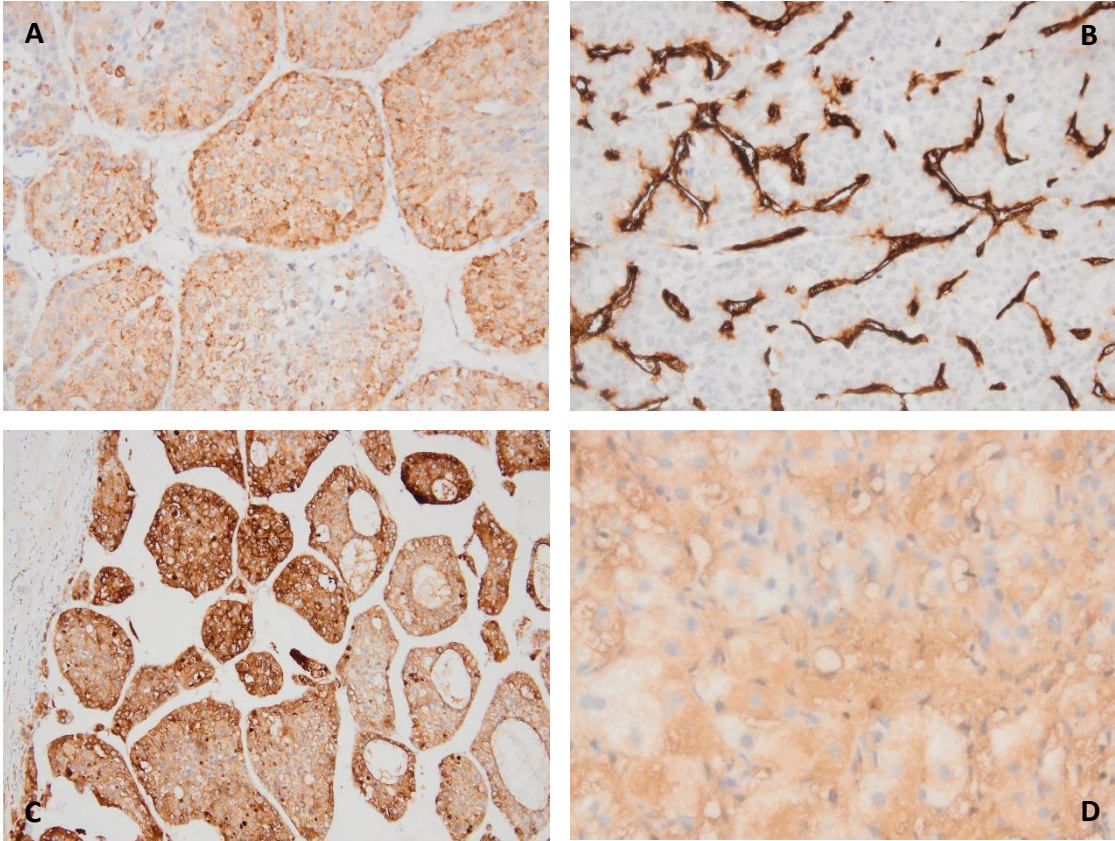
Verilerin analizinde *Statistical Package for Social Sciences version 20.0 for Windows* paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenler sıklık, ortalama ya da ortanca şeklinde belirtilmiştir. Normal dağılıma uyan sürekli değişkenler ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$), normal dağılıma uymayan değişkenler ortanca ve çeyrekler arası aralık (IQR) olarak verilmiştir. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov- Smirrov testi ile değerlendirilmiştir.

Ortalama ve standart sapma ile verilen değerler için t-test ya da tek yönlü varyans analizi (ANOVA), ortanca ile verilen değerler için 3’lü grup analizinde Kruskal-Wallis, ikili grup analizinde Mann- Whitney U testi kullanıldı. Sıralı değişkenlerse ki-

kare testi, Fisher exact testi ile analiz edildi. $p < 0.05$ için sonuçlar istatistik olarak anlamlı kabul edildi.

3.6 Araştırmanın Etik Yönü

Çalışma retrospektif olarak yapıldı. Araştırma Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulunun GO 14/459-01 karar numaralı onayı ile yapılmıştır.



Şekil 4. (A) Glutamin sintetaz: Karaciğer parankiminde diffüz boyanma; (B) CD34: Kapillerizasyon ile hepatosit kordonlarında sıralanma artışı; (C) Glipikan-3: Karaciğer parankiminde güçlü boyanma; (D) HSP-70: Sitoplazmik boyanma.

4 BULGULAR

4.1 Grupların demografik ve laboratuvar parametrelerinin verileri

Grupların demografik verileri, laboratuvar parametrelerinin verileri ve takip süresi Tablo 6'da belirtilmiştir. HSK gelişen grup 1, grup 2 ve grup 3 hastalarının cinsiyet dağılımına bakıldığında erkek cinsiyet hakim olduğu görülmektedir. Hastaların KHB tanısı aldığı döneme ait biyokimyasal parametrelerine bakacak olursak grup 1, grup 2 ve grup 3 serum ALT, serum AST, serum ALP, serum GGT, INR değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede olduğu görülmektedir. Bütün gruplarda yüksek yüzdede anti-hbe pozitifliği vardır. Bütün gruplarda HBV DNA ortalamaları yüksektir.

Tablo 6 Grupların demografik ve laboratuvar parametrelerinin verileri

Parametreler	Grup 1 N:8	Grup 2 N:16	Grup 3 N:7	Kontrol Grubu N:10
Yaş	68.0±10.3 (48-85)	69.6±8.6 (54-81)	71.1±4.4 (66-77)	58.8±9.3 (46-74)
Cinsiyet				
Kadın N(%)	3(37.5)	1(6.3)	1(14.3)	5(50)
Erkek N(%)	5(62.5)	15(93.7)	6(85.7)	5(50)
ALT (U/L)	104.1±83.0 (24-237)	148.4±195.4 (17-510)	86.2±69.3 (29-219)	36.0±32.3 (16-117)
AST(U/L)	87.5±76.7 (28-222)	114.8±131.4 (18-432)	81.8±46.4 (26-160)	46.4±55.5 (17-198)
ALP(U/L)	115.3±78.1 (52-293)	154±195.5 (55-104)	116.4±50.9 (57-189)	73.8±17.7 (50-100)
GGT(U/L)	57.4±42.7 (24-149)	45.8±22.1 (16-79)	85±52.2 (31-187)	24±16.6 (9-61)
Bilirubin(mg/dl)	0.5±0.6 (0.3-2.1)	1.3±0.9 (0.4-3.89)	1.4±1.4 (0.2-4.5)	0.5±0.2 (0.2-0.8)
Albumin(g/dl)	3.8±0.8 (2.3-4.9)	3.5±1.0 (1.1-4.7)	3.1±0.7 (2.6-4.3)	4.3±0.6 (3.8-4.8)
INR	1.2±0.2 (0.9-1.4)	1.5±0.9 (1.0-3.9)	1.4±0.4 (0.9-1.9)	1.1±0.1 (0.9-1.2)
HbeAg + N(%)	1(12.5)	2(12.5)	1(14.3)	1(10)
AntiHbe + N(%)	7(87.5)	11(68.8)	7(100)	9(90)
HBV DNA (IU/ml)	1.4×10 ⁶ ± 1.7×10 ⁶	67×10 ⁶ ± 209×10 ⁶	1.0×10 ⁶ ± 1.4×10 ⁶	17×10 ⁶ ± 53×10 ⁶
Takip Süresi (ay)	44.9	-	33.4	65.1

4.1.1 Belirli bir takip süresi sonrası HSK tanısı alan hastalar ile HSK tanısı almayan hastaların demografik ve laboratuvar parametrelerinin analizi

Ortalama 44,9 aylık bir takip süresinde HSK tanısı alan Grup 1 ve ortalama 65,1 aylık bir takip süresinde HSK tanısı almayan kontrol grubundaki hastaların demografik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 7’de gösterildi. İleride HSK gelişen grup 1’deki hastaların erkek cinsiyet yüzdesi kadınlardan daha yüksek bulundu. Grup 1 hastalarının serum ALT, serum AST, serum ALP ve serum GGT değerleri daha yüksek seviyede olduğu gözlemlendi. İki gruptaki hastaların yüksek yüzde ile Anti-Hbe pozitif olduğu gözlemlendi. İki gruptaki hastaların 10 yıllık HSK geliştirme riskini gösteren REACH-B skoru ve bu skora göre HSK geliştirme oranları incelendi. İki grup arasında REACH-B skoru ve oranı arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Ortalama 42,3 aylık bir takip süresi sonunda HSK tanısı alan grup 1 ve 3’teki hastalar ile ortalama 65,1 aylık bir takip süresinde HSK tanısı alan kontrol grubundaki hastaların demografik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 8’de gösterilmiştir. HSK geliştiren gruptaki hastaların erkek cinsiyet oranı kadınlardan daha yüksek yüzdede bulundu. HSK geliştiren gruptaki hastaların serum ALT, serum AST, serum ALP, serum GGT değerleri daha yüksek değerlerde bulundu. İki gruptaki hastaların yüksek yüzde ile Anti-Hbe pozitif olduğu gözlemlendi. İki gruptaki hastaların 10 yıllık HSK geliştirme riskini gösteren REACH-B skoru ve bu skora göre HSK geliştirme oranları incelendi. İki grup arasında REACH-B skoru ve oranı arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 7 Grup 1 ve kontrol grubundaki hastaların demografik ve laboratuvar parametrelerinin analizi

Parametreler	Grup 1 non-neoplazi N:8	Kontrol Grubu non-neoplazi N:10	P
Yaş	68.0±10.3 48-85	58.8±9.3 46-74	0.064
Cinsiyet			
Kadın N(%)	3(37.5)	5(50)	0.664
Erkek N(%)	5(62.5)	5(50)	
ALT (U/L)	104.1±83.0 (24-237)	36.0±32.3 (16-117)	0.057
AST(U/L)	87.5±76.7 (28-222)	46.4±55.5 (17-198)	0.206
ALP(U/L)	115.3±78.1 (52-293)	73.8±17.7 (50-100)	0.182
GGT(U/L)	57.4±42.7 (24-149)	24±16.6 (9-61)	0.680
T.Bilirubin(mg/dl)	0.5±0.6 (0.3-2.1)	0.5±0.2 (0.2-0.8)	0.043
Albumin(g/dl)	3.8±0.8 (2.3-4.9)	4.3±0.6 (3.8-4.8)	0.089
INR	1.2±0.2 (0.9-1.4)	1.1±0.1 (0.9-1.2)	0.036
HbeAg + N(%)	1(12.5)	1(10)	1.0
AntiHbe + N(%)	7(87.5)	9(90)	1.0
HBV DNA (IU/ml)	1.4×10 ⁶ ± 1.7×10 ⁶	17×10 ⁶ ± 53×10 ⁶	0.425
Takip süresi (ay)	44.9	65.1	0.086
REACH-B skoru	10.6±3.0 (6.0-14.0)	10.2±2.6 (5.0-14.0)	0.753
REACH-B Oran	13.0±12.7 (0.7-32.0)	9.8±10.1 (0.5-32.0)	0.559

Tablo 8 Grup 1-3 ve kontrol grubundaki hastaların demografik ve biyokimyasal parametrelerinin analizi

Parametreler	Grup 1 ve 3 non-neoplazi N:15	Kontrol Grubu non-neoplazi N:10	P
Yaş	69.4±7.9 (48-85)	58.8±9.3 (46-74)	0.006
Cinsiyet			
Kadın N(%)	4(26.7)	5(50)	0.397
Erkek N(%)	11(73.3)	5(50)	
ALT (U/L)	95.8±74.7 (24-237)	36.0±32.3 (16-117)	0.013
AST(U/L)	84.8±62.2 (26-222)	46.4±55.5 (17-198)	0.128
ALP(U/L)	115.8±64.5 (52-293)	73.8±17.7 (50-100)	0.029
GGT(U/L)	70.2±47.7 (24-187)	24±16.6 (9-61)	0.003
T.Bilirubin(mg/dl)	1.1±1.0 (0.2-4.5)	0.5±0.2 (0.2-0.8)	0.026
Albumin(g/dl)	3.5±0.8 (2.3-4.9)	4.3±0.6 (3.8-4.8)	0.002
INR	1.3±0.3 (0.9-1.9)	1.1±0.1 (0.9-1.2)	0.007
HbeAg + N(%)	2(13.3)	1(10)	1
AntiHbe + N(%)	14(93.3)	9(90)	1
HBV DNA (IU/ml)	1.3×10 ⁶ ± 1.5×10 ⁶	17×10 ⁶ ± 53×10 ⁶	0.375
Takip süresi (ay)	42.3	65.1	0.126
REACH-B skoru	11.27±2.6 12(6-14)	10.2±2.6 9.5(5.0-14.0)	0.329
REACH-B Oran	14.8±11.2 13.4(0.7-32)	9.8±10.1 4.2(0.5-32.0)	0.266

4.2 Grupların Karaciğer Patoloji Verileri

Gruplardaki hastaların KHB patolojisine ait HAI skoru ve fibrozis evresi, KHB ve HSK patolojisine ait doku belirteçlerinin boyanma paterni Tablo 9'da verilmiştir.

Grup 1'deki hastaların karaciğer patoloji verilerine göre GS'nin non-neoplastik dokuda hastaların tamamında zayıf boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %87,5'de güçlü boyandığı, HSP 70'in non-neoplastik dokuda hastaların %50'sinde zayıf ve güçlü boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %75'inde güçlü boyandığı, CD 34'ün non-neoplastik dokuda %87,5'inde zayıf boyandığı, neoplastik dokuda hastaların tamamında güçlü boyandığı, GLP-3'ün non-neoplastik ve neoplastik dokuda hastaların %87,5'inde güçlü boyandığı bulundu. Grup 1'deki hastaların KHB patolojisinin ortalama HAI skoru 6.50, ortalama fibrozis evresi 5.88' dir.

Grup 2'deki hastaların karaciğer patoloji verilerine göre GS'nin non-neoplastik dokuda hastaların %81,2'sinde zayıf boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %50'sinde zayıf ve güçlü boyandığı, HSP 70'in non-neoplastik dokuda hastaların %81,2'sinde güçlü boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %62,5'inde güçlü boyandığı, CD 34'ün noneoplastik dokuda hastaların %93,75'inde zayıf boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %81,2'sinde güçlü boyandığı, GLP-3'ün non-neoplastik dokuda hastaların %62,5'inde güçlü, neoplastik dokuda hastaların %75'inde güçlü boyandığı bulundu. Grup 2' deki hastaların KHB patolojisinin ortalama HAI skoru 5,06, ortalama fibrozis evresi 5,25' dir.

Grup 3'deki hastaların karaciğer patoloji verilerine göre non-neoplastik dokuda GS'nin hastaların %85,7'inde zayıf boyandığı, HSP 70'in hastaların %51,1'inde zayıf boyandığı, CD 34'ün hastaların %51,1'inde zayıf boyandığı ve GLP-3'ün hastaların %85,7'sinde güçlü boyandığı belirtilmiştir. Grup 3'de hastaların KHB patolojisinin ortalama HAI skoru 4,5, ortalama evresi 5,71' dir.

Kontrol grubundaki hastaların karaciğer patoloji verilerine göre non-neoplastik dokuda GS'nin hastaların tamamında zayıf boyandığı, HSP 70'in hastaların %70'inde zayıf boyandığı, CD 34'ün hastaların tamamında zayıf boyandığı ve GLP-3'ün

hastaların %70'inde zayıf boyandığı belirtilmiştir. Kontrol grubundaki hastaların KHB patolojisinin ortalama HAI skoru 4,70, ortalama evresi 1,90'dır.

Tablo 9 Gruplardaki hastaların karaciğer patoloji verileri

Parametreler	Grup 1 N:8		Grup 2 N:16		Grup 3 N:7	Kontrol N:10
	Non-neoplazi	Neoplazi	Non-neoplazi	Neoplazi	Non-neoplazi	Non-neoplazi
GS						
Zayıf N(%)	8(100)	1(12.5)	13(81.2)	8(50)	6(85.7)	10(100)
Güçlü N(%)	0(0)	7(87.5)	3(18.8)	8(50)	1(14.3)	0(0)
HSP-70						
Zayıf N(%)	4(50)	2(25)	3(18.8)	6(37.5)	4(51.1)	7(70)
Güçlü N(%)	4(50)	6(75)	13(81.2)	10(62.5)	3(42.9)	3(30)
CD 34						
Zayıf N(%)	7(87.5)	0(0)	15(93.75)	3(18.8)	4(51.1)	10(100)
Güçlü N(%)	1(12.5)	8(100)	1(6.25)	13(81.2)	3(42.9)	0(0)
GLP-3						
Zayıf N(%)	1(12.5)	1(12.5)	6(37.5)	4(25)	1(14.3)	7(70)
Güçlü N(%)	7(87.5)	7(87.5)	10(62.5)	12(75)	6(85.7)	3(30)
HAI skoru		-		-		
Ortalama	6.50±2.88		5.06±1.6		4.5±2.4	4.7±1.1
Aralık	(2-10)		(3-8)		(2-8)	(3-6)
Fibrozis Evre	5.88±0.35	-	5.25±0.93	-	5.71±0.75	1.9±0.3
	(5-6)		(4-6)		(4-6)	(1-2)

Non-neoplazi: KHB dönemine ait karaciğer dokusu Neoplazi: HSK dönemine ait karaciğer dokusu

4.2.1 Doku belirteçlerinin neoplastik ve sirotik olmayan non-neoplastik karaciğer dokusundaki boyanma paterni analizi

Birçok çalışmada HSK tanısında güçlü boyandığı gösterilen bu doku belirteçlerinin neoplastik karaciğer dokusu ve sirotik olmayan non-neoplastik karaciğer dokusundaki boyanma patenlerini inceledik. Grup 1 ve grup 2'deki hastaların neoplastik karaciğer dokusuyla kontrol grubundaki hastaların sirotik olmayan non-neoplastik karaciğer dokusunun boyanma paterninin analizi Tablo 10'de gösterildi. Bu doku belirteçleri neoplastik dokuda hastaların çoğunda güçlü boyanma paterni gösterirken, sirotik olmayan non-neoplastik dokuda hastaların çoğunda zayıf boyanma paterni gösterdiler. Neoplastik karaciğer dokusu ile sirotik olmayan non-neoplastik karaciğer dokusunun GS, CD 34 ve GLP-3 doku belirteçleri ile boyanma paterni açısından arasında anlamlı bir farklılık saptandı.

Tablo 10 Grup 1 ve 2'e ait neoplastik karaciğer dokusuyla kontrol grubuna ait sirotik olmayan non-neoplastik karaciğer dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterninin analizi

Doku Belirteçleri	Grup 1-2 N:24 neoplazi	Kontrol Grubu N:10 non-neoplazi	P
GS			
Zayıf N(%)	9(37.5)	10(100)	
Güçlü N(%)	15(62.5)	0(0)	0.001
HSP-70			
Zayıf N(%)	8(33.3)	7(70)	
Güçlü N(%)	16(66.7)	3(30)	0.068
CD 34			
Zayıf N(%)	3(12.5)	10(10)	
Güçlü N(%)	21(87.5)	0(0)	<0,001
GLP-3			
Zayıf N(%)	5(20.8)	7(70)	
Güçlü N(%)	19(79.2)	3(30)	0.015

Non-neoplazi: KHB dönemine ait karaciğer dokusu Neoplazi: HSK dönemine ait karaciğer dokusu

4.2.2 Doku belirteçlerinin neoplastik ve sirotik non-neoplastik karaciğer dokusundaki boyanma paterni

Grup 1'deki hastaların HSK gelişmeden KHB tanısı aldığı karaciğer patolojisinin sirotik non-neoplastik dokusu ile ortalama 44,9 ay sonra HSK tanısı aldıkları karaciğer patolojisinin neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterni arasındaki ilişki Tablo 11'da gösterilmiştir. GS'nin sirotik noneoplastik dokuda hastaların tamamında zayıf boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %87,5'inde güçlü boyandığı gösterilmiştir. Bu grupta GS'nin neoplastik ve sirotik non-neoplastik dokuda boyanma paterni arasında anlamlı fark saptanmıştır. HSP-70'in non-neoplastik dokuda hastaların %50'sinde zayıf ve güçlü boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %75'inde güçlü boyandığı gösterilmiştir. Bu grupta HSP 70'in neoplastik ve non-neoplastik dokuda boyanma paterni arasında anlamlı fark saptanmamıştır. CD 34'ün non-neoplastik dokuda hastaların %87,5'inde zayıf boyandığı, neoplastik dokuda hastaların tamamında güçlü boyandığı gösterilmiştir. Bu grupta CD 34'ün neoplastik ve non-neoplastik dokuda boyanma paterni arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. GLP-3'ün non-neoplastik dokuda ve neoplastik dokuda hastaların %87,5 oranda güçlü boyandığı gösterilmiştir. Aynı hasta grubunda GLP-3'ün neoplastik ve non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından benzerlik saptanmıştır.

Tablo 11 Grup 1’ deki hastaların neoplastik dokusuyla sirotik non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterninin analizi

Doku Belirteçleri	Grup 1 non-neoplazi N:8	Grup 1 neoplazi N:8	P
GS			
Zayıf N(%)	8(100)	1(12.5)	
Güçlü N(%)	0(0)	7(87.5)	-
HSP-70			
Zayıf N(%)	4(50)	2(25)	
Güçlü N(%)	4(50)	6(75)	0.625
CD 34			
Zayıf N(%)	7(87.5)	0(0)	
Güçlü N(%)	1(12.5)	8(100)	0.008
Glp-3			
Zayıf N(%)	1(12.5)	1(12.5)	
Güçlü N(%)	7(87.5)	7(87.5)	1

Non-neoplazi: KHB dönemine ait karaciğer dokusu Neoplazi: HSK dönemine ait karaciğer dokusu

Aynı karaciğer patolojisinin HSK’ya ait neoplastik ve KBH’ya ait sirotik non-neoplastik dokunun doku belirteçleri ile boyanma paterninin karşılaştırılması Tablo 12’da verilmiştir. Bu tablodaki hastalar grup 2’yi oluşturan HSK patolojisi olan 16 hasta ve grup 1’i oluşturan hastalardan 4 tanesiyle oluşturulmuştur. Grup 1’de 8 hasta olmasına karşı sadece 4 hastanın karaciğer çevresinde sirotik noneoplastik karaciğer dokusu bulunabilmiştir. GS’nin non-neoplastik dokuda hastaların %15’inde güçlü boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %60’ında güçlü boyandığı bulundu. Bu grupta GS’nin non-neoplastik ve neoplastik dokudaki boyanma paterni arasında anlamlı bir farklılık saptandı. HSP-70’in non-neoplastik dokuda hastaların %80’inin güçlü boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %65’inin güçlü boyandığı bulundu. İlginç bir şekilde bu grupta HSP-70’in aynı karaciğer biyopsisinin non-neoplastik dokusunda daha fazla boyandığı gözlemlendi. Fakat istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir farklılık saptanmadı. CD 34’ün non-neoplastik dokuda hastaların %5’inde güçlü boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %85’inde güçlü boyandığı bulundu. Bu grupta CD-34’ün non-neoplastik ve neoplastik dokudaki boyanma paterni arasında anlamlı bir farklılık saptandı. GLP-3’ün non-neoplastik dokuda hastaların %70’inde güçlü boyandığı, neoplastik dokuda hastaların %75’inde güçlü boyandığı bulundu. Bu grupta GLP-3’ün non-neoplastik ve neoplastik dokudaki boyanma paterni açısından benzerlik saptanmıştır.

Tablo 12 Aynı karaciğer patolojisinin neoplastik ve çevresindeki sirotik non-neoplastik dokunun doku belirteçleri ile boyanma paterninin analizi

Doku Markırları	non-neoplazi N:20	neoplazi N:20	P
GS			
Zayıf N(%)	17(85)	8(40)	0.022
Güçlü N(%)	3(15)	12(60)	
HSP-70			
Zayıf N(%)	4(20)	7(35)	0,375
Güçlü N(%)	16(80)	13(65)	
CD 34			
Zayıf N(%)	19(95)	3(15)	<0.001
Güçlü N(%)	1(5)	17(85)	
GLP-3			
Zayıf N(%)	6(30)	5(25)	1
Güçlü N(%)	14(70)	15(75)	

Non-neoplazi: KHB dönemine ait karaciğer dokusu Neoplazi: HSK dönemine ait karaciğer dokusu

4.2.3 Doku belirteçlerinin sirotik ve sirotik olmayan non-neoplastik karaciğer dokusundaki boyanma paterninin analizi

Ortalama 44,9 aylık bir takip süresinde HSK geliştiren Grup 1'deki hastaların sirotik non-neoplastik dokusu ile ortalama 65,1 aylık bir takip süresinde HSK gelişmeyen kontrol grubundaki hastaların sirotik olmayan non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterni ve patoloji verilerinin karşılaştırılması Tablo 13'de gösterildi. GS'nin grup 1 ve kontrol grubundaki hastaların non-neoplastik karaciğer dokusunda tamamının zayıf boyandığı gözlemlendi. GS'nin non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Grup 1'de HSP 70'in non-neoplastik karaciğer dokusunda hastaların %50'sinde zayıf boyandığı, kontrol grubunda hastaların %70'inde zayıf boyandığı bulundu. HSP-70'in non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Grup 1'de CD34'ün non-neoplastik karaciğer dokusunda hastaların %87,5'inde zayıf, kontrol grubunda hastaların tamamında zayıf boyandığı bulundu. CD34'ün non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Grup 1'de GLP-3'ün non-neoplastik karaciğer dokusunda hastaların %87,5'inde güçlü boyandığı, kontrol grubunda hastaların %30'unda güçlü boyandığı bulundu. GLP-3'ün non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptandı ($p=0.025$).

Tablo 13 Grup 1 ve kontrol grubundaki hastaların KHB tanısı aldığı karaciğer patolojisinin non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterni ve patoloji verilerinin analizi

Parametreler	Grup 1 Non-neoplazi N:8	Kontrol Grubu Non-neoplazi N:10	P
GS			
Zayıf N(%)	8(100)	10(100)	
Güçlü N(%)	0(0)	0(0)	-
HSP-70			
Zayıf N(%)	4(50)	7(70)	
Güçlü N(%)	4(50)	3(30)	0.630
CD 34			
Zayıf N(%)	7(87.5)	10(10)	
Güçlü N(%)	1(12.5)	0(0)	0.444
GLP-3			
Zayıf N(%)	1(12.5)	7(70)	
Güçlü N(%)	7(87.5)	3(30)	0.025
HAI skoru	6.50±2.88 (2-10)	4.70±1.06 (3-6)	0.129
Fibrozis Evre	5.88±0.35 (5-6)	1.90±0.32 (1-2)	<0.001

Non-neoplazi: KHB dönemine ait karaciğer dokusu Neoplazi: HSK dönemine ait karaciğer dokusu

Belli bir takip süresi sonunda HSK gelişen grup 1 ve 3' teki hastaların sirotik non-neoplastik dokusu ile belli bir takip süresi sonunda HSK gelişmeyen kontrol grubundaki hastaların sirotik olmayan non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterni ve patoloji verilerinin karşılaştırılması Tablo 14'de belirtilmiştir. GS'nin HSK gelişen ve gelişmeyen hastalarda yüksek yüzdede zayıf boyandığı bulundu. GS'nin non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. HSK gelişen grupta HSP-70'in noneoplastik karaciğer dokusunda hastaların %53,3'ünde zayıf boyandığı, HSK gelişmeyen kontrol grubunda hastaların %70'inde zayıf boyandığı bulundu. HSP-70'in non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı. HSK gelişen grupta CD 34'ün hastaların %73,3'ünde zayıf boyandığı, HSK gelişmeyen grupta hastaların tamamının zayıf boyandığı bulundu. CD 34'ün non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı. HSK gelişen grupta GLP-3'ün hastaların %86,7'sinde güçlü boyandığı, HSK gelişmeyen grupta hastaların

%30'unda güçlü boyandığı bulundu. GLP-3'ün non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptandı (p=0.009).

Tablo 14 Grup 1-3 ve kontrol grubundaki hastaların KHB tanısı aldığı karaciğer patolojisinin non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterni ve patoloji verilerinin analizi

Parametreler	Grup 1 ve 3 non-neoplazi N:15	Kontrol Grubu Non-neoplazi N:10	P
GS			
Zayıf N(%)	14(93.3)	10(100)	1
Güçlü N(%)	1(6.7)	0(0)	
HSP-70			
Zayıf N(%)	8(53.3)	7(70)	0.678
Güçlü	7(46.7)	3(30)	
CD 34			
Zayıf N(%)	11(73.3)	10(10)	0.125
Güçlü N(%)	4(26.7)	0(0)	
GLP-3			
Zayıf N(%)	2(13.3)	7(70)	0.009
Güçlü N(%)	13(86.7)	3(30)	
HAI skoru	5.6±2.7 (2-10)	4.70±1.06 (3-6)	0.715
Fibrozis Evre	5.8±0.5 (4-6)	1.90±0.32 (1-2)	<0.001

Non-neoplazi: KHB dönemine ait karaciğer dokusu Neoplazi: HSK dönemine ait karaciğer dokusu

HSK'ya ait dokunun çevresindeki sirotik non-neoplastik doku (grup 2) ve sonradan HSK tanısı almış sirotik non-neoplastik doku (grup 1 ve grup 2) ile HSK tanısı almamış sirotik olmayan nonneoplastik dokunun (kontrol grubu) doku belirteçleriyle boyanma paterninin karşılaştırılması Tablo 15'de gösterildi. HSK gelişen grupta GS'nin non-neoplastik karaciğer dokusunda hastaların %87,1'inde zayıf boyandığı, HSK gelişmeyen grupta tamamının zayıf boyandığı bulundu. GS'nin non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. HSK gelişen grupta HSP-70'in hastaların %64,5'inde güçlü boyandığı, HSK gelişmeyen grupta hastaların %30'unda zayıf boyandığı bulundu. HSP-70'in non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. HSK gelişen grupta CD 34'ün hastaların %83,9'unda zayıf boyandığı, HSK gelişmeyen grupta

tamamının zayıf boyandığı bulundu. CD 34'ün non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. HSK gelişen grupta GLP-3'ün hastaların %74,1'inde güçlü boyandığı, HSK gelişmeyen grupta hastaların %30'unda güçlü boyandığı bulundu. GLP-3'ün non-neoplastik dokuda boyanma paterni açısından bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptandı ($p=0.022$).

Tablo 15 Grup 1-2-3 ve kontrol grubundaki hastaların KHB tanısı aldığı karaciğer patolojisinin non-neoplastik dokusunun doku belirteçleri ile boyanma paterninin analizi

Doku Belirteçleri	Grup 1-2-3 non-neoplazi N:31	Kontrol Grubu non-neoplazi N:10	P
GS			
Zayıf N(%)	27(87.1)	10(100)	0.556
Güçlü N(%)	4(12.9)	0(0)	
HSP-70			
Zayıf N(%)	11(35.5)	7(70)	0.075
Güçlü N(%)	20(64.5)	3(30)	
CD 34			
Zayıf N(%)	26(83.9)	10(10)	0.310
Güçlü N(%)	5(16.1)	0(0)	
GLP-3			
Zayıf N(%)	8(25.9)	7(70)	0.022
Güçlü N(%)	23(74.1)	3(30)	

Non-neoplazi: KHB dönemine ait karaciğer dokusu Neoplazi: HSK dönemine ait karaciğer dokusu

5 TARTIŞMA

HSK hastalarının yarısından fazlasını KHB hastaları oluşturur. HBV karaciğer inflamasyonunu uyararak fibrozis ve sirozu oluştur ve sonrasında HSK riskini artırır (145,146). HSK hastalarının ana ölüm nedeni geç tanıdır. Bu yüzden erken teşhis hastaları korumak için çok önemlidir (147). Geçmişte karaciğer biyopsisi ve cerrahi işlemler HSK tanısı için kullanılan yöntemler olmakla beraber, bu yöntemler geniş hücre plakaları, retiküler çerçevenin kaybolması, küçük hücre değişimi, mitotik aktivite, stromal invazyon ve vasküler invazyon gibi morfolojik değişiklikleri gösterir. Bu özellikler bazı koşullarda yeterli olmayabilir. Özellikle yeterli biyopsi dokusu olmadığı zaman yeterince doğru sonuç elde edilemeyebilir (148). Aynı zamanda biyopsi yapılırken tümör ekim riskinin (seeding) olması nedeniyle, son yıllarda tanı koymak için dinamik görüntüleme yöntemleri, biyopsi yapmaksızın HSK tanısının konmasına imkan vermektedir. Her merkezin kendi deneyimine göre değişmekle beraber, BT veya MRG bu konuda uzmanlaşmış bir ekibin yardımıyla tipik vakalarda (*arterial enhancement, venöz wash-out*) biyopsi yapılmaya gerek kalmaksızın tanıyı koyabilir. Bizim merkezimizde her iki yöntem ve özellikle son yıllarda yeni çıkan kontrast maddelerin kullanımıyla değerlendirilen görüntüleme yöntemleri ile HSK vakaları erken evrede yakalanabilmektedir. Tipik olmayan vakalarda veya direkt eksizyonel biyopsi gereken durumlarda doku tanısı yine de bazı vakalarda gerekli olmaktadır. Bu yöntemler uzun zamandır merkezimizde başarıyla uygulanmakta olduğundan, biyopsi ile teşhis edilmiş HSK vaka sayımız oldukça az olarak araştırmamızda bulunmuştur. Bu durum çalışmaya alınan hasta sayımızı düşürmekle beraber, ileri merkezlerin çoğunda buna benzer bir kısıtlamanın olduğunu düşünmekteyiz. HSK gelişimi kronik karaciğer hastalığı ile başlayan, siroz ile devam eden ve HSK ile sonlanan uzun bir süreçtir. Bu üçleme Hepatit B hastalarında HSK gelişimi açısından önemlidir ve yakın takip edilmesi gerekir (149). İmmünohistokimyasal belirteçlerle ilişkili olarak HSK izlemi güvenilir bir yoldur ve artık daha fazla düşünülmelidir.

Birçok çalışmada GS, HSP-70, CD 34 ve GLP-3 doku belirteçlerinin etiyojisine bakılmadan neoplastik dokuda non-neoplastik dokuya kıyasla yüksek oranda pozitif

boyandığı gösterildi. Di Tommaso ve arkadaşları (150) HSP 70, GLP-3 ve GS doku belirteçlerinin HSK taramasında kullanımı ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, bu üçlü panelin tanısallık başarısını rejeneratif nodül, düşük dereceli displastik nodül, yüksek dereceli displastik nodül, çok iyi diferansiyasyonlu HSK, iyi diferansiyasyonlu HSK ve kötü diferansiyasyonlu HSK ait karaciğer biyopsilerinde değerlendirmişler ve iyi diferansiyasyonlu HSK taramasında başarılı olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bu çalışmada aynı zamanda bu üçlü panelin neoplastik ve non-neoplastik dokulardaki tanısallık başarısı incelenmiş, neoplastik dokuda non-neoplastik dokuya göre daha yüksek oranda pozitif boyandığı bulunmuştur. Neoplastik dokuda GLP-3 %70,7, GS %58,7, HSP-70 %47,8 oranda pozitif çıkmış. Tremosini ve arkadaşlarının (151) çalışmasında da bu üçlü panelin HSK saptanmasında tanısallık başarısı değerlendirilmiş ve HSK tanısı olan 40 hastanın GLP-3 %57,5'inde pozitif, HSP-70 %57,5'inde pozitif, GS %50 sinde pozitif boyanma saptanmıştır. Lagana ve arkadaşları (152) hepatoselüler adenoma ve düşük dereceli HSK ayırımında GLP-3, HSP-70 ve GS'nin oluşturduğu immünohistokimyasal panelin başarısını çalışmışlar ve GLP-3 ve HSP-70'in bu ayırımıda kullanılabileceği ama GS'nin kullanılamayacağı sonucuna ulaşmışlardır. Bu çalışmalarda non-neoplastik dokunun sirotik olup olmadığı veya fibrozis evresi hakkında bilgi verilmemiş ve etiyojilerine göre bir karşılaştırma yapılmamıştır. Moudi ve arkadaşları (153) HSP 70, GS ve GLP-3 doku belirteçlerinin HBV ilişkili HSK tanısı olan hastaların karaciğer biyopsisinde tanısallık önemi üzerine çalışmada, doku belirteçlerini 4 ayrı grupta çalışmışlar (Kontrol grubu, kronik HBV tanısı olanlar, HSK tanısı olanlar ve HBV ilişkili HSK tanısı olanlar). Adı geçen doku belirteçlerinin immünohistokimyasal ve kantitatif *real-time* PCR(q-PCR) yöntemiyle ekspresyonları değerlendirilmiş ve karaciğer dokusundaki ekspresyonu HBV ilişkili HSK hastalarında sadece KHB olan grup ve sadece HSK tanısı olan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucu olarak KHB tanısı olan hastalarda erken evrede HSK tanısında bu doku belirteçlerinin kullanılabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma KHB etiyojine sahip hastalar çalışılmış ama non-neoplastik dokunun siroz olup olmadığı veya fibrozis evresi hakkında bilgi verilmemiştir. Biz çalışmamızda KHB etiyojine sahip hastaların non-neoplastik dokusunun hem sirotik hem de non-si-

rotik hasta grubunu çalıştık. Çalışmamızda KHB etiyojisine sahip neoplastik ve sirotik olmayan non-neoplastik dokuda GS, HSP 70, CD 34 ve GLP-3 belirteçlerinin boyanma paternini bakacak olursak; bu belirteçlerin neoplastik dokuda sirotik olmayan non-neoplastik dokuya göre yüksek oranda güçlü boyandığı bulundu (Tablo 10). Fakat bu belirteçlerin neoplastik doku ve sirotik non-neoplastik dokudaki boyanma paterninde farklı sonuçlar elde ettik (Tablo 11, Tablo 12). GS ve CD 34'ün neoplastik dokuda sirotik non-neoplastik dokuya göre güçlü boyandığı gözlemlendi. GS ve CD 34'ün sirotik ve sirotik olmayan non-neoplastik dokuda bu karşılaştırmalarda boyanma paterni benzerdi. Fakat HSP-70 ve GLP-3 için aynı şeyi söylemek pek mümkün değildir. Özellikle GLP-3 hem neoplastik dokuda hem de sirotik non-neoplastik dokuda yüksek yüzdede güçlü boyandı. GLP-3'ün sirotik ve sirotik olmayan non-neoplastik dokuda boyanma paternine baktığımız zaman arasında anlamlı bir farklılık bulundu (Tablo 13, Tablo 14). HSP-70'de sirotik non-neoplastik dokuda yüksek yüzdede boyandı ama HSP-70'in sirotik ve sirotik olmayan non-neoplastik doku arasında boyanma paterni açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 13, Tablo 14).

Çalışmamızda KHB tanısı olan ve belli bir takip süresi sonunda HSK geliştiren hasta grubunun KHB dönemine ait sirotik non-neoplastik karaciğer dokusu ile HSK dönemine ait neoplastik karaciğer dokusunun bu belirteçlerle boyanma paternini karşılaştırdık (Tablo 11). Bu karşılaştırmamızın amacı hastalarda HSK gelişmeden hücresel düzeyde bir bozukluğun olup olmadığının test edilmek istenmesidir. Eğer daha HSK'ya ait klinik olarak bir bulgu olmadan KHB döneminde HSK dönemine benzer bir boyanma paterni saptanması HSK'nın gelişme riskini göstermesi açısından önemli olabilir. Yine aynı amaç doğrultusunda HSK'ya ait karaciğer patolojisinin neoplastik dokusu ile aynı karaciğer patolojisinin HSK'ya ait doku çevresindeki sirotik non-neoplastik dokunun doku belirteçleri ile boyanma paterni karşılaştırıldı (Tablo 12). Bu sirotik non-neoplastik dokunun belli bir süre sonra HSK geliştirme ihtimali yüksek olduğu için doku belirteçlerinin HSK gelişimi öngörebilirliğini araştırmak açısından bu karşılaştırmamızın önemli olabileceğini düşündük. Her iki karşılaştırmada da GLP-3 ve HSP 70 non-neoplastik dokuda da güçlü boyanırken, GS ve CD 34 non-neoplastik dokuda zayıf bo-

yandı. Bizim çalışmamızın sonucuna göre GS ve CD 34 doku belirteçlerinin sirotik hastalarda HSK gelişimini öngörebilirlik açısından bir tarama doku belirteci olarak kullanılamayacağı söylenebilir. HSP 70 doku belirtecinin sirotik hastalarda HSK gelişimini öngörebilirlik açısından bir tarama doku belirteci olarak kullanılabileceği şüphelidir. Çünkü HSP 70'in ileride HSK gelişen grup ile HSK gelişmeyen grubun non-neoplastik doku boyanma paterni açısından arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 13,Tablo 14). GLP-3 doku belirteci sirotik hastalarda HSK gelişimini öngörebilirlik açısından önemli bir belirteçtir ve bir tarama doku belirteci olarak kullanılabilir. Çünkü GLP-3'ün ileride HSK gelişen grup ile HSK gelişmeyen grubun non-neoplastik doku boyanma paterni açısından arasında anlamlı bir fark saptandı (Tablo 13,Tablo 14). Bu karşılaştırmadaki sonuçlara bakarak GS ve CD 34 doku belirteçlerinin HSK gelişimi öngörülebirliliği açısından çalışılan hasta grubunda anlamlı sonuçlar vermediği ama GLP-3 doku belirtecinin ümit vadettiği söylenebilir. Tüm bunları yorumlarken, çalışmadaki hasta sayısının az olmasının en büyük sınırlayıcı etken olduğu akıldan çıkarılmamalıdır. Elde edilen sonuçlara kesinlikle ön bulgu olarak bakmak ve daha büyük çalışmaların yapılmasına olanak sağlayacak verilerin oluşturulması bakımından faydalı olduğunu düşünmek daha doğru olacaktır. Aynı zamanda Tablo 10, Tablo 11 ve Tablo 12'daki karşılaştırmalara bakarak fibrozis evresi farketmeksizin GS ve CD 34 doku belirteçlerinin neoplastik ve non-neoplastik dokuyu ayırmada başarılı oldukları söylenebilir.

Çalışmamızda belirli bir takip süresi sonrası HSK tanısı alan hastalar ile HSK tanısı almayan hastaların demografik ve laboratuvar parametrelerinin analizi incelendi (Tablo 7,Tablo 8). Genel olarak karaciğer kanseri erkeklerde kadınlardan daha yaygındır (9). Bizim çalışmamızda da HSK gelişen hastalarda erkek yüzdesi fazlaydı. Yine bu karşılaştırmada biyokimyasal parametrelere bakacak olursak HSK gelişen grupta HSK gelişmeyen gruba kıyasla serum ALT, serum AST, serum ALP, serum GGT değerlerinin daha yüksek seviyede olduğu görülüyor. Son zamanlarda KHB hastalarında HSK gelişimini öngörebilmek amacıyla çeşitli risk skorları geliştirildi. Çalışmamızda REACH-B skorunu kullandık. Yang Hı ve arkadaşları (103) Tayvanlı hastalarda hastanın cinsiyeti, yaşı, serum ALT seviyesi, HBeAg durumu, serum HBV DNA seviyesi parametrelerini kullanarak REACH-B skorunu geliştirdi ve bu skora göre 3, 5 ve 10 yıllık HSK gelişme

riskini hesapladılar. Bizim çalışmamızda HSK gelişen grup ile HSK gelişmeyen grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Gruplar arasında REACH-B skoru açısından anlamlı fark saptanmamış olmasına rağmen, henüz tümör gelişmemiş KHB hastalarında GLP-3 anlamlı derecede pozitif boyanmıştır. Bu durum bize skorlama sistemleri ile riskin düşük olduğu hasta gruplarında dahil, GLP-3 boyaması zaten KHB tedavisi için alınmış olan rutin karaciğer biyopsisinde boyanmasının HSK gelişim riskini belirlemede faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın sınırlayıcı tarafı; çalışmanın amacına yönelik hasta sayısının az olması ve aynı zamanda kontrol grubunu seçmenin zorluğu olmuştur. Biz kontrol grubu olarak KHB etiyojisine sahip HSK gelişmeyen hastaları seçtik. Bu hastaların takip süresi 65,1 aydı. Her ne kadar istatistiksel olarak takip sürelerinde anlamlı bir fark saptanmamış olsa da, kontrol grubunun takip süresinin hasta grubundan ortalama yaklaşık 20 ay daha yüksek olması, kontrol grubunun HSK riski açısından oldukça düşük bir riske sahip olduğunu düşündürmektedir. Yine de bu hastaların ileride siroz ve daha sonrasında HSK geliştirmeyeceği bilinemez. Bu açıdan bu çalışma takip süresi daha uzun olan KHB hastalarının olduğu ve hasta sayısının daha fazla olduğu yeni çalışmalar ile desteklenebilir. Aynı zamanda çalışmanın amacına yönelik sonuçlarının ve hipotezin güçlülüğünü artırmak için yeni hasta gruplarına ihtiyaç vardır. Bunlar belli bir takip süresi sonunda HSK gelişmeyen ileri evre fibrozis veya siroz olan hasta grubu ve belli takip süresinde HSK gelişen siroz olmayan veya düşük fibrozis evresine sahip hasta grubu şeklinde olabilir. İleride bu gruplarla da çalışma yapılmasında fayda olacaktır.

GLP-3' ün HSK tanısı için serum seviyesinde çalışabileceğine yönelik çalışmalar mevcuttur. Farklılıklar olsa da çoğu çalışmada serum GLP-3 seviyesinin HSK hastalarında yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu konuda daha objektif sonuçlar için ek çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (154). Biz çalışmamızda GLP-3'ü serumda değil, immünohistokimyasal olarak HSK hastalarında kullanımıyla ilgili daha güçlü veriler olması nedeniyle karaciğere ait doku materyalinde çalıştık. Aynı zamanda GLP-3' ün HSK tanısında özellikle PET gibi görüntüleme hedefinde kullanabileceği ve tanı aldıktan sonra prognostik bir faktör olarak kullanılabileceğine yönünde çalışmalarda vardır.

GLP -3 HSK hücrelerinde aşırı eksprese edildiği için GLP-3'ü hedef alan çeşitli immünoterapiler, GLP-3 hedefli antikor tedavisi, aşılar, immünositokinler ve genetik dahil olmak üzere çalışmalar yapılmaktadır (154).

Sonuç olarak, sirotik veya ileri evre fibrozisi (Ishak'a göre 4 ve üzeri) olan KHB hastalarında HSK'nın erken düzeyde yakalanmasının mümkün olup olmadığının test edilmesinde GLP-3 önemli bir belirteçdir. Daha hastalarda klinik veya patolojik olarak HSK gelişmeden sirotik olan KHB hastalarının karaciğer biyopsisinde GLP-3 doku belirtecinin güçlü boyanması bize ileride HSK gelişimini öngörebilirlik açısından yol gösterebilir. GLP-3 güçlü boyanan sirotik KHB hastaları daha yakından takip edilmesi gerekebilir. Belki de ileride GLP-3'ü hedef alacak tedaviler geliştirilebilir. Bu çıkarımları güçlendirmek için daha birçok yeni çalışmaya ihtiyaç vardır.

6 KAYNAKLAR

1. Schwartz JM, Carithers RLJ. Epidemiology and etiologic associations of hepatocellular carcinoma [Internet]. [cited 2019 Jun 19]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-and-etiological-associations-of-hepatocellular-carcinoma>
2. Bosch FX, Ribes J, Díaz M, Cléries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology*. 2004 Nov;127(5 Suppl 1):S5–16.
3. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005 Apr;55(2):74–108.
4. Uzunalimođlu Ö, Yurdaydın C, Çetinkaya H, Bozkaya H, Şahin T, Çolakođlu S, et al. Risk Factors for Hepatocellular Carcinoma in Turkey. *Dig Dis Sci*. 2001 Jun 1;46:1022–8.
5. Ozer B, Serin E, Yilmaz U, Gumurdulu Y, Saygili O, Kayaselcuk F, et al. Clinicopathologic features and risk factors for hepatocellular carcinoma: results from a single center in southern Turkey. *Turk J Gastroenterol*. 2003;14(2):85–90.
6. European Association For The Study Of The Liver, European Organisation For Research And Treatment Of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2012 Apr;56(4):908–43.
7. Di Tommaso L, Sangiovanni A, Borzio M, Park YN, Farinati F, Roncalli M. Advanced pre-cancerous lesions in the liver. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2013;27(2):269–84.
8. Bruix J, Sherman M, American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatol Baltim Md*. 2011 Mar;53(3):1020–2.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Hepatocellular carcinoma - United States, 2001-2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2010 May 7;59(17):517–20.
10. Tözün N. Türkiye’de viral hepatitler ve hepatoselüler kanser. In: IV Hepatoloji Okulu Konuşma Özetleri Kitabı. 2012.
11. Bialecki ES, Di Bisceglie AM. Diagnosis of hepatocellular carcinoma. *HPB*. 2005;7(1):26–34.
12. Simonetti RG, Cammà C, Fiorello F, Politi F, D’Amico G, Pagliaro L. Hepatocellular carcinoma. A worldwide problem and the major risk factors. *Dig Dis Sci*. 1991 Jul;36(7):962–72.
13. Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet Lond Engl*. 1981 Nov 21;2(8256):1129–33.
14. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology*. 2004 Nov;127(5 Suppl 1):S35-50.

15. El-Serag HB, Marrero JA, Rudolph L, Reddy KR. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2008;134(6):1752–63.
16. Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of HCC: consider the population. *J Clin Gastroenterol*. 2013;47:S2.
17. Shen Y-C, Hsu C, Cheng C-C, Hu F-C, Cheng A-L. A critical evaluation of the preventive effect of antiviral therapy on the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C or B: a novel approach by using meta-regression. *Oncology*. 2012;82(5):275–89.
18. 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. *Am J Gastroenterol*. 1994;89(2).
19. Zhang B-H, Yang B-H, Tang Z-Y. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2004;130(7):417–22.
20. Giordano TP, Kramer JR, Soucek J, Richardson P, El-Serag HB. Cirrhosis and hepatocellular carcinoma in HIV-infected veterans with and without the hepatitis C virus: a cohort study, 1992-2001. *Arch Intern Med*. 2004;164(21):2349–54.
21. Wald C, Russo MW, Heimbach JK, Hussain HK, Pomfret EA, Bruix J. New OPTN/UNOS policy for liver transplant allocation: standardization of liver imaging, diagnosis, classification, and reporting of hepatocellular carcinoma. 2013;
22. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2005;42(5):1208–36.
23. Mancuso A. Management of hepatocellular carcinoma: Enlightening the gray zones. *World J Hepatol*. 2013;5(6):302.
24. Nam CY, Chaudhari V, Raman SS, Lassman C, Tong MJ, Busuttil RW, et al. CT and MRI improve detection of hepatocellular carcinoma, compared with ultrasound alone, in patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011;9(2):161–7.
25. Gupta S, Bent S, Kohlwes J. Test characteristics of α -fetoprotein for detecting hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C: a systematic review and critical analysis. *Ann Intern Med*. 2003;139(1):46–50.
26. Wu JT. Serum alpha-fetoprotein and its lectin reactivity in liver diseases: a review. *Ann Clin Lab Sci*. 1990;20(2):98–105.
27. Llovet J, Ducreux M, Lencioni R, Di Bisceglie A, Galle P, Dufour J. European Association for the Study of the Liver European Organisation for Research and Treatment of Cancer: EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2012;56(4):908–43.
28. Omata M, Lesmana LA, Tateishi R, Chen P-J, Lin S-M, Yoshida H, et al. Asian Pacific Association for the Study of the Liver consensus recommendations on hepatocellular carcinoma. *Hepatol Int*. 2010;4(2):439–74.

29. National Comprehensive Cancer Network. NCCN clinical practice guidelines in oncology, hepatobiliary cancers [Internet]. 2019 [cited 2019 Jun 19]. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/hepatobiliary.pdf
30. Sterling RK, Jeffers L, Gordon F, Venook AP, Reddy KR, Satomura S, et al. Utility of Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of α -fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin, alone or in combination, as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7(1):104–13.
31. Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo K-J, Lee S-D, et al. Des- γ -carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 1984;310(22):1427–31.
32. Volk ML, Hernandez JC, Su GL, Lok AS, Marrero JA. Risk factors for hepatocellular carcinoma may impair the performance of biomarkers: A comparison of AFP, DCP, and AFP-L3 1. *Cancer Biomark*. 2007;3(2):79–87.
33. Lok AS, Sterling RK, Everhart JE, Wright EC, Hoefs JC, Di Bisceglie AM, et al. Des- γ -carboxy prothrombin and α -fetoprotein as biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2010;138(2):493–502.
34. Crissien AM, Frenette C. Current management of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Hepatol*. 2014;10(3):153.
35. Schwartz JM, Carithers RLJ, Sirlin CB. Clinical features and diagnosis of hepatocellular carcinoma [Internet]. [cited 2019 Jun 19]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-features-and-diagnosis-of-hepatocellular-carcinoma>
36. Marrero JA, Fontana RJ, Barrat A, Askari F, Conjeevaram HS, Su GL, et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma: comparison of 7 staging systems in an American cohort. *Hepatology*. 2005;41(4):707–15.
37. Vauthey J-N, Dixon E, Abdalla EK, Helton WS, Pawlik TM, Taouli B, et al. Pretreatment assessment of hepatocellular carcinoma: expert consensus statement. *Hpb*. 2010;12(5):289–99.
38. Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. In © 1999 by Thieme Medical Publishers, Inc.; 1999. p. 329–38.
39. Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, Tomimatsu M, Okazaki N, Hasegawa H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment study of 850 patients. *Cancer*. 1985;56(4):918–28.
40. Roxburgh P, Evans TJ. Systemic therapy of hepatocellular carcinoma: are we making progress? *Adv Ther*. 2008;25(11):1089–104.
41. Nordenstedt H, White DL, El-Serag HB. The changing pattern of epidemiology in hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis*. 2010;42:S206–14.
42. Wong R, Frenette C. Updates in the management of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Hepatol*. 2011;7(1):16.

43. Ishizawa T, Hasegawa K, Aoki T, Takahashi M, Inoue Y, Sano K, et al. Neither multiple tumors nor portal hypertension are surgical contraindications for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2008;134(7):1908–16.
44. Allemann P, Demartines N, Bouzourene H, Tempia A, Halkic N. Long-term outcome after liver resection for hepatocellular carcinoma larger than 10 cm. *World J Surg*. 2013;37(2):452–8.
45. Pawlik T, Poon R, Abdalla E, Zorzi D, Ikai I, Curley S, et al. International Cooperative Study Group in Hepatocellular Carcinoma. Critical appraisal of the clinical and pathologic predictors of survival after resection of large hepatocellular carcinoma. *Arch Surg*. 2005;140:450–8.
46. Poon RT-P, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Wong J. Long-term survival and pattern of recurrence after resection of small hepatocellular carcinoma in patients with preserved liver function: implications for a strategy of salvage transplantation. *Ann Surg*. 2002;235(3):373.
47. Zhu AX. Systemic therapy of advanced hepatocellular carcinoma: how hopeful should we be? *The oncologist*. 2006;11(7):790–800.
48. Llovet JM, Schwartz M, Mazzaferro V. Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma. In Copyright© 2005 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New ...; 2005. p. 181–200.
49. Bismuth H, Majno PE, Adam R. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. In © 1999 by Thieme Medical Publishers, Inc.; 1999. p. 311–22.
50. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*. 1996 Mar 14;334(11):693–9.
51. Kudo M, Izumi N, Kokudo N, Matsui O, Sakamoto M, Nakashima O, et al. Management of hepatocellular carcinoma in Japan: Consensus-Based Clinical Practice Guidelines proposed by the Japan Society of Hepatology (JSH) 2010 updated version. *Dig Dis*. 2011;29(3):339–64.
52. Figueras J, Jaurrieta E, Valls C, Benasco C, Rafecas A, Xiol X, et al. Survival after liver transplantation in cirrhotic patients with and without hepatocellular carcinoma: a comparative study. *Hepatology*. 1997;25(6):1485–9.
53. McGahan JP, Brock JM, Tesluk H, Gu W-Z, Schneider P, Browning PD. Hepatic ablation with use of radio-frequency electrocautery in the animal model. *J Vasc Interv Radiol*. 1992;3(2):291–7.
54. Chen M-S, Li J-Q, Zheng Y, Guo R-P, Liang H-H, Zhang Y-Q, et al. A prospective randomized trial comparing percutaneous local ablative therapy and partial hepatectomy for small hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*. 2006;243(3):321.
55. Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, Meloni F, Solbiati L, Gazelle GS. Small hepatocellular carcinoma: treatment with radio-frequency ablation versus ethanol injection. *Radiotherapy*. 1999;210(3):655–61.

56. Llovet JM, Real MI, Montaña X, Planas R, Coll S, Aponte J, et al. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2002;359(9319):1734–9.
57. Lammer J, Malagari K, Vogl T, Pilleul F, Denys A, Watkinson A, et al. Prospective randomized study of doxorubicin-eluting-bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2010;33(1):41–52.
58. Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. *Hepatology*. 2003;37(2):429–42.
59. Kennedy A, Coldwell D, Sangro B, Wasan H, Salem R. Radioembolization for the treatment of liver tumors: general principles. *Am J Clin Oncol*. 2012;35(1):91–9.
60. Kulik LM, Carr BI, Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Atassi B, Ryu RK, et al. Safety and efficacy of 90Y radiotherapy for hepatocellular carcinoma with and without portal vein thrombosis. *Hepatology*. 2008;47(1):71–81.
61. Salem R, Lewandowski RJ, Mulcahy MF, Riaz A, Ryu RK, Ibrahim S, et al. Radioembolization for hepatocellular carcinoma using Yttrium-90 microspheres: a comprehensive report of long-term outcomes. *Gastroenterology*. 2010;138(1):52–64.
62. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc J-F, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 2008;359(4):378–90.
63. Cheng A-L, Kang Y-K, Chen Z, Tsao C-J, Qin S, Kim JS, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol*. 2009;10(1):25–34.
64. Bruix J, Sala M, Llovet JM. Chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004 Nov;127(5 Suppl 1):S179-188.
65. Launay-Vacher V, Deray G. Hypertension and proteinuria: a class-effect of antiangiogenic therapies. *Anticancer Drugs*. 2009;20(1):81–2.
66. Frenette C, Gish R. Targeted systemic therapies for hepatocellular carcinoma: clinical perspectives, challenges and implications. *World J Gastroenterol WJG*. 2012;18(6):498.
67. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat*. 2004 Mar;11(2):97–107.
68. Thomas D, Zoulim F. New challenges in viral hepatitis. *Gut*. 2012 May;61 Suppl 1:i1-5.
69. Yapali S, Talaat N, Lok AS. Management of hepatitis B: our practice and how it relates to the guidelines. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014;12(1):16–26.
70. Mason W, Litwin S, Xu C, Jilbert A. Hepatocyte turnover in transient and chronic hepatitis B virus infections. *J Viral Hepat*. 2007;14:22–8.

71. Değertekin B. Hepatit B Patogenezi, Doğal Seyri ve Kliniği. Türkiye Klin Gastroenterohepatol - Özel Konular. 2010;3(1):45–52.
72. Villeneuve J-P. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2005 Dec;34 Suppl 1:S139-142.
73. Sede M, Lopez-Ledesma M, Frider B, Pozzati M, Campos R, Flichman D, et al. Hepatitis B virus depicts a high degree of conservation during the immune-tolerant phase in familiarly transmitted chronic hepatitis B infection: deep-sequencing and phylogenetic analysis. *J Viral Hepat*. 2014;21(9):650–61.
74. Croagh CM, Lubel JS. Natural history of chronic hepatitis B: phases in a complex relationship. *World J Gastroenterol WJG*. 2014;20(30):10395.
75. Tsai S, Chen P-J, Lai M, Yang P, Sung J, Huang J-H, et al. Acute exacerbations of chronic type B hepatitis are accompanied by increased T cell responses to hepatitis B core and e antigens. Implications for hepatitis B e antigen seroconversion. *J Clin Invest*. 1992;89(1):87–96.
76. Sheen I-S, Liaw Y-F, Tai D-I, Chu C-M. Hepatic decompensation associated with hepatitis B e antigen clearance in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology*. 1985;89(4):732–5.
77. Liaw Y, Tai D, Chu C, Chen T. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology*. 1988;8(3):493–6.
78. Huang MA, Lok AS. Natural history of hepatitis B and outcomes after liver transplantation. *Clin Liver Dis*. 2003;7(3):521–36.
79. McMahon BJ, Holck P, Bulkow L, Snowball M. Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. *Ann Intern Med*. 2001;135(9):759–68.
80. Lai M, Hyatt BJ, Nasser I, Curry M, Afdhal NH. The clinical significance of persistently normal ALT in chronic hepatitis B infection. *J Hepatol*. 2007;47(6):760–7.
81. Kumar M, Sarin SK, Hissar S, Pande C, Sakhuja P, Sharma BC, et al. Virologic and histologic features of chronic hepatitis B virus-infected asymptomatic patients with persistently normal ALT. *Gastroenterology*. 2008;134(5):1376–84.
82. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen–negative chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2001;34(4):617–24.
83. Alward WL, McMahon BJ, Hall DB, Heyward WL, Francis DP, Bender TR. The long-term serological course of asymptomatic hepatitis B virus carriers and the development of primary hepatocellular carcinoma. *J Infect Dis*. 1985;151(4):604–9.
84. Liaw Y, Sheen I, Chen T, Chu C, Pao C. Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. *Hepatology*. 1991;13(4):627–31.

85. Li Y, Huang Y, Wang Z, Yang Z, Sun F, Zhan S, et al. Systematic review with meta-analysis: the diagnostic accuracy of transient elastography for the staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(4):458–69.
86. European Association for the Study of the Liver. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol*. 2015;63(1):237–64.
87. European Association For The Study Of The Liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017;67(2):370–98.
88. European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2012;57(1):167–85.
89. Papatheodoridis GV, Chan HL-Y, Hansen BE, Janssen HLA, Lampertico P. Risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B: assessment and modification with current antiviral therapy. *J Hepatol*. 2015 Apr;62(4):956–67.
90. Su T-H, Hu T-H, Chen C-Y, Huang Y-H, Chuang W-L, Lin C-C, et al. Four-year entecavir therapy reduces hepatocellular carcinoma, cirrhotic events and mortality in chronic hepatitis B patients. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 2016;36(12):1755–64.
91. Wu C-Y, Lin J-T, Ho HJ, Su C-W, Lee T-Y, Wang S-Y, et al. Association of nucleos(t)ide analogue therapy with reduced risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B: a nationwide cohort study. *Gastroenterology*. 2014 Jul;147(1):143–151.e5.
92. Terrault NA, Bzowej NH, Chang K-M, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH, et al. AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatol Baltim Md*. 2016 Jan;63(1):261–83.
93. Lok ASF, McMahon BJ, Brown RS, Wong JB, Ahmed AT, Farah W, et al. Antiviral therapy for chronic hepatitis B viral infection in adults: A systematic review and meta-analysis. *Hepatol Baltim Md*. 2016 Jan;63(1):284–306.
94. Mazzaro C, Dal Maso L, Urraro T, Mauro E, Castelnovo L, Casarin P, et al. Hepatitis B virus related cryoglobulinemic vasculitis: A multicentre open label study from the Gruppo Italiano di Studio delle Crioglobulinemie - GISC. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver*. 2016 Jul;48(7):780–4.
95. Perrillo RP, Martin P, Lok AS. Preventing hepatitis B reactivation due to immunosuppressive drug treatments. *JAMA*. 2015 Apr 28;313(16):1617–8.
96. Di Bisceglie AM, Lok AS, Martin P, Terrault N, Perrillo RP, Hoofnagle JH. Recent US Food and Drug Administration warnings on hepatitis B reactivation with immune-suppressing and anticancer drugs: just the tip of the iceberg? *Hepatol Baltim Md*. 2015 Feb;61(2):703–11.
97. Perrillo RP, Gish R, Falck-Ytter YT. American Gastroenterological Association Institute technical review on prevention and treatment of hepatitis B virus reactivation during immunosuppressive drug therapy. *Gastroenterology*. 2015 Jan;148(1):221–244.e3.

98. Marcellin P, Ahn SH, Ma X, Caruntu FA, Tak WY, Elkashab M, et al. Combination of Tenofovir Disoproxil Fumarate and Peginterferon α -2a Increases Loss of Hepatitis B Surface Antigen in Patients With Chronic Hepatitis B. *Gastroenterology*. 2016 Jan;150(1):134-144.e10.
99. Marcellin P, Ahn SH, Chuang W-L, Hui AJ, Tabak F, Mehta R, et al. Predictors of response to tenofovir disoproxil fumarate plus peginterferon alfa-2a combination therapy for chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;44(9):957–66.
100. Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT, Krause G, Ott JJ. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet Lond Engl*. 2015 Oct 17;386(10003):1546–55.
101. Chen C-L, Yang J-Y, Lin S-F, Sun C-A, Bai C-H, You S-L, et al. Slow decline of hepatitis B burden in general population: Results from a population-based survey and longitudinal follow-up study in Taiwan. *J Hepatol*. 2015 Aug;63(2):354–63.
102. Varbobitis I, Papatheodoridis GV. The assessment of hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B under antiviral therapy. *Clin Mol Hepatol*. 2016 Sep;22(3):319–26.
103. Yang H-I, Yuen M-F, Chan HL-Y, Han K-H, Chen P-J, Kim D-Y, et al. Risk estimation for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B (REACH-B): development and validation of a predictive score. *Lancet Oncol*. 2011 Jun;12(6):568–74.
104. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995 Jun;22(6):696–9.
105. Aoki H, Kajino K, Arakawa Y, Hino O. Molecular cloning of a rat chromosome putative recombinogenic sequence homologous to the hepatitis B virus encapsidation signal. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Jul 9;93(14):7300–4.
106. Wong VW-S, Janssen HLA. Can we use HCC risk scores to individualize surveillance in chronic hepatitis B infection? *J Hepatol*. 2015 Sep;63(3):722–32.
107. Totoki Y, Tatsuno K, Yamamoto S, Arai Y, Hosoda F, Ishikawa S, et al. High-resolution characterization of a hepatocellular carcinoma genome. *Nat Genet*. 2011 May;43(5):464–9.
108. Zucman-Rossi J, Villanueva A, Nault J-C, Llovet JM. Genetic Landscape and Biomarkers of Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology*. 2015 Oct;149(5):1226-1239.e4.
109. Cleary SP, Jeck WR, Zhao X, Chen K, Selitsky SR, Savich GL, et al. Identification of driver genes in hepatocellular carcinoma by exome sequencing. *Hepatol Baltim Md*. 2013 Nov;58(5):1693–702.
110. Schulze K, Imbeaud S, Letouzé E, Alexandrov LB, Calderaro J, Rebouissou S, et al. Exome sequencing of hepatocellular carcinomas identifies new mutational signatures and potential therapeutic targets. *Nat Genet*. 2015 May;47(5):505–11.

111. Ahn S-M, Jang SJ, Shim JH, Kim D, Hong S-M, Sung CO, et al. Genomic portrait of resectable hepatocellular carcinomas: implications of RB1 and FGF19 aberrations for patient stratification. *Hepatology*. 2014 Dec;60(6):1972–82.
112. Guichard C, Amaddeo G, Imbeaud S, Ladeiro Y, Pelletier L, Maad IB, et al. Integrated analysis of somatic mutations and focal copy-number changes identifies key genes and pathways in hepatocellular carcinoma. *Nat Genet*. 2012 May 6;44(6):694–8.
113. Totoki Y, Tatsuno K, Covington KR, Ueda H, Creighton CJ, Kato M, et al. Trans-ancestry mutational landscape of hepatocellular carcinoma genomes. *Nat Genet*. 2014;46(12):1267.
114. Chen C-J, Yang H-I, Su J, Jen C-L, You S-L, Lu S-N, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*. 2006 Jan 4;295(1):65–73.
115. Iloeje UH, Yang H-I, Su J, Jen C-L, You S-L, Chen C-J, et al. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology*. 2006 Mar;130(3):678–86.
116. Yang H-I, Yeh S-H, Chen P-J, Iloeje UH, Jen C-L, Su J, et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 2008 Aug 20;100(16):1134–43.
117. Yang B, Guo M, Herman JG, Clark DP. Aberrant promoter methylation profiles of tumor suppressor genes in hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol*. 2003 Sep;163(3):1101–7.
118. Roll M, Norder H, Magnius LO, Grillner L, Lindgren V. Nosocomial spread of hepatitis B virus (HBV) in a haemodialysis unit confirmed by HBV DNA sequencing. *J Hosp Infect*. 1995 May;30(1):57–63.
119. Magnius LO, Norder H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. *Intervirology*. 1995;38(1–2):24–34.
120. Cao G-W. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations. *World J Gastroenterol WJG*. 2009 Dec 14;15(46):5761–9.
121. Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, et al. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J Virol*. 2009 Oct;83(20):10538–47.
122. Yu H, Yuan Q, Ge S-X, Wang H-Y, Zhang Y-L, Chen Q-R, et al. Molecular and phylogenetic analyses suggest an additional hepatitis B virus genotype “I.” *PloS One*. 2010 Feb 19;5(2):e9297.
123. Wong G, Chan H, Yiu K, Lai J, Chan V, Cheung K, et al. Meta-analysis: the association of hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;37(5):517–26.

124. Schaefer S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World J Gastroenterol WJG*. 2007;13(1):14.
125. Acharya SK, Madan K, Dattagupta S, Panda SK. Viral hepatitis in India. *Natl Med J India*. 2006 Aug;19(4):203–17.
126. Wang C, Teng Z, Zhu Y, Zhao AZ, Sun C. Associations between pre-S deletion mutation of hepatitis B virus and risk of hepatocellular carcinoma in the Asian population: a meta-analysis. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2015;21:1072.
127. Orito E, Mizokami M. Differences of HBV genotypes and hepatocellular carcinoma in Asian countries. *Hepatol Res*. 2007;37:S33–5.
128. Kao J-H. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Intervirology*. 2003;46(6):400–7.
129. Orito E, Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Japan. *Intervirology*. 2003;46(6):408–12.
130. Sumi H, Yokosuka O, Seki N, Arai M, Imazeki F, Kurihara T, et al. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatol Baltim Md*. 2003 Jan;37(1):19–26.
131. Xu W, Yu J, Wong VW-S. Mechanism and prediction of HCC development in HBV infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017 Jun;31(3):291–8.
132. Garrido C, Brunet M, Didelot C, Zermati Y, Schmitt E, Kroemer G. Heat shock proteins 27 and 70: anti-apoptotic proteins with tumorigenic properties. *Cell Cycle*. 2006;5(22):2592–601.
133. Luk JM, Lam C, Siu AF, Lam BY, Ng IO, Hu M, et al. Proteomic profiling of hepatocellular carcinoma in Chinese cohort reveals heat-shock proteins (Hsp27, Hsp70, GRP78) up-regulation and their associated prognostic values. *Proteomics*. 2006;6(3):1049–57.
134. Chuma M, Sakamoto M, Yamazaki K, Ohta T, Ohki M, Asaka M, et al. Expression profiling in multistage hepatocarcinogenesis: identification of HSP70 as a molecular marker of early hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2003;37(1):198–207.
135. Huang H, Fujii H, Sankila A, Mahler-Araujo BM, Matsuda M, Cathomas G, et al. β -catenin mutations are frequent in human hepatocellular carcinomas associated with hepatitis C virus infection. *Am J Pathol*. 1999;155(6):1795–801.
136. Moorman AF, Vermeulen JL, Charles R, Lamers WH. Localization of ammonia-metabolizing enzymes in human liver: Ontogenesis of heterogeneity. *Hepatology*. 1989;9(3):367–72.
137. Evason KJ, Grenert JP, Ferrell LD, Kakar S. Atypical hepatocellular adenoma-like neoplasms with β -catenin activation show cytogenetic alterations similar to well-differentiated hepatocellular carcinomas. *Hum Pathol*. 2013;44(5):750–8.

138. Capurro M, Wanless IR, Sherman M, Deboer G, Shi W, Miyoshi E, et al. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2003;125(1):89–97.
139. Wang XY, Degos F, Dubois S, Tessitore S, Allegretta M, Guttman RD, et al. Glypican-3 expression in hepatocellular tumors: diagnostic value for preneoplastic lesions and hepatocellular carcinomas. *Hum Pathol*. 2006 Nov;37(11):1435–41.
140. Filmus J. Glypicans in growth control and cancer. *Glycobiology*. 2001 Mar;11(3):19R–23R.
141. Sung YK, Hwang SY, Park MK, Farooq M, Han IS, Bae HI, et al. Glypican-3 is overexpressed in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci*. 2003 Mar;94(3):259–62.
142. Gligorijević J, Djordjević B, Petrović A, Radirević A, Stojanović S. Expression of CD34 in cirrhotic liver--reliance to dedifferentiation. *Vojnosanit Pregl*. 2010 Jun;67(6):459–62.
143. Anfuso B, Korri E, Ie SI, Avellini C, Radillo O, Raseni A, et al. Activation of hepatic stem cells compartment during hepatocarcinogenesis in a HBsAg HBV-transgenic mouse model. *Sci Rep*. 2018;8(1):13168.
144. Lane B. Bond™ Ready-to-Use ISH EBER Probe. :40.
145. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2007 Jun;132(7):2557–76.
146. Moudi B, Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H. Impact of host gene polymorphisms on susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis*. 2016;44:94–105.
147. Tawada A, Kanda T, Yokosuka O. Current and future directions for treating hepatitis B virus infection. *World J Hepatol*. 2015;7(11):1541.
148. Ferrell LD, Crawford JM, Dhillon AP, Scheuer PJ, Nakanuma Y. Proposal for standardized criteria for the diagnosis of benign, borderline, and malignant hepatocellular lesions arising in chronic advanced liver disease. *Am J Surg Pathol*. 1993;17(11):1113–23.
149. Lu L-G. Antiviral therapy of liver cirrhosis related to hepatitis B virus infection. *J Clin Transl Hepatol*. 2014;2(3):197.
150. Di Tommaso L, Destro A, Seok JY, Balladore E, Terracciano L, Sangiovanni A, et al. The application of markers (HSP70 GPC3 and GS) in liver biopsies is useful for detection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2009;50(4):746–54.
151. Tremosini S, Forner A, Boix L, Vilana R, Bianchi L, Reig M, et al. Prospective validation of an immunohistochemical panel (glypican 3, heat shock protein 70 and glutamine synthetase) in liver biopsies for diagnosis of very early hepatocellular carcinoma. *Gut*. 2012;61(10):1481–7.

152. Lagana SM, Salomao M, Bao F, Moreira RK, Lefkowitz JH, Remotti HE. Utility of an immunohistochemical panel consisting of glypican-3, heat-shock protein-70, and glutamine synthetase in the distinction of low-grade hepatocellular carcinoma from hepatocellular adenoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2013;21(2):170–6.
153. Moudi B, Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H, Alavian S-M, Lankarani KB, Farrokh P, et al. Concomitant use of heat-shock protein 70, glutamine synthetase and glypican-3 is useful in diagnosis of HBV-related hepatocellular carcinoma with higher specificity and sensitivity. *Eur J Histochem EJH*. 2018 Jan 29;62(1):2859.
154. Zhou F, Shang W, Yu X, Tian J. Glypican-3: A promising biomarker for hepatocellular carcinoma diagnosis and treatment. *Med Res Rev*. 2018;38(2):741–67.