



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı

**HEPATOSELÜLER KARSİNOMADA COX-2 İFADESİ VE  
HASTALIĞIN KLİNİK ÖZELLİKLERİ İLE İLİŞKİSİ**

Tıbbi Onkoloji Uzmanlık Tezi

Dr. Yeşim YILDIRIM

ANKARA

2007



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı

**HEPATOSELÜLER KARSİNOMADA COX-2 İFADESİ VE  
HASTALIĞIN KLİNİK ÖZELLİKLERİ İLE İLİŞKİSİ**

Tıbbi Onkoloji Uzmanlık Tezi

Dr. Yeşim YILDIRIM

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Özgür Özyılkan

Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.(Proje no: KA05/63)

ANKARA

**TEŞEKKÜR**

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Rektörü sayın Prof. Dr. Mehmet Haberal başta olmak üzere, Başkent Üniversitesi Araştırma Kuruluna, Tıbbi Onkoloji yan dal eğitimim süresince her türlü konuda desteğini esirgemeyen ve bu süreçte uluslararası bir çok faaliyette bulunmama öncülük eden sayın hocam Prof. Dr. Özgür Özyılkan'a, özellikle bilgisayar ve istatistik konularındaki bilgilerini sabırla benimle paylaşan sayın hocam Doç. Dr. Zafer Akçalı'ya, patoloji çalışmalarında desteklerini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Banu Bilezikçi'ye teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yeşim Yıldırım

**ÖZET**

**Yeşim Yıldırım, Hepatoselüler Karsinomda COX-2 İfadesi ve Hastalığın Klinik Özellikleri ile İlişkisi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Uzmanlık Tezi, Ankara , 2007.**

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda siklooksijenaz-2 ( COX-2) enzim sisteminin aktivasyonunun hepatokarsinogenezde rolü olabileceği söylenmektedir. Ancak hepatoselüler karsinomda (HCC) COX-2 ifadesinin klinik önemi tam olarak belli değildir. Bu çalışmada hepatit B ve hepatit C virus ilişkili HCC'lu hastalarda ve etiolojisi bilinmeyen HCC'lu hastalarda COX-2 ifadesi ve COX-2 ekspresyonunu klinik anlamı incelendi. COX-2 ifadesi immünohistokimyasal olarak HCC'lu 31 hastanın ( 27 erkek ve 4 kadın, 48-75 yaş aralığında) karaciğer dokularında analiz edildi. Bu hastalardan 19'u hepatit B pozitif iken 6 hasta hepatit C pozitif ve 6 hastada tüm viral belirteçler negatifti ve etiolojik faktörler tespit edilmedi. Altı hasta lokal tedaviler alırken (transarteriel kemoembolizasyon ya da radyofrekans ablasyon) 13 hastaya transplantasyon uygulandı, 4 hastaya cerrahi rezeksiyon yapıldı. Yedi hastaya palyatif tedavi verildi. Sadece 1 hasta sistemik kemoterapi aldı. Viral belirteçleri pozitif ya da negatif olan tüm HCC örneklerinde COX-2 ifadesi saptandı. HCC etiolojisi ile COX-2 ifadesi arasında bir ilişki saptanmadı. COX-2 ifadesi ile lezyonların sayısı ya da tümörün derecesi arasında bir ilişki saptanmadı. COX-2 ifade derecesi <%5 olan hastalarda ortanca sağ kalım 32 aydı. COX-2 ifadesi >%5 olan hastalarda ortanca sağ kalıma ulaşamadı. COX-2 ifade derecesi ile sağ kalım arasında bir ilişki bulunmadı (p=.72). COX-2 sistemi hepatokarsinogenezde hastalığı başlatan faktörlerden bağımsız ortak bir bölüm olarak görülmektedir. COX-2 ifadesi hastaların sağ kalımı ile ilişkili görülmemekle birlikte bu sistemi hedefleyen tedavilerin HCC tedavisinde ve transplantasyon sonrası tekrarları önlemede makul bir yeri olabileceğini göstermektedir.

**ABSTRACT**

**Yeşim Yıldırım, COX-2 Expression in Hepatocellular Carcinoma and the Relation Between Clinical Features of the Disease, Baskent University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Lectern of Medical Oncology, Ankara , 2007.**

Recent studies suggest that cyclooxygenase-2 (COX-2) enzyme system activation may play a role in hepatocarcinogenesis. However, clinical significance of COX-2 expression in hepatocellular carcinoma (HCC) remains obscure. This study evaluated COX-2 expression in hepatitis B and hepatitis C virus related HCC and in HCC patients with an unknown etiology to discern the clinical significance of COX-2 expression in HCC. Liver tissue samples of 31 patients with HCC (27 men and 4 women; age range, 48-75 years) were analyzed for COX-2 expression by immunohistochemistry. Of these patients 19 were positive for hepatitis B virus, 6 were positive for hepatitis C virus and 6 patients were negative for all viral markers and other etiologic factors. Six patients received local treatments (transarterial chemoembolisation or radiofrequency ablation), 13 patients underwent transplantation and 4 patients underwent surgical excision. Seven patients were given palliative care. Only one patient received systemic chemotherapy. COX-2 expression was shown in all HCC samples with positive or negative viral markers. No difference was found between COX-2 expression and the etiology of HCC. Median survival of patients with COX-2 expression less than 5% was 32 months. The median survival of patients with COX-2 expression 5% or more was not analyzed. No difference was found between degrees of COX-2 expression survival ( $p=.72$ ). COX-2 system seems to be common part in hepatocarcinogenesis regardless of the factors that initiate the disease. Although COX-2 expression appears to be independent of patient's survival, treatments that target this system appear to be feasible in the management of HCC and prevention of recurrences after transplantation.

## İçindekiler dizini

Özet .....	iv
İngilizce Özet .....	v
İçindekiler Dizini .....	vi
Kısaltmalar ve Simgeler Dizini .....	vii
Şekiller Dizini .....	viii
Tablolar Dizini .....	viii
1. Giriş.....	10
2. Genel Bilgiler .....	11
2.1. Etiyolojik Faktörler .....	11
2.1.1. Hepatokarsinogenez .....	14
2.1.1.1. Hepatokarsinogenezde moleküler yollar .....	15
2.1.1.2. HBV'nin neden olduğu hepatokarsinogenez .....	16
2.1.1.3. HCV'nin neden olduğu hepatokarsinogenez .....	16
2.1.1.4. HBV ve HCVnin başlattığı hepatokarsinogenezde ortak noktalar .	17
2.1.2. Siklooksijenaz enzim sistemi .....	19
2.1.2.1 HBV ve COX ilişkisi .....	21
2.1.2.2 HCV ve COX ilişkisi .....	21
2.1.2.3 HCC ve COX ilişkisi .....	22
2.2. HCC Tanısı .....	24
2.2.1. Evreleme .....	26
2.2.2. Prognoz .....	26
2.3. HCC Tedavisi .....	27
2.3.1. Cerrahi girişimler .....	27
2.3.2. Lokal ve ablatif tedaviler .....	30
2.3.3. Sistemik kemoterapi .....	31
3. Gereç ve Yöntem .....	32
4. Bulgular .....	38
5. Tartışma .....	48
6. Sonuç ve Öneriler.....	52
7. Kaynaklar .....	53

**Kısaltmalar ve simgeler dizini**

HCC: Hepatoselüler karsinom

COX: Siklooksijenaz

HBV: Hepatit B Virüsü

HCV: Hepatit C Virüsü

TGF: Tranforme edici büyüme faktör

LDL: Düşük dansite lipoprotein

VRT: Viral revers transkriptaz

RNA: Ribonukleik asit

ER: Endoplasmik retikulum

PPAR: Peroksizom proliferasyon aktive reseptörleri

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

MMP: Matriks metalloproteinaz

USG: Ultrason

BT: Bilgisayarlı tomografi

AFP: Alfa fetoprotein

DCP: des-karboksi protrombin

TACE: Transarteriel kemoembolizasyon

PAE: Perkütan alkol enjeksiyonu

RF: Radyofrekans ablasyon

NSAI: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar

## Şekiller Dizini

Şekil 1: HBV ve HCV ilişkili HCC oluşum mekanizmaları .....	18
Şekil 2: Siklooksijenaz sistemi .....	20
Şekil 3: HCV ve COX ilişkisi .....	22
Şekil 4: Derece 2 COX-2 boyanması .....	34
Şekil 5: Derece 3 COX-2 boyanması .....	35
Şekil 6: Derece 4 COX-2 boyanması .....	36
Şekil 7: Hastaların genel sağ kalım grafiği .....	41
Şekil 8: Hepatit belirteçlerine göre sağ kalım grafiği .....	42
Şekil 9: COX-2 ifade derecesine göre sağ kalım grafiği .....	43
Şekil 10: Lezyonların durumuna göre sağ kalım grafiği .....	44
Şekil 11: Tümörün farklılaşma derecesine göre sağ kalım grafiği .....	45
Şekil 12: Tedaviye göre sağ kalım grafiği .....	46
Şekil 13: Evreye göre sağ kalım grafiği .....	47



**Tablolar dizini**

Tablo 1: HCC'a neden olan faktörler .....	12
Tablo 2: HCC gelişiminde Hepatit B enfeksiyonunun rolü (vaka kontrollü çalışmalar) .....	13
Tablo 3: HCC gelişiminde ortak genetik değişiklikler .....	18
Tablo 4: HCC evrelemesi .....	26
Tablo 5: Hastaların özellikleri .....	37
Tablo 6: COX-2 ifade derecesi .....	38
Tablo 7: COX-2 ifade derecesi ile lezyonların ilişkisi .....	39
Tablo 8: COX-2 ifade derecesi ile hepatit belirteçlerinin ilişkisi .....	39
Tablo 9: COX-2 ifade derecesi ile evrenin ilişkisi .....	39

## 1. GİRİŞ:

Hepatoselüler karsinom (HCC) kansere bağlı ölümler içinde ilk sıralarda yer almaktadır. Toplam sağ kalımı oldukça kötü olan bu kanserde henüz çok etkili sistemik tedavi yöntemleri yoktur. Cerrahi yaklaşımlar günümüzde en uygun tedavi seçeneği olmasına rağmen çoğu hasta cerrahiye uygun bulunmamaktadır. Aynı zamanda cerrahi sonrası yüksek oranda nüks ihtimali vardır. Nüksü önlemede cerrahi öncesi kemoembolizasyonun ya da neoadjuvan tedavilerin yararı gösterilememiştir. Karaciğer nakli sınırlı hastalıkta başarılı bir yöntem olmasına rağmen uygun hasta ve verici bulunamaması uygulanma şansını kısıtlamaktadır. Ancak gün geçtikçe transplantasyon tekniklerin geliştirilmesi ile daha çok hastaya uygulanır olmuştur.

HCC'un kötü prognoz ve artan hastalık sıklığı göz önüne alındığında, yeni tedavi edici ya da önleyici hedef moleküllerin geliştirilme ihtiyacı ortaya çıkmaktadır. Bu amaçla son yıllarda özellikle kolon kanserinde önleyici özelliği kanıtlanan siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörlerinin HCC da kullanılabilirliği gündeme gelmiştir. HCC patogenezi tam olarak aydınlatılamamasına rağmen son yıllarda yapılan çalışmalarda hepatokarsinogenezde, tümör büyümesi ve yeni damar oluşumu safhalarında COX-2 nin rolü olabileceği söylenmektedir. HCC çok farklı etkenler etkisinde gelişebilmekte ancak sıklıkla hepatit B virüs (HBV) ve hepatit C virüs (HCV) enfeksiyonlarına bağlı kronik karaciğer hastalığı zemininde geliştiği bilinmektedir. Daha az sıklıkla kriptogenik siroz zemininde HCC gelişmektedir. Belirli bir etiolojik faktör tespit edilemeyen bu vakalarda hepatokarsinogenez sürecinin nasıl olduğu bilinmemektedir. Ancak nedenler birbirinden çok farklı da olsa aynı klinik sonuç ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada, HBV, HCV enfeksiyonu zemininde gelişen HCC vakalarında karsinogenez sürecinde rolü olabileceği öne sürülen COX-2 enzim sisteminin

aktivasyonundaki farklılıklar incelendi. Bu çalışmada kriptojenik HCC vakalarında da COX-2 ifadesi incelenerek viral hepatit zeminde gelişen HCC ile arasında fark olup olmadığı araştırıldı. COX-2 yaygınlığı ile tümörün özellikleri karşılaştırılarak hastalık sağ kalımı arasında ilişki olup olmadığını belirlemek amaçlandı.

## **2. GENEL BİLGİLER**

Hepatoselüler karsinom dünya çapında görülen en sık 5. kanserdir. Özellikle Uzak Doğu ve Sahra altında kalan Afrika ülkelerinde kansere bağlı ölümlerde ilk sıralarda yer almaktadır (1). ABD ve Batı Avrupa'da daha nadir olup görülme sıklığı yaklaşık olarak yılda 3-14/100.000'dir (1). Hastalık erkeklerde daha sık görülmektedir. Uzak Doğu ve Asya ülkelerinde erkek/kadın oranı 5/1 iken ABD'de bu oran 2/1 dir (1).

### **2.1. ETİOLOJİK FAKTÖRLER**

HCC'a neden olan faktörler 4 grupta incelenebilir; Çevresel etkenler, siroza neden olan hastalıklar, hepatit B ve C enfeksiyonları ve metabolik hastalıklar (2) (Tablo 1).

Kimyasal maddeler içinde her yerde yaygın olarak bulunan doğal kimyasal karsinojen *Aspergillus* mantarının ürettiği aflatoxin B1 dir. *Aspergillus Flavus* küfü ve aflatoxin özellikle nemli iklimleri olan bölgelerde uygun olmayan şartlarda saklanan özellikle pirinç gibi tahıllarda bulunabilir. Dünyanın pek çok bölgesinde doğal olarak bulunan pyrolizidin alkaloidleri, tannik asit, safrol gibi ürünler muhtemel karsinojenlerdir (2). Endüstride kullanılan bir çok madde, böcek zehirleri farelerde hepatokarsinojen olarak tanımlanmıştır. Pek çok yayında anabolik steroidlerin hepatokarsinogenezde rolü olduğu gösterilmiştir (2).

**Tablo 1:** HCC' a neden olan faktörler

---

*1.Çevresel etkenler*

Aflatoksin  
 Androjenik steroidler  
 Pyrolizidin alkaloidleri  
 Throrotrast  
 Sigara

*2. Siroza neden olan durumlar*

Alkol  
 Otoimmün hepatit  
 Primer bilier siroz  
 Kriptojenik siroz  
 Hemakromatoz

*3.Hepatit B ve Hepatit C virüs enfeksiyonları**4. Metabolik hastalıklar*

Alfa-1 antitripsin eksikliği  
 Wilson  
 Porfiriya kutenus tarda  
 Glikojen depo hastalıkları  
 Sitrulinemi  
 Orotik asidüri  
 Tirozinemi

---

HCC'un %60-80 oranında mevcut sirozla ilişkili olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Güneydoğu Asya'da daha çok makronoduler sirozla ilişkili iken Avrupa'da ve ABD de mikronoduler sirozla ilişkili bulunmuştur (3). Aslında sirozun kendisinin mi yoksa siroza yol açan faktörlerin mi karsinogenetik faktör olduğu tam olarak belli değildir. Artmış HCC gelişim riskine neden olan faktörler arasında hepatitle ilişkili siroz, alkolle ilişkili siroz, otoimmün kronik aktif hepatit, kriptojenik siroz ve diğer virüs ilişkili sirozlar sayılabilir (Tablo 1). Hemakromatoz, Wilson Hastalığı, alfa-1 antitripsin eksikliği, tirozinemi, porfiriya kutenous tarda, glikojen depo hastalığı-1 ve 3, sitrulinemi ve orotik asidüri HCC oluşumuna yol açabilecek metabolik hastalıklardır.

Kronik hepatit B virus taşıyıcılarında HCC gelişim sıklığının belirgin olarak arttığı gerek vaka kontrol çalışmalarında gerekse kohort çalışmalarında gösterilmiştir (Tablo 2) (4).

Beasley ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada HbsAg pozitifliği olan Tayvanlı erkeklerde yıllık HCC gelişim sıklığı 495/100000 olarak bulunmuştur (4). Bu hastalarda HbsAg negatif kişilere oranla 98 kat artmış risk söz konusudur. Ülkemizde de HCC sıklıkla viral hepatitlere bağlı olarak gelişmektedir (5). Amerikan Kızıl Haç Merkezinde kan bağışında bulunan tamamen asemptomatik HbsAg pozitif kişilerde HbsAg negatif olanlara göre karaciğer kanseri gelişme riski 12.7 kat yüksek olarak tespit edilmiştir (4). HBsAg pozitifliği olan yüksek riskli grup ise, ailesinde karaciğer kanseri bulunanlar, sirozu olanlar ve 45 yaş ve üstü kişiler olarak tanımlanmıştır (6). Japonya'da ise stabil kronik hepatit B taşıyıcılığına rağmen HCC sıklığının zamanla artış gösterdiği gözlenmiştir (7). Bu artışın daha önce tanımlanmamış olan HCV enfeksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Avrupa'da yapılan serolojik ve moleküler testlere dayalı geniş ölçekli bir HCC analizinde HBV ve HCV enfeksiyonlarının etkileri belirgin olarak gösterilmiş olup hastaların sadece %29'unda viral testler negatif bulunmuştur (8). HBsAg ve anti-HCV antikor pozitifliği oranı sırasıyla %19 ve %40,1 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada en sık rastlanan alt grubun HCV 1b genotipi olduğu gözlenmiştir.

**Tablo 2:** HCC gelişiminde Hepatit B enfeksiyonunun rolü (vaka kontrollü çalışmalar)

	Hasta sayısı		HbsAg (+)		Odds oranı (%95 CI)
	HCC	Kontrol	HCC(%)	Kontrol (%)	
<b>Yüksek riskli bölgeler</b>					
Senegal	165	328	61.2	11.3	12.4 (7.7-19.3)
Güney Afrika	289	213	61.6	11.3	12.6 (7.7-20.1)
Hong Kong	107	107	82	22	21.3 (10.1-45.9)
Çin	50	50	86	22	17 (4.3-99.4)
Filipinler	104	84	70	18	10.83 (5.3-20.9)
<b>Orta riskli bölgeler</b>					
Yunanistan	194	451	45.9	7.3	10.7 (6.8-16.6)
<b>Düşük riskli bölgeler</b>					
ABD	86	161	17.9	0.0	(10-100)

### 2.1.1. Hepatokarsinogenez

Bir çok kanser çeşidinde olduğu gibi hepatokarsinogenez de farklı genetik değişiklikler sonucu hepatositlerin malign dönüşümüyle sonuçlanan çok basamaklı bir süreçtir. HCC gelişim sürecinin incelendiği deneysel hayvan çalışmalarında öncül ve preneoplastik lezyonlarda daha az olmakla birlikte HCC'da çeşitli genomik ve moleküler değişiklikler tanımlanmıştır (9). Ancak özellikle kolorektal kanser ya da bazı hematolojik kanserlerde oldukça belirgin olarak tanımlanan karsinogenez süreci HCC da henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Özellikle değişik etiolojik faktörlerin hepatokarsinogenez sürecinde birbirleri ile olan ilişkileri ve tanıda, prognozun iyileştirilmesinde ve tedavide önemli olabilecek genomik ve moleküler sapmalar açığa kavuşturulmamıştır (10). Oksidatif DNA hasarı, inflamasyona bağlı kronik karaciğer hasarının ve yenilenme sürecinde artmış karaciğer hücre dönüşümünün malign süreci başlattığı düşünülmektedir (10) (Şekil 1). HCC ların %70- 90'ı sirotik karaciğer zeminde gelişmektedir. Bununla birlikte siroza neden olan altta yatan etiolojik faktörün süresi ya da beraberinde bulunabilen aşıkâr ya da gizli HCV ve HBV enfeksiyonları, hepatosteatoz, alkol kullanımı ya da aflatoxin B1 maruziyeti HCC gelişim riskini belirgin olarak arttırmaktadır.

Displastik nodüller ve makrorejeneratif nodüller premalign olarak kabul edilmektedir (11,12). Yapılan çalışmalarda sirotik nodüllerden doğrudan HCC gelişiminin gösterilmiş olması, %50-60 oranında sirotik nodüllerin monoklonal kaynaklı olması ve bu nodüllerin hemen hemen yarısında ve küçük hücre displazilerinde kromozomal sapmaların ve allelik kayıpların gösterilmesi bu hipotezi destekler niteliktedir (11,12). HCC'ların %10'undan azının sirotik olmayan ve inflamatuvar lezyonların da olmadığı karaciğerde görüldüğü bilinmektedir (13). Bu vakaların bir kısmını, oral kontraseptif kullanan genç kadınlarda gözlenen malign dönüşüm gösteren karaciğer adenomları oluşturmaktadır.

### 2.1.1.1. Hepatogenezde Moleküler Yollar

HCC'da etkilendiği düşünölen hücre çoğalmasını ya da ölümünü düzenleyen en az 4 moleküler yol vardır; fosforetinoblastoma (pRb), p53, transforming growth faktör- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), ve  $\beta$ -catenin (14-16). Kendiliğinden ya da kimyasal olarak uyarılmış kemirgen hepatokarsinogenez modellerinde %10-20 oranında siklin-D amplifikasyonu ve ras onkogen ailesi aktivitesi bulunmuş olsa da, insan HCC' larında günümüze kadar tutarlı bir proto-onkogen kalıbı ortaya çıkarılamamıştır (17). HCC gelişiminde %50 oranında  $\beta$ -catenin gen mutasyonları ve/veya Wnt iletim yollarındaki değişikliklerin rol aldığı görölmektedir (14). Wnt/Frizzled/ $\beta$ -catenin yolu LDL reseptör protein ve ko-reseptörleri ile ilişkilidir ve büyüme kontrolü, hücre adezyonu ve hücre çoğalmasında rol alır. Hücre içi  $\beta$ -catenin düzeyi kolon adenomatoz poliposis aktivitesi , Axin1 proteini ve glikojen sentez kinaz-3 $\beta$  ile düzenlenir. Yapılan bir çalışmada HCC da Frizzled tip 7 reseptör (Fzd7) %90 oranında aşırı eksprese olurken prekanseröz/ peritümöral karaciğer dokusunda bu oran %75 olarak bulunmuştur (18).

Bir çok çalışmada hepatokarsinogenezde TGF- $\beta$  ve TGF- $\alpha$ , hepatosit büyüme faktörü, insulin benzeri büyüme faktörü-II ve bu faktörlerin sinyal iletim yollarının aktive olduğu gösterilmiştir (10,14). HCC'da sıklıkla 1, 2q, 4, 5q, 6q, 8, 9, 10q, 11p, 13q, 14q, 17 ve 22 kromozomlarında tümör supresör genleri barındırdığı düşünölen alellik kayıplar tespit edilmiştir (14). Genetik ve epigenetik değişikliklerden dolayı pRb tümör supresör yolu HCC ların %50sinde değişmiştir (14). Güney Afrika ve Çin'de HCC lu hastaların %50-70 nde p53 geninde nokta mutasyon tespit edilmiş olup bunun aflatoksin B1 ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (19). pRb ve p53 yolakları genomik dengesizliğe yol açarak malign dönüşüme zemin hazırlarlar. HCC'ların bir grubunda ise hatalı DNA uyumsuzluk tamirleri ve mikrosatelit değişkenlikleri yer alır (20).

### 2.1.1.2. HBV 'nin neden olduğu hepatokarsinogenez

HBV Hepadnaviridea ailesine bağlı 3.2kB bir DNA virüsüdür. Kor, yüzey, X, polimeraz genlerini barındıran birbiri içine geçmiş bölgelerden oluşur. DNA virüsü olmasına rağmen RNA üzerinden çoğalır bu nedenle viral revers transkriptaz (VRT) polimeraz enzimine ihtiyaç duyar. Olgun viron (Dane partikülü) hücre yüzeyine yapışarak viral genomu çekirdek içine iletir. Çekirdek içerisinde viral DNA kapalı sirküler kovalent (cccDNA) hale gelerek virus kopyalanması için kalıp oluşturur. Bu kalıptan subgenomik ve pregenomik RNA molekülleri kopyalanır ve bu moleküller VRT ve viral kor, polimeraz, yüzey ve X proteinleri için mRNA kalıbı oluşturur. Bu proteinler endoplazmik retikulumda birleşir.

Genel olarak HBV'nin enfekte hepatositler üzerinde doğrudan onkojenik etkisi olmadığı düşünölmektedir. Malign dönüşüm sıklıkla sirozu takiben uzun dönem kronik karaciğer hastalığı sonucu olmaktadır. Karaciğerdeki kronik inflamasyon süreci, hücre ölümü ve sonucunda hücre çoğalması, genetik değişikliklere neden olarak kanser gelişim riskini arttırabilir ( 21). Bu bağlamda uzun dönem bir çok viral proteinin, sıklıkla protein X ve geniş zarf protein ifadesi, tümörogeneze katkıda bulunabilir (22). X proteini transkripsiyonel transaktivatör olarak davranır ve HBV promotorlarından, farklı hücresel genlerden, onkogenlerden, sitokinlerden ve büyüme faktörlerinden kopyalamayı aktive eder (23). Akut/kronik viral enfeksiyonunda X proteinin rolü bilinmemekle birlikte, hücre dönüşümünde gerekli olduğu ve p53, DDB1, crm1 ve proteosomal alt birimlerini etkilediği bilinmektedir (24).

### 2.1.1.3. HCV' nin neden olduğu hepatokarsinogenez

HCV Flaviviridae ailesinden zarflı, 9.6kB, tek iplikli RNA virüsüdür. Yapısal (çekirdek, zarf 1,2) ve yapısal olmayan (NS<sub>1</sub>, NS<sub>3</sub>, NS<sub>4</sub>, NS<sub>5</sub>) bölümleri içeren yaklaşık 3000 aminoasitlik öncü poliproteini kodlar. Yapısal olmayan proteinler viral replikaz kompleksini oluşturur. RNA-bağımlı RNA polimeraz enziminin değişkenliği nedeniyle genetik



heterojenite gösterir (24). HCV çekirdeği viral RNAya bağlanarak HCV RNA kopyalanmasını düzenler (10). Bunun yanı sıra çekirdek gen ürününün hücre sinyal iletimi, kopyalamanın aktivasyonu, apoptoz, lipid metabolizması ve dönüşümünde rol aldığı öne sürülmektedir. Yapısal sonuçları henüz tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen HCV çekirdeği p53, p73, pRb ve tümör supresör genlere bağlanır (25-26). HCV çekirdek proteini siklin bağımlı kinaz inhibitörü p21/Waf ekspresyonunu düzenler (27). p21/Waf, p53 kopyalanma hedefi olup, hücre siklus kontrolünü ve tümör oluşumunda yer alan siklin/siklin bağımlı kinaz kompleksini düzenler. HCV'nin endoplazmik retikulum (ER) stresi oluşturabildiği gösterilmiştir (28). ER stresi hücre metabolizmayı ve protein sentezini düzenler. Uzamış ER stresi, ER ilişkili kaspazları aktive ederek apoptoza yöneltir (29). ER stres sinyalleri hücre içi redoks durumunun değişmesiyle ilişkilidir. Kronik HCV enfeksiyonunda oksidatif stres belirteçlerinin arttığı tespit edilmiştir (30). HCV NS<sub>5A</sub> ifadesi oksidatif stresi ve STAT-3 ve NF-kB oluşumunu aktive eder (31).

#### *2.1.1.4. HBV ve HCV nin Başlattığı Hepatokarsinogenezde Ortak Noktalar*

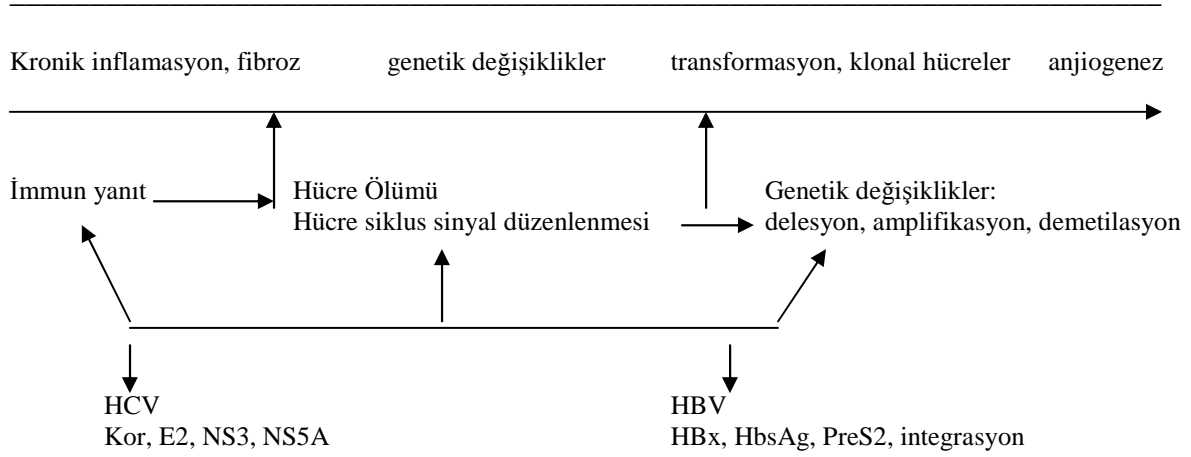
HBV ve HCV de belirgin yapısal ve viral siklus farklılıkları olmasına rağmen aynı klinik sonuçlar gözlenmektedir. Her iki virüsün meydana getirdiği ortak genetik değişiklikler Tablo 3 de özetlenmiştir (32). HCC'da sıklıkla ortak olarak p53, Wnt, RB1 yollarında değişiklikler gözlenmektedir. HBV hücresel dönüşümünde viral integrasyon esas kısımdır, HCV de viral integrasyon yoktur ancak viral proteinler özellikle HBx ve HCV'nde çekirdek kısmı hepatokarsinogenezde doğrudan rol alabilir (24). Sonuç olarak hepatogenezde, kronik inflamasyon, hücre ölümü ve çoğalması, oksidatif stres sonucu bir çok büyüme faktörünün ve sitokininin regülasyonu temel rol oynar (Şekil 1)

**Tablo 3:** Ortak genetik değişiklikler

---

P53 geninin 249.cu kodonunda da G-T transversiyonu
P53 mutasyonu
8p ve 17 p heterozigosite kaybı (LOH)
$\beta$ -katenin mutasyonu
p16 ink4a ifade kaybı
E-cadherin promotör metilasyonu
Azalmış p27 ifadesi

---

**Şekil 1:** HBV ve HCV ile ilişkili HCC oluşum mekanizmaları

HCC'ye neden olan diğer faktörler arasında aflatoksin ve alkol yer almaktadır. Aflatoksin ile ilişkili HCC gelişiminde bilinen genetik değişiklik p53 de meydana gelen G→T mutasyonudur. Alkolle ilişkili kronik karaciğer hastalığı zemininde gelişen HCC vakalarında da p53 mutasyonlarına ve sıklıkla RB1 yolunda değişikliklere rastlanmaktadır (32).

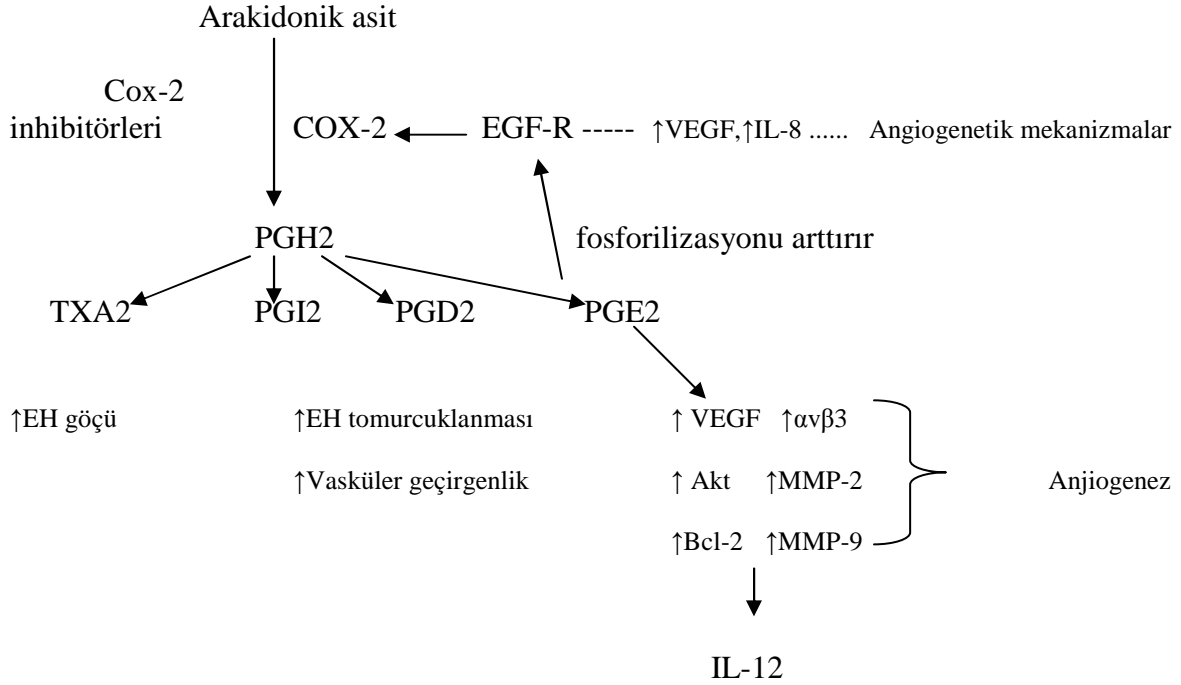
Sonuç olarak, HCC genetik olarak oldukça heterojen bir tümördür. Hepatokarsinogenez tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte temel olarak iki mekanizmanın sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. İlkinde genetik değişiklikler birikerek kromozomal kararsızlığa yol açarlar. İkinci mekanizma,  $\beta$ -catenin mutasyonlarının neden olduğu Wnt yolunun aktivasyonudur (10). Etiolojik faktörlerle bu genetik değişiklikler ilişkili bulunmuştur. Örneğin HBV enfeksiyonu varlığında sıklıkla kromozomal kararsızlığa birlikte

Axin1, p53 mutasyonların olduğu, HBV negatifliğinde ise ikinci mekanizmanın ön planda olduğu söylenmektedir (10).

### **2.1.2. Siklooksijenaz-2 Enzimi Sistemi**

Siklooksijenaz (COX) 68 kilodalton ağırlığında hücre zarına bağılı bir enzim olup bilinen 2 isoformu arakidonik asitin prostaglandin (PG) G<sub>2</sub> ve sonrasında PGH<sub>2</sub> oksidasyonundan sorumludur (33) (Şekil 2). Yapı olarak oldukça benzer olmalarına rağmen COX-1 ve COX-2 enzimleri farklı kromozomlarda bulunan farklı genler ile kodlanır (34). COX-1 enzimini kodlayan gen 9. kromozomda bulunurken COX-2 geni 1. kromozomdadır (35). COX-1, bir çok normal dokuda eksprese edilir ve hemostaz, renal venlerde vazodilatasyon, gastrik mukozanın korunması, trombosit agregasyonu gibi bir çok homostatik vücut fonksiyonunda rol alır (36,37). COX-2 uyarılabilir bir enzim olup aynı zamanda PGH sentataz olarak da bilinir. COX-2 ifadesi büyüme faktörleri ve sitokinler gibi inflamatuvar ve mitojenik etkilerle uyarılır (38). COX-2 inflamatuvar barsak hastalıkları gibi kronik inflamatuvar patolojilerde yer alır (36). Aynı zamanda ovulasyon, implantasyon, ülser iyileşmesi, inflamasyonun gerilemesi, perinatal böbrek gelişimi gibi bazı fizyolojik süreçlerde de yer alır (37).

Şekil 2: COX-2 enzim sistemi



Üretilen PG ler öncelikle kolaylaştırılmış transport ile hücre dışı boşluğa salınır. Yarı ömürleri çok kısa olması nedeniyle PG ler otokrin ve parakrin tarzda, yakın çevre dokuda etki gösterirler. PGE<sub>2</sub> epitelyal malignitelerin çoğunda tespit edilebilen en bol bulunan PG'dir (38). PGE<sub>2</sub> hücre çoğalmasını ve motilitesini artırır ve damar yapımını uyarır (39,40). PGE<sub>2</sub> etkilerini hücre zarında bulunan, G-proteinle eşleşmiş reseptör ailesinden EP reseptörler (EP1, EP2, EP3, EP4) aracılığı ile gerçekleştirir. Bu reseptörlere ek olarak hücre içi sinyal iletiminde arakidonik asit metabolitlerinin de rolü olduğuna dair kanıtlar vardır. Örneğin eikosanoitlerinin farklı bir nükleer protein grubu olan peroksizom proliferasyon aktive reseptörlerini (PPAR) kullanarak hücre fonksiyonlarını düzenlediği bilinmektedir (41). COX yolunda bir metabolit olan 15d-PGJ<sub>2</sub>, PPAR-γ için bir liganttır.

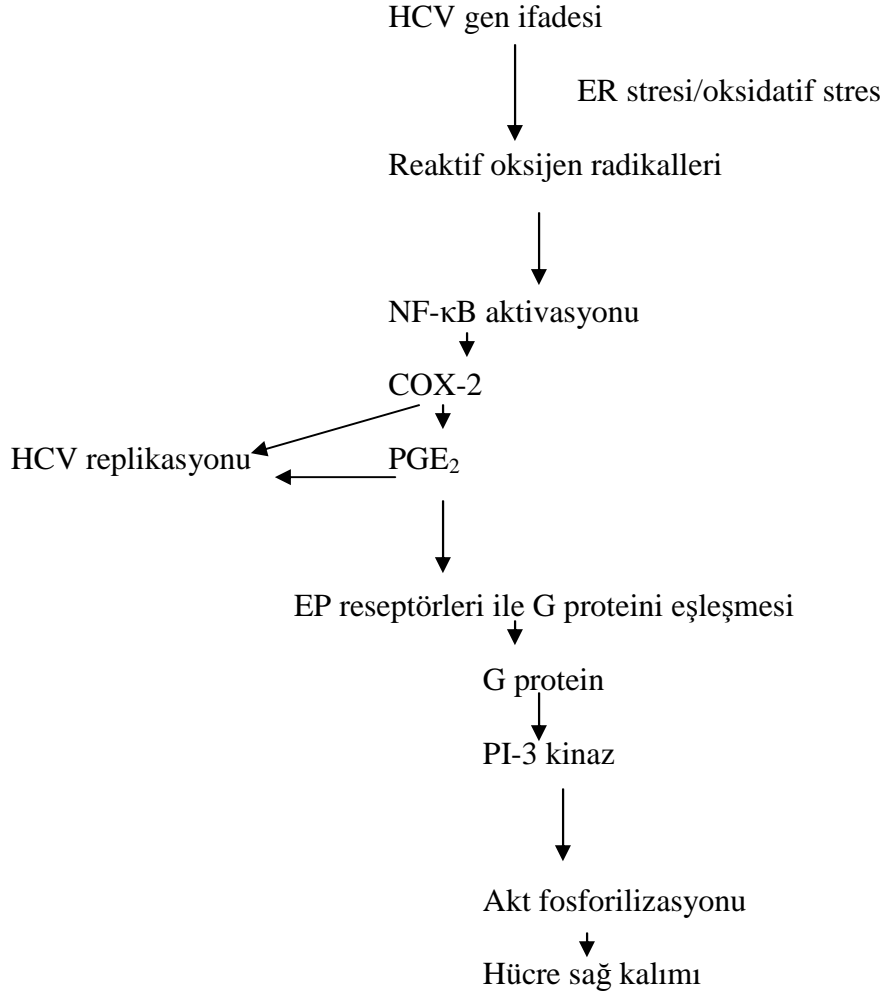
### *2.1.2.1. HBV ve COX İlişkisi*

Cheng ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada HBV ve COX-2 ilişkisi incelenmiştir (42). Kronik hepatit B biyopsi örneklerinde yapılan immunohistokimyasal incelemede transkripsiyon aktivatörü olarak viral replikasyonda ve hepatokarsinogenezde rol aldığı bilinen HBx ve COX-2'nin birlikte ifadesi gözlenmiştir. Aynı zamanda HBx ve COX-2'nin karaciğer parankim hücrelerinde yakın yerleşimi immunhistokimyasal boyanma ile tespit edilmiştir. Bu iki proteinin ifadesinin antiviral tedaviye cevap veren hastaların karaciğer örneklerinde sebat ettiği gözlenmiştir. Bu bulgular bir araya getirildiğinde HBx'in COX-2 genini indüklediği düşünülmektedir.

### *2.1.2.2. HCV ve COX İlişkisi*

HCV gen ifadesi ile oksidatif stres oluşmaktadır. Meydana gelen bu stres sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen radikallerinin hücre ölümüne neden olan kaskadı aktive ettiği düşünülmektedir (Şekil 3) (43). Bu kaskatda yer alan transkripsiyon faktörü NF- $\kappa$ B üzerinde COX-2 çoğaltıcı bağlayan bölgeler bulunur. NF- $\kappa$ B bir çok hücrel ve viral gen ekspresyonunu düzenleyerek inflamasyonda rol alır ve immün yanıtı başlatır. Aynı zamanda karsinogenezde ve hücre döngüsünde yer aldığı bilinmektedir (44).

Şekil 3: HCV ve COX ilişkisi



### 2.1.2.3. HCC ve COX-2 İfadesi

COX-2'nin artmış ifadesi karsinogenezin sıklıkla rastlanılan bir bulgusudur (38). Normal insan epitelinde baskılanmış olan COX-2'nin özellikle kolon, akciğer, meme, mide, pankreas, baş-boyun kanserlerinde artmış ifadesi gösterilmiştir (34,45). COX-2 nin hepatokarsinogenezin tüm basamaklarında rolü olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir (38). Yakın zamanda yapılan birkaç çalışmada histolojik olarak normal karaciğerli dokularla karşılaştırıldığında HCC'da COX-2 aşırı ifadesi gözlenmiştir (46,47). Displastik

hepatositlerde ve iyi diferansiye HCC'larda COX-2 ifadesi, kötü diferansiye HCC'lere göre artmış bulunmuştur (46-49). Bu bulgular hepatokarsinogenezin erken dönemlerinde COX-2'nin rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Bununla birlikte HCC'da COX-2 ifadesinin karsinogenezle ilişkili p-Akt, VEGF, iNOS gibi bir çok anahtar molekülle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Leng ve ark. yaptığı çalışmada COX-2 ifadesinin fosforile Akt ile pozitif korelasyon gösterdiği gözlenmiş olup, Akt'nin COX-2 aracılıklı karsinogenezde rolü olabileceğini düşündürmektedir (50). Başka bir çalışmada artmış COX-2 düzeylerinin artmış VEGF ve mikrovasküler dansite ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Kültürdeki HCC hücrelerinde COX-2 aşırı ifadesi ya da PGE2 ile muamele sonucunda VEGF üretiminde artış gözlenmiş olup bu artışın COX-2 inhibisyonu ile baskılandığı tespit edilmiştir (37). Bu bulgular COX-2'nin hepatokarsinogenezi tetikleyici bir rolünün de anjiogenez mekanizması üzerinden olabileceğini düşündürmektedir (37,51). İleri evre HCC'da VEGF uyarılması ve artmış damarlanmanın olmasına rağmen, COX-2 ifadesinin olmaması çelişki oluşturmaktadır.

HCC'da ve hepatositlerde bir çok inflamatuvar sitokin ve lipopolisakkaridin CCAAT/çoğaltıcı-bağlayıcı protein (C/EBP)- $\alpha$  üzerinden COX-2 ekspresyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir (52). HBV x proteini nükleer faktör aktif T hücresi (NF-AT) bağımlı COX-2 gen promotör transkripsiyon aktivasyonu ile COX-2 ekspresyonunu arttırmaktadır (53). HCC'da COX-2 ifadesinin APC ile azaldığı, nükleer  $\beta$ -catenin birikimi ile arttığı gözlemlenmiştir (54).

COX-2 nin kronik karaciğer hastalığı olmayan normal karaciğer dokusunda eksprese edilememesi, COX-2 den türemiş kronik inflamasyonun etkili araçları olan PG'lerin hepatik inflamasyonun patogenezinde, fibrinogenezde ve karsinogenezde rolleri olabileceğini düşündürmektedir (55). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada yüksek düzeyde COX-2 eksprese eden HCC hücre kültüründe artmış oranda matriks metalloproteinaz (MMP)-2 ve

MMP-9 salgılanımı ve hücre migrasyonu gözlenmiştir (56). Bununla birlikte ortama AA ya da PGE<sub>2</sub> eklenmesinin HCC hücre göçünü daha da arttırmakta olduğu ve bu etkinin seçici COX-2 inhibitörleri ile engellenebildiği tespit edilmiştir.

HCC da hücre büyümesi ve invazyon aşamalarında seçici COX-2 inhibitörlerinin etkileri in-vitro olarak incelenmiştir. HCC hücre kültürlerine celecoxib, NS-398 ve nimesulid gibi seçici COX-2 inhibitörleri eklendiğinde belirgin olarak apoptosisin indüklendiği morfolojik olarak hücre ölümünün görülmesiyle ve caspase-9 ve caspase-3 aktivasyonunun tespiti ile belirlenmektedir (57,58). Hücre kültürlerinin celecoxib ile tedavisi sonucu apoptosisin uyarılmasının fosforile Akt düzeyinin azalması ile birlikte olduğu ancak Bcl-2 den bağımsız olduğu gözlenmiştir (50,59).

Virüslere bağlı HCC vakalarında ya da in vitro HCC hücre kültürlerinde yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda değişik yönlerden COX-2 enzim sistemi incelemiş olmasına rağmen, literatürde kapsamlı olarak kriptojenik siroz zemininde gelişen HCC karsinogenez mekanizmasını ve COX-2 sistemi ile ilişkisini inceleyen çalışma henüz yoktur.

## **2.2. HEPATOSELÜLER KARSİNOM TANISI**

HCC'lu hastalarda en sık rastlanan şikayetler karın ağrısı, kilo kaybı, karın şişkinliği, zayıflama, sarılık ve kusmadır. Özellikle yüksek riskli bölgelerde en sık semptomun karın ağrısı olduğu bildirilmiştir (1). Karın şişliği altta yatan kronik karaciğer hastalığı zemininde gelişen asite bağlı olabileceği gibi tümörün hızlı gelişimi neticesinde de olabilmektedir. Nadiren nekroz ya da peritona akut kanama nedeniyle ani ölüm gerçekleşebilir. Kilo kaybı bir çok Asyalı ve Avrupalı hastada sık rastlanılan bir şikayet iken, Japonlarda %5 den az hastada görülür, bunun nedeni Japonya'da sıkı bir tarama programı olması nedeniyle hepatoma hastalarına daha erken evrelerde rastlanması olabilir denilmektedir (1). Sirozlu hastalarda ani kilo kaybı HCC gelişimini düşündürmelidir. Sarılık daha nadir olarak karşılan bir semptom olup, sıklıkla altta yatan sirozun bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. HCC lu



hastalarda sirozun komplikasyonları olarak portal hipertansiyon ve ösefagus varis kanamasına bağlı hematemez, görülebilir. Karın şişliği ve asite bağlı respiratuvar semptomlara ya da daha nadir olarak kemik metastazlarına bağlı kemik ağrılarına rastlanılabilir.

Hastaların muayenelerinde ise %90 oranında hepatomegaliye rastlanır. Asit hastaların %30-60'ında vardır. Splenomegali genellikle portal hipertansiyonun bir bulgusu olarak tespit edilebilir. Kilo kaybı ve kaslarda zayıflama özellikle hızla büyüyen ya da büyük tümörlerde sıklıkla ortaya çıkar. Fizik muayenede kronik karaciğer hastalığının bulguları olan sarılık, abdominal venlerde genişleme, palmar eritem, jinekomasti, testiküler atrofi ve periferik ödem gözlemlenebilir. Hepatik venlerin invazyonu sonucu Budd-Chiari sendromu gelişebileceği bildirilmiştir. Nadiren supraklavikular Virchow-Trosier nodu gözlemlenebilir.

HCC'lu hastalarda bir çok paraneoplastik sendrom gözlemlenebilir. Bunlardan en önemlisi hipoglisemidir. Hipoglisemi aynı zamanda son dönem karaciğer yetmezliğinin bir bulgusu olarak da ortaya çıkabilir. Diğer tespit edilebilen paraneoplastik sendromlar; hiperkalsemi, hiperkolesterolemi, disfibrinojenemi, karsinoid sendrom, artmış tiroksin-bağlayıcı globulin düzeyleri, jinekomasti, testiküler atrofi, prekoks puberte ve porfiria katenöz tardadır.

HCC'da ölüm genellikle ekstrahepatik yayılım olmadan karaciğer yetmezliğine bağlı olarak gerçekleşir. HCC da en sık metastaz yerleri sırasıyla; akciğer (%44), portal ven (%35), portal lenf nodlarıdır (%27) .

Tanı için en sık kullanılan görüntüleme yöntemleri; ultrason (USG), karaciğer radyonüklit sintigrafi, anjiyografi ve bilgisayarlı tomografidir (BT). USG özellikle HCC için yüksek riskli hastalarda AFP ile birlikte tarama amaçlı kullanılmaktadır. Opere edilebilir hastaların çoğunda BT, görüntüleme yöntemi olarak cerrahi öncesi tek başına yeterli olmaktadır. BT eşliğinde biyopsi oldukça vasküler özellikle olan HCC tanısı için güvenli bir yöntemdir. Tanı için patolojik inceleme mutlaka gereklidir. Ancak, ince iğne aspirasyon

biyopsisinin küratif rezeksiyon planlanan hastalarda nükse neden olabileceği de akılda bulundurulmalıdır (60).

### 2.2.1. Evreleme:

Evreleme için bir çok sistem geliştirilmiş olmasına rağmen en sık kullanılan American Joint Committee TNM sistemidir. (Tablo 4)

**Tablo 4:** American Joint Committee Evrelemesi:

#### Primer Tümör (T)

TX	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümöre ait kanıt yok
T1	Vasküler invazyon olmadan soliter tümör
T2	Vasküler invazyonun eşlik ettiği soliter tümör ya da multipl tümör <5 cm
T3	Multipl tümör >5 cm ya da tümör portal ya da hepatik venin majör dallarına invaze
T4	Tümör (ler) safra kesesi haricinde diğer komşu organlara invaze veya viseral periton perforasyonu

#### Bölgesel Lenf Nodları (N)

NX	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı var

#### Uzak Metastaz (M)

MX	Uzak metastaz değerlendirilemiyor
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

#### Evreleme

I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
IIIA	T3	N0	M0
IIIB	T4	N0	M0
IIIC	T(x-4)	N1	M0
IV	T(x-4)	N(x-1)	M1

### 2.2.2. Prognoz

İki cm den küçük vasküler invazyonun olmadığı evre I hastalık en iyi prognoza sahiptir. Kötü prognoz kriterleri, vasküler invazyon, multipl tümör ve lenf nodu metastazı olmasıdır. Evre III hastalıkta lenf nodu pozitif ve nod negatif hastalar yer almaktadır. Nod pozitif olan grupta

prognoz kötü olup, çok az hastada sağ kalım 1 yılı geçmektedir. Evre IV hastalıkta reseksiyon ya da transplantasyona rağmen prognoz kötü olup bu grupta da nadiren 1 yıllık sağ kalım çok az görülmektedir. Okuda ve ark. tümör boyutunun karaciğerin %50 sinden fazla olmasını, asit, hipotalbumemi(<3g/dl), hiperbilirubinemi (>3 mg/dl ) varlığını kötü prognoz kriterleri olarak belirtmişlerdir (61).

HCC için en önemli tümör belirteci AFP'dir. AFP fetal serumun özel bir komponenti olup HCC, over ya da testisin teratokarsinomundan salgılanır. Yüksek riskli popülasyonda AFP tarama testi olarak başarıyla kullanılmıştır. Yanlış pozitiflik oranı yetişkinlerde <%1 den azdır, ancak HCC hastaların < %50 AFP düzeyleri yüksek bulunmaktadır. Günümüzde AFP özellikle tedavi yanıtının takibinde değerli olmaktadır. AFP düzeyinde azalma tedaviye yanıt ile uyumludur. HCC da kullanılan bir başka tümör markırı da vitamin K anormalitesine neden olan (PIVKA-2) des- $\gamma$ -carboxy-protrombin (DCP) proteindir. DCP düzeyi HCC karsinomların %80'inde yüksek bulunur, ancak DCP düzeyi vitamin K eksikliği olan hastalarda da yüksek bulunabilir. AFP ve PIVKA-2 kronik hepatit ve sirozda da yüksek bulunabileceği için yorumlanması zor olabilmektedir.

### **2.3. HEPATOSELLÜLER KARSİNOM TEDAVİSİ**

#### **2.3.1. Hepatoselüler Karsinomada Cerrahi Girişimler:**

HCC'da cerrahi tedavi yöntemleri kama rezeksiyon, segmentektomi, lobektomi ya da transplantasyon olarak sıralanabilir. Hastalar rezeksiyon öncesi helikal tomografi ya da manyetik rezonans görüntüleme yöntemleri ile ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Cerrahi rezeksiyona uygunluk kriterleri merkezden merkeze değişmekle birlikte 5 cm den küçük soliter lezyonlar cerrahi rezeksiyona uygundur (62). HCC da hastalığa eşlik eden siroza bağlı olarak karaciğer rezervinde azalma olması, hastaların bir kısmında cerrahi olanağını kısıtlamaktadır. Cerrahi öncesi hepatik rezervin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla indosiyenin testi kullanılabilir. Indosiyen yeşili sistemik olarak yayılır ve hepatik retansiyon

15. dakikada ölçülür. Eğer hepatik retansiyon %10'un altındaysa her türlü rezeksiyonun iyi tolere edilebildiği söylenmektedir (63). Son yıllarda ise hepatik rezervi değerlendirmede Child-Pugh-Turcotte sınıflandırmasının daha kullanışlı olduğu belirtilmektedir (2). Buna göre Child A sirozu olan hastalar genel olarak sınırlı hepatik rezeksiyonu tolere edebilmektedir (64). Evre I, Child B ve C sirozlu hastalarda ise rezeksiyon yerine uygun vakalarda transplantasyon tercih edilmelidir (2). Hepatik rezeksiyonun mortalitesi 1990'larda %13 civarında iken (63), bu rakam 2003'e gelindiğinde % 5 düzeylerine gerilemiştir (65,66). Rezeksiyon sonrası sağ kalım ilk 1 yılda ortalama %55-80 iken , 3. yılda %42-49 , 5. yılda ise %25-39 olarak bildirilmiştir (67). Uzun süreli sağ kalım nükslerle ilişkili olup 1. yılda hastaların yaklaşık %20 sinde, 5. yılda ise %75 inde nüks saptanmaktadır (62,68) Tümörün büyüklüğü, derecesi, sayısı, satellit nodullerin varlığı, vasküler invazyon durumu, cerrahi sınırların durumu ve alfa-fetoprotein düzeyleri nüksün ortaya çıkmasında etkili faktörlerdir (64).

Karaciğer transplantasyonu HCC'da küratif bir tedavi seçeneği olması nedeniyle oldukça önemlidir. Rezeksiyona uygun olmayan hastalarda, ekstrahepatik metastaz ve makrovasküler invazyon olmaması durumunda tek bir tümör varsa  $\leq 5$  cm ve  $\leq 3$  tümörün varlığı durumunda en büyük boyutu  $\leq 3$ cm olması Milan kriterleri olarak belirlenmiştir ve bu kritere uygun hastalarda yapılan transplantasyonlarda %70-75 oranında 5 yıllık sağ kalım arasında elde edildiği belirtilmiştir (69). Ancak bir çok merkezde bu kriterlerin ötesine geçilmektedir ( tek tümör boyutu  $\leq 6.5$  cm ve  $\leq 3$  tümörün varlığı durumunda en büyük boyutu  $\leq 4.5$  cm ve toplam tümör yükü  $\leq 8$ cm ) (70). Başkent Üniversitesi Genel Cerrahi Transplantasyon bölümünce transplantasyon kriterleri genişletilmiş olarak yeniden belirlenmiştir; HCC da karaciğer transplantasyonu için, tümör boyutundan ve sayısından bağımsız olarak sadece major damar invazyonu ve ekstrahepatik yayılım olmaması esas alınmıştır (71) . Haberal ve ark tarafından 2003 ile 2006 yılları arasında toplam 26 hastaya

genişletilmiş bu kriterlerle karaciğer transplantasyonu yapılmıştır ( 72). Ortanca 16.5 ay takip süresince %100 sağ kalım oranına ulaşılmıştır (72). Bu sonuçlarda göre karaciğer transplantasyonu HCC da küratif olan tek tedavi yöntemi olarak görülmektedir. Ancak verici yetersizliği, transplantasyon listesinde bekleyen hastalar için olumsuzluklara neden olmaktadır. Özellikle 1 yıldan uzun süre beklemekte olan hastalarda progresyon gözlenmekte ve sağ kalımın 1 yıldan az bekleyenlere göre daha az olduğu belirtilmektedir (70). Bu süreçte transplantasyon adaylarında tümör progresyonunu yavaşlatmak amacıyla uygulanacak lokal ablatif tedavilerin bekleme listesindeki düşüş oranını azaltacağı öne sürülmüştür. Ancak yapılan çalışmalarda lokal ablatif tedavilerin bekleme dönemindeki düşüş oranını azaltmadığı gösterilmiştir (73). Transplantasyon öncesi uygulanan bu tedavilerin posttransplant sağ kalıma etkilerini araştıran randomize kontrollü çalışma henüz yoktur, fakat vaka kontrollü yapılan 2 çalışmada transplantasyon öncesi uygulanan transarteriel kemoembolizasyon (TACE) ile tümörün evresinin azaltılabilesine rağmen bu hastalarda posttransplantasyon sağ kalım avantajı gösterilememiştir (74,75).

Karaciğer transplantasyonunda diğer bir seçenek de canlı vericiden yapılan naklidir. Bekleme sürecine gerek duyulmadan ve hastalarda ileri evre karaciğer yetmezliği gelişmeden uygulanabilir. Standart seçim kriterleri belirlenmemiş olmasına rağmen, yapılan canlı verici transplantasyonlarında, kadavradan yapılan transplantasyonlarla karşılaştırılabilir sağ kalım oranları bildirilmiştir (64,72).

HCC'un nüks riskinin oldukça yüksek olmasından dolayı küratif cerrahi girişimler sonrasında adjuvan tedavi uygulamaları gündeme gelmiştir. Yapılan randomize klinik çalışmalarda sistemik adjuvan kemoterapi, hepatik arter içine kemoterapi ya da embolizasyon, immunolojik ajanlar ve radyasyon gibi tedavi yöntemleri denenmiştir. Bu çalışmaların sonuçlarına bakıldığında küratif cerrahi girişimler sonrasında gerek sistemik kemoterapilerin

gerekse hepatik artere yönelik girişimlerin toplam ya da hastalısız sağ kalıma katkısı olmadığı belirtilmiştir (76)

### **2.3.2. Lokal ve Ablatif Tedaviler**

Rezeksiyona uygun olmayan HCC'un tedavisinde lokal tedaviler önemli yer tutmaktadır. Bu tedaviler sıklıkla palyasyon amaçlı kullanılmakla beraber seçilmiş vakalarda iyi sonuçlar elde edilebilmektedir (77, 78).

Bu yöntemler, TACE, Yttrium-90 intra-arteriel hedeflenmiş radyoterapi, perkütan alkol enjeksiyonu (PAE) , radyofrekans ablasyon (RF) ve mikrodalga koagulasyon terapidir. Karaciğer tümörleri hepatositlerin aksine beslenmelerini portal sistemden değil hepatik arterden sağlarlar. TACE, tümörü besleyen hepatik arter dalının, lipiodol içinde bulunan kemoterapötik ilaç ile embolizasyonu yöntemidir. Antineoplastik ilaç olarak sıklıkla doksorubisin, sisplatin ya da mitomisin C kullanılmaktadır. Rezeksiyona uygun olmayan hastalara uygulanan konservatif tedaviler ile TACE uygulamasının karşılaştırıldığı 7 randomize çalışmanın meta analizinde, TACE ile istatistiksel olarak anlamlı sağ kalım avantajı elde edildiği belirtilmiştir (78). Rezeksiyona uygun olmayan bu hastalarda TACE ile ortanca 2 yıllık sağ kalım elde edilmiş olmasına rağmen hastaların nadiren operasyona uygun hale geldiği bildirilmiştir (78).

PAE, hepatik rezervi uygun olan, 2cm den küçük, hepatik kubbeden uzakta yerleşimli solid tümörü olan vakalarda yapılabilmektedir. (79). Bu teknikte, tomografi ya da ultrason eşliğinde tümör içine %95 lik alkol enjeksiyonu yapılır. Üç yıllık sağ kalım Child-Pugh A sirozlu hastalarda %79 iken Child-Pugh C sirozu olanlarda %12'dir (77).

RF, düşük voltajlı alternatif elektrik akımı ile dokunun ısıtılması ve hücrelerin öldürülmesi ile etki eder. Çapı 2 cm'e kadar olan tümörlerde %85 lik tam yanıt oranı sağlanabilmektedir (80). Tümör çapı 4 cm den küçük solid lezyonu olan vakalarda RF ile

toplam ve hastalısız sağ kalım oranlarının PAE ile karşılaştırıldığında daha iyi olduğu görülmüstür ve RF günümüzde PAE ‘nun yerini almıştır (81).

### 2.3.3. Sistemik Kemoterapi

Sistemik kemoterapi performası iyi olan hastalarda ekstrahepatik hastalık varlığında, cerrahi yada lokal ablatif tedavilere uygun olmayan lokalize hastalıkta ve ana portal ven trombozu olan hastalarda endikedir. Ancak HCC hücreleri oldukça iyi farklılaşma gösteren hücreler olup, bir çok ilaç direnç mekanizmasına sahiplerdir. Özellikle multidrug direnç geni ve bu genin ürünü olan P-proteini sentezlenmesi ile HCC kemoterapiye dirençli hale gelmektedir. HCC’da sisplatin, doksorubisin, etoposit ve 5-florourasil bir çok kemoterapötik ilacın etkinliği araştırılmıştır. Bu ilaçlarla yanıt oranları %8-18 arasında değişmektedir (82, 83). Bu ilaçların ikili kombinasyonlarıyla yada interferonla yapılan kombine tedavilerde yanıt oranları tek ilaçlı rejimlerle benzer olarak bulunmuştur (82). Yakın zamanda 4’l ilaç kombinasyonu ile yapılan bir çalışmada sisplatin, rekombinant interferon-alfa, doksorubisin ve 5-florourasil (PIAF) kullanılmış ve %26 lık bir yanıt oranı elde edilmiştir. Yapılan faz III çalışmada bu kombinasyonun etkinliği doksorubisin ile karşılaştırılmıştır (83). Ortanca sağ kalım PIAF uygulanan kolda 8,67 ay, doksorubisin alan kolda 6,83 ay ve yanıt oranları bu iki kolda sırasıyla %20,9 ve %10,5 olarak bulunmuştur. Ancak gerek ortanca sağ kalımdaki gerekse yanıt oranları arasındaki bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. PIAF alan kolda daha fazla 3 ve 4 derece kemik iliği toksisitesi gözlenmiştir.

HCC’un oldukça vasküler bir tümördür. Bu nedenle faz I/II çalışmalarda bevacizumab ve thalidomid gibi antianjiojenik ilaçların etkinlikleri denenmiştir (84,85). HCC’da epidermal büyüme faktörlerinin aşırı eksprese edildiği bilinmektedir. Erlotinib gibi bu reseptörlere özgül tirozin kinaz inhibitörleri ile %10’luk bir yanıt oranı gözlenmiştir (86). Kemoterapiye oldukça dirençli bu tümörün tedavisinde yeni geliştirilen biyolojik ilaçlarla yapılacak çalışmaların sonuçları beklenmektedir.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Uygulama Hastanesinde histopatolojik olarak HCC tanısı almış, 27 erkek ve 4 kadın olmak üzere toplam 31 hastanın bilgileri dosya kayıtları incelenerek toplandı. Hastaların ortalama yaşı 60,2 (18-75) yılı. Hastaların özellikleri Tablo 5 de özetlendi. Altı hastada hepatit belirteçleri negatifti, hastaların 19 (%61.3) HBV pozitif, 6 (%19.4) sı HCV pozitif olarak bulundu. HCC karaciğerde, hastaların %45.2 sinde tek lezyon olarak tespit edilirken, %51.6 sinde çoklu lezyonlar mevcuttu, 1 hastada diffüz tutulum tespit edildi. Evrelere göre; 2 hasta evre I, 14 hasta evre II, 13 hasta evre III, 2 hasta evre IV olarak bulundu. Hastaların %74 ünde tanı anında AFP düzeyleri mevcuttu. Çalışma tamamlandığında 31 hastanın 15'i (%48.4) sağ, 12 si (%48.4) ölmüştü. 4 hasta takipten çıkmıştı. Altı hastaya lokal terapiler ( TACE, RF), 13 hastaya transplantasyon, 4 hastaya cerrahi eksizyon, 7 hastaya da palyatif tedavi uygulanmıştı. Cerrahi eksizyon uygulanan 2 hastaya aynı zamanda lokal tedaviler de uygulanmıştı. Sistemik kemoterapi 1 hastaya verildi.

#### *COX-2 boyanması ve değerlendirilmesi:*

Tüm örnekler formalin ile fikse edilmiş parafin bloklar halinde 3-4 mm incelikte kesildi. Bu parçalar hematoksilen-eozin, Masson trikrom, kollajen fibrilleri için Gomori retikülin ve Perl'in demir boyası ile boyandı. Örnekler avidin-biotin kompleks metodu ile immunohistokimyasal olarak incelendi. İlk olarak COX2 antikoruna (Cyclooxygenase-2, rabbit, Lab Vision, USA), deparafinize doku kesitlerine uygulandı. COX-2 1/50 dilüsyon kullanılarak örnekler bir gece boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Pozitif kontrol olarak kolon kanseri hücrelerinin immünreaktivitesi kullanıldı.



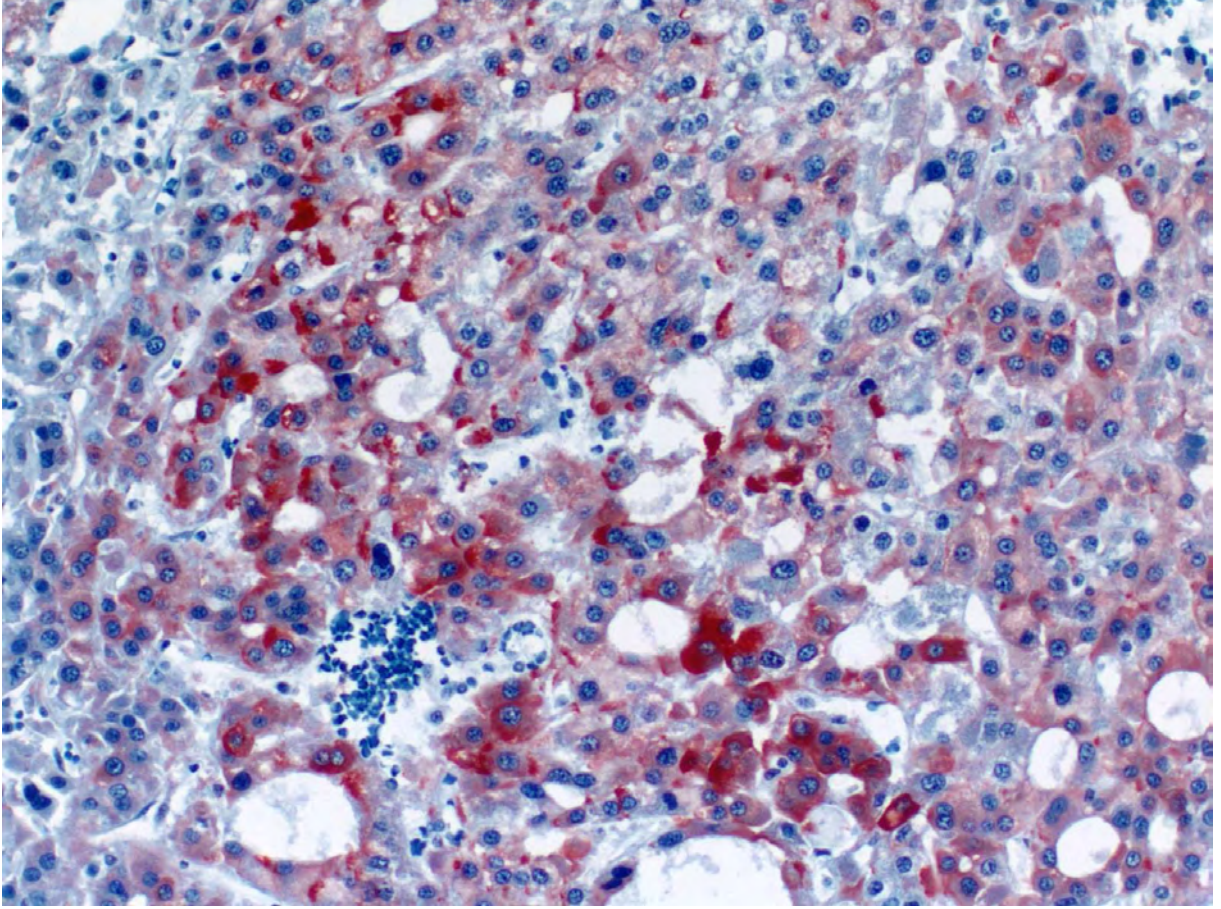
İmmunoreaktif hücreler semikantitatif olarak 0-5 arasında derecelendirildi (Şekil 4, 5, 6):

- 0: hiç boyanma olmaması
- 1: Hücrelerin %1-5 'inde boyanma olması
- 2: Hücrelerin % 5-25' inde boyanma olması
- 3: Hücrelerin % 25-50' sinde boyanma olması
4. Hücrelerin % 50-75' inde boyanma olması
5. Yaygın boyanma, hücrelerin >% 75'inde boyanma olması

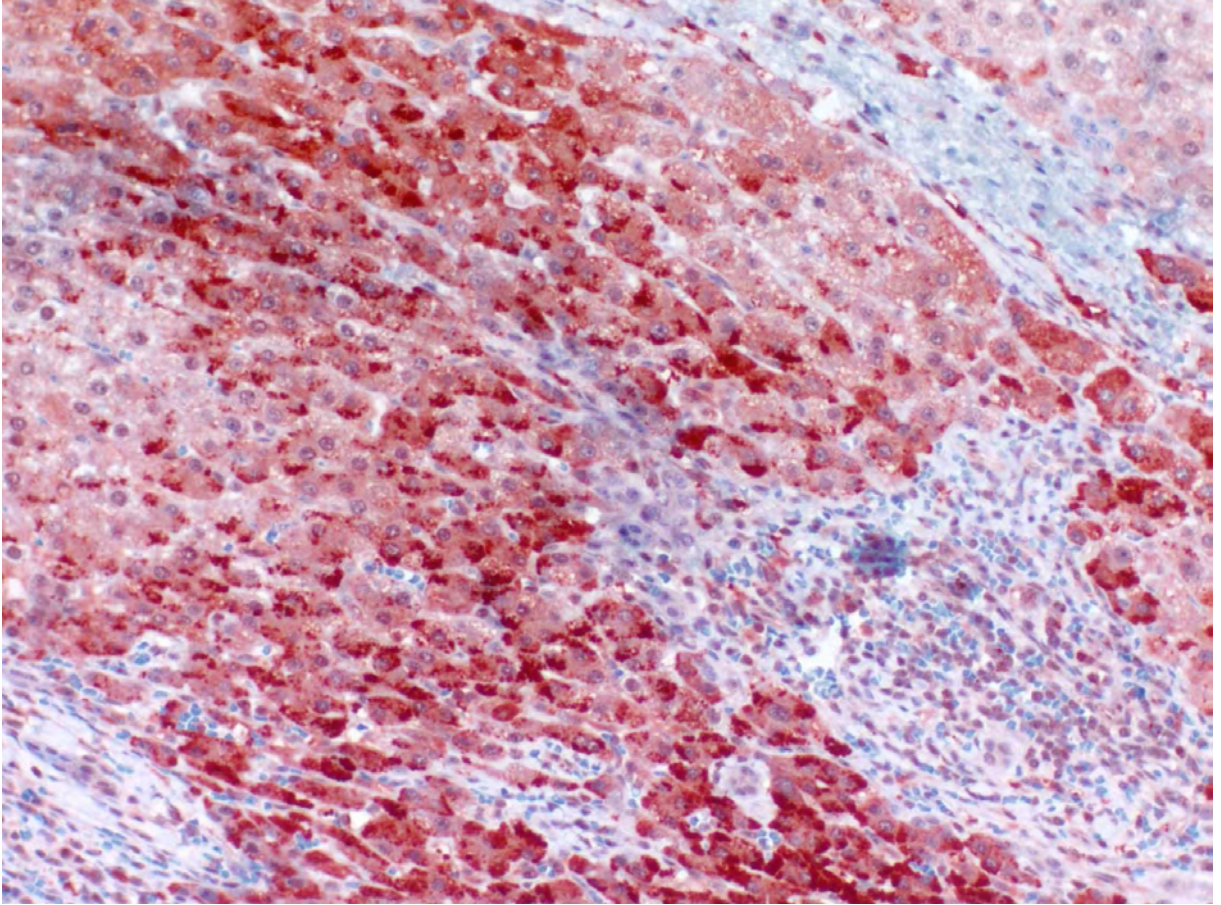
*İstatistik:*

İstatistiksel analizlerde Windows için hazırlanmış SPSS V11.0 programı kullanıldı. Çalışmada kullanılan tüm istatistiklerde  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Chi-Square testi kullanıldı. Sağ kalım grafikleri Kaplan-Meier yöntemiyle hesaplandı, gruplar arasındaki fark long-rank testiyle araştırıldı.

Şekil 4: Derece 2 COX-2 boyanması

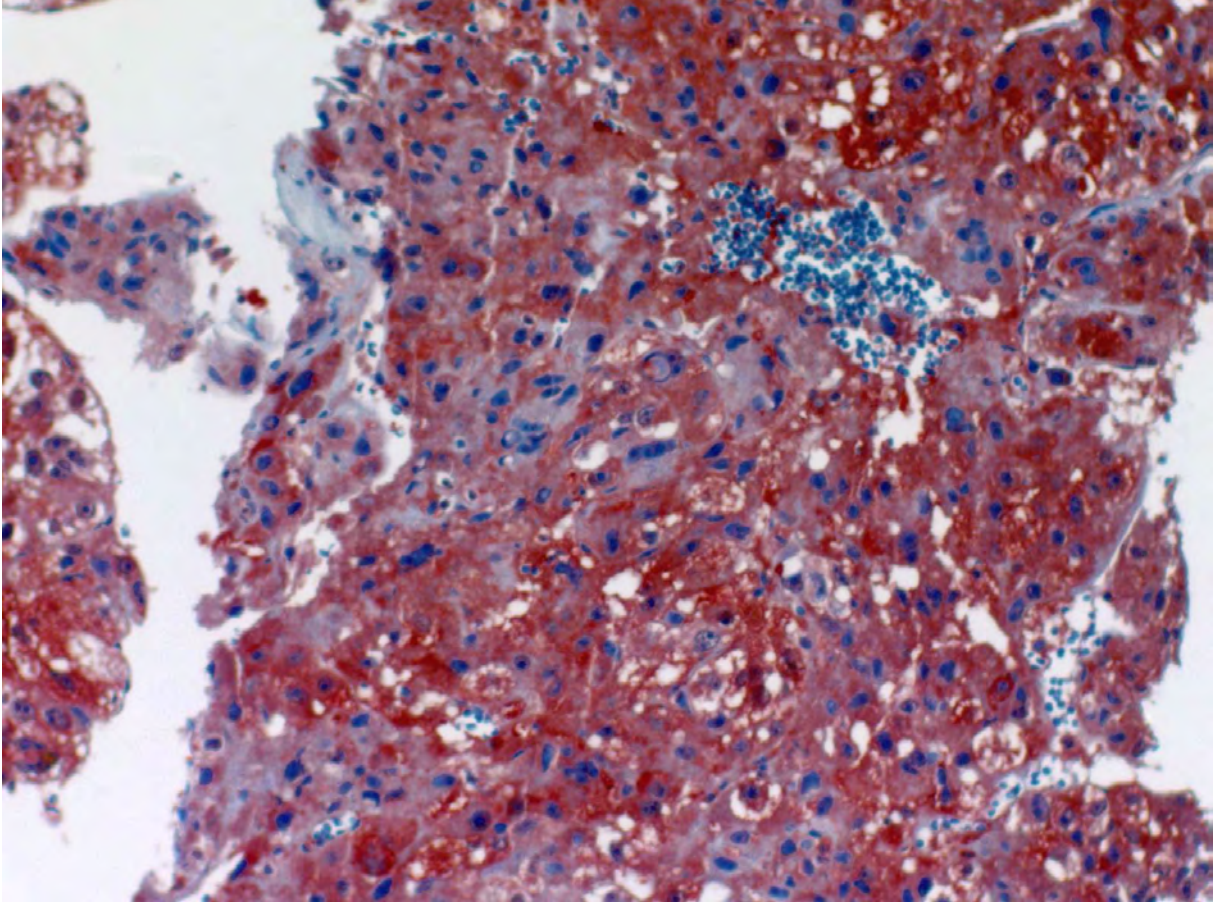


Şekil 5: Derece 3 COX-2 boyanması





Şekil 6: Derece 4 COX-2 boyanması



**Tablo 5:** Hastaların özellikleri

Hasta	cins	yaş	HB	AFP	lezyon	Evre	Tedavi	durum	sağ kalım(ay)	cox-2
1	E	35	B	2.29	Tek	1	Cerrahi	sağ	28+	2
2	E	49	C		Çok	1	Cerrahi+	sağ	44+	5
3	K	68	C	43	Çok	2	Lokal	ölu	16	4
4	E	44	B		Çok	2	Palyatif	ölu	-	4
5	E	67	B	4128	Çok	3	Cerrahi	kayıp	24	3
6	E	51	B	7.2	Tek	2	Trans	kayıp	14	5
7	E	49	-	2.75	Diffüz	3	Trans	sağ	20+	1
8	E	66	B		Tek	3	Palyatif	ölu	-	2
9	E	68	B	20	Tek	4	Lokal	ölu	13	4
10	E	55	B		Çok	3	Lokal	ölu	9	1
11	E	48	B		Tek	2	Trans	sağ	9+	2
12	E	55	-	4	Tek	3	Palyatif	kayıp	-	4
13	K	70	C		Çok	3	Palyatif	ölu	0	1
14	E	48	B	2300	Tek	2	Lokal	kayıp	32	1
15	E	18	-		Tek	3	Cerrahi+	ölu	4	2
16	E	70	-	2.5	Tek	2	Lokal	sağ	51+	5
17	E	75	B	13.4	Çok	3	Palyatif	ölu	1	5
18	E	59	B	2591	Çok	4	Kemo	ölu	2	4
19	E	59	C	3.48	Çok	3	Trans	sağ	25+	4
20	E	55	C		Çok	3	Trans	sağ	32+	1
21	E	51	B		Çok	3	Trans	sağ	39+	1
22	K	54	B	6.05	Çok	3	Palyatif	ölu	-	2
23	K	62	-		Çok	2	Palyatif	ölu	-	1
24	E	48	B	3.2	Çok	2	Trans	sağ	22+	2
25	E	68	C		Tek	3	Lokal	ölu	2	3
26	E	56	-	2.75	Tek	2	Trans	sağ	18+	1
27	E	55	B	13.1	Tek	3	Trans	sağ	21+	2
28	E	56	B	0.7	Çok	2	Trans	sağ	19+	1
29	E	19	B	0.9	Çok	2	Trans	sağ	19+	2
30	E	65	B	1.31	Çok	2	Trans	sağ	17+	1
31	E	61	B	14.3	Tek	2	Trans	sağ	13+	1

HM: hepatit belirteçler, AFP: Alfa fetoprotein, Trans: Transplantasyon

#### 4. BULGULAR

İmmunhistokimyasal olarak COX-2 ifadesi tüm HCC'larda tespit edildi (Tablo 6). Hastaların %35.5 inde COX-2 ifadesinin  $<5\%$  olduğu gözlemlendi. Bu nedenle hastalar COX-2 ifadesi  $<5\%$  ve  $\geq 5\%$  olmak üzere iki gruba ayrıldı. Hastalar COX-2 ifade düzeyleri ile lezyonların tek ya da çoklu olması arasında ilişki incelendi. Lezyonların durumu ile COX-2 ifade düzeyi arasında ilişki bulunamadı (Tablo 7) ( $p=0.26$ ). Hepatit belirteçlerinin durumuna göre COX-2 ifadesi incelendiğinde HBV pozitif hastaların çoğunda COX-2 ifadesi %5 den fazla olduğu görülmüştür (Tablo 8). Ancak bu ifade istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.53$ ). Evrelere göre COX-2 ifadesi Tablo 9 da gösterildi. Tümörün farklılaşma derecesi ile COX-2 ifadesi arasında ilişki saptanmadı. Tanı anında AFP bakılan 23 hastanın 6'sında (%23 ) AFP düzeyi yüksek bulundu. Ortalama AFP düzeyi 411.23 (0.7-4128). AFP düzeyleri ile COX-2 ifadesi arasında ilişki bulunmadı.

**Tablo 6:** COX-2 ifade derecesi

COX-2 ifade derecesi	Hasta sayısı (%)
0	0
1	11 (35.5)
2	8 (25.8)
3	2 (6.5)
4	6 (19.4)
5	4 (12.9)

**Tablo 7:** COX-2 ifade derecesi ile lezyonların ilişkisi

		COX-2 ifade derecesi		
		1	2-5	Toplam
Lezyon				
	Tek	3	11	14
	Çok	7	9	16
Toplam		10	20	30

**Tablo 8:** COX-2 ifade derecesi ile hepatit belirteçlerinin ilişkisi

		COX-2 ifade derecesi		
		1	2-5	Toplam
Hepatit belirteç				
	Negatif	3	3	6
	B	6	13	19
	C	2	4	6
Toplam		11	20	31

**Tablo 9:** COX-2 ifade derecesi ile evrenin ilişkisi

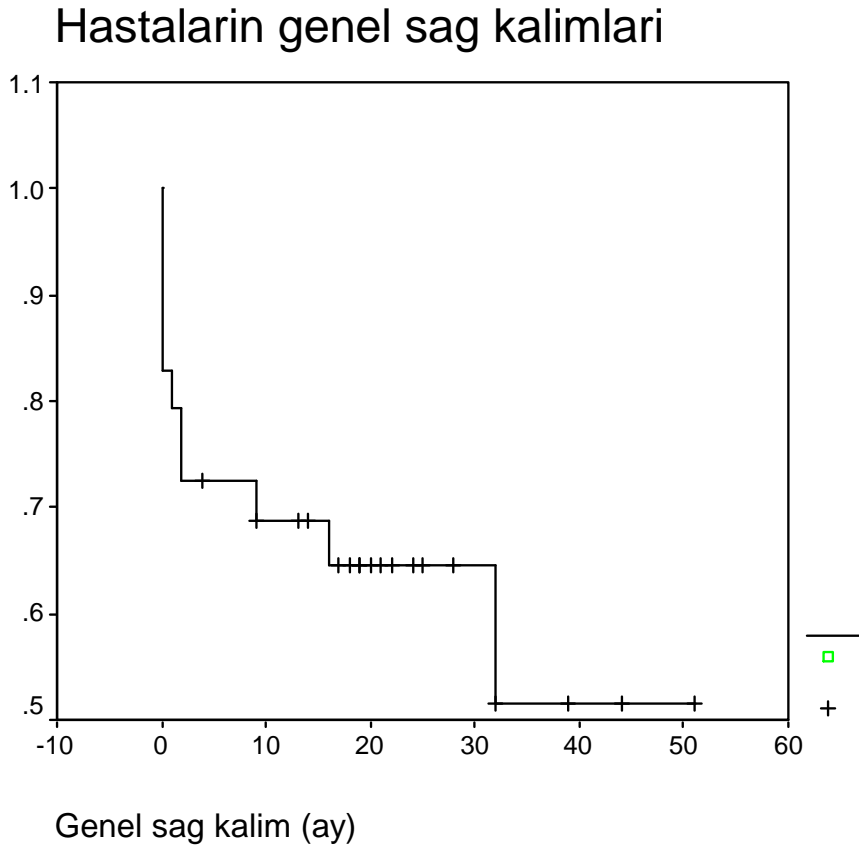
		COX-2 ifade derecesi		
		1	2-5	Toplam
Evre				
	I		2	2
	II	6	8	14
	III	5	8	13
	IV		2	2
Toplam		11	20	31

Hastaların ortanca sağ kalımına ulaşamadı. Ortalama sağ kalım 31,63 ay olarak bulundu (Tablo 10). Hepatit belirteçleri negatif hastalarda ortanca sağ kalım ulaşamadı ancak ortalama sağ kalım 40,8 aydı. HBV pozitif hastalarda ortanca sağ kalım 32 ay olarak bulundu. HCV pozitif hastalarda ortanca sağ kalım 16 aydı. Ancak bu üç grup arasında sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ( $p>0.74$ ) (Tablo 11).

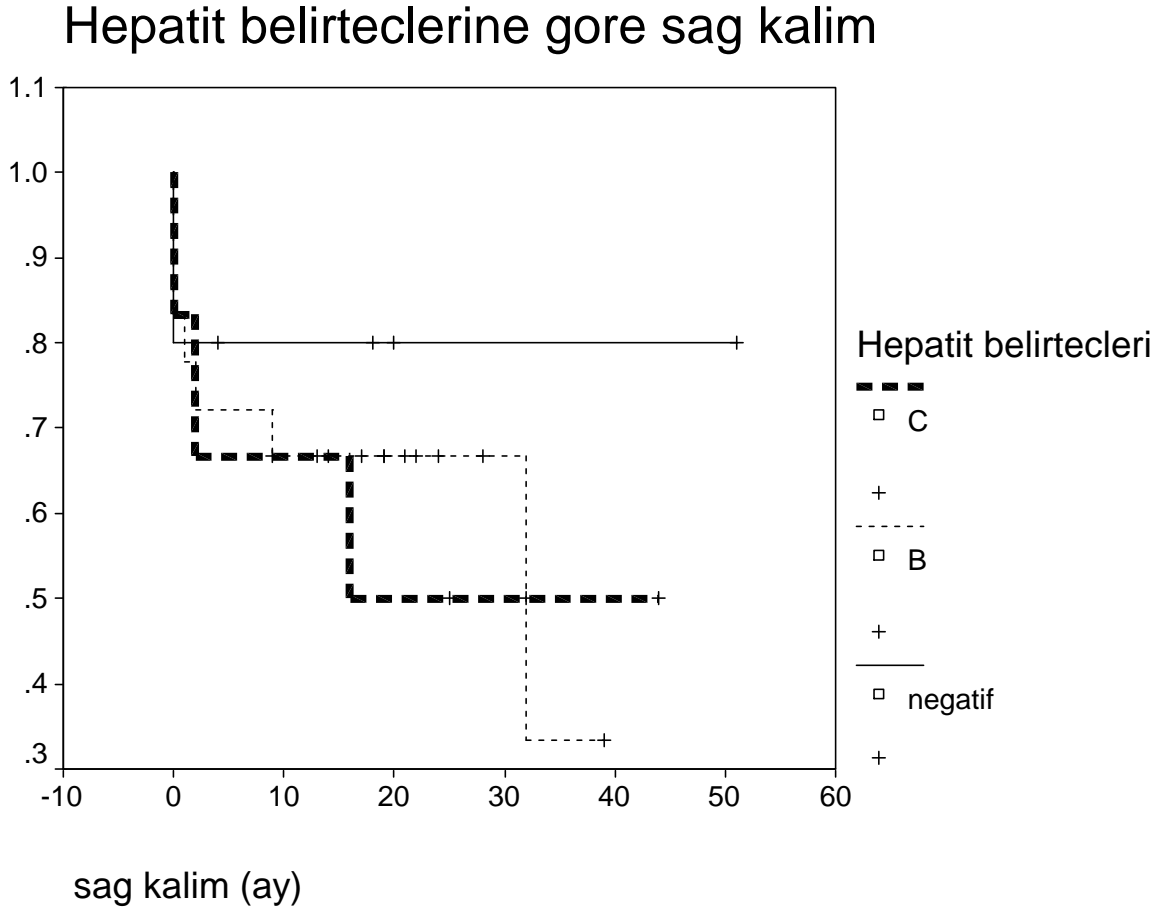
COX-2 ifadesi  $<5\%$  olan hastalarda ortanca sağ kalım 32 aydı. COX-2  $\geq 5\%$  olan hastalarda ortanca sağ kalım ulaşamadı, ancak ortalama sağ kalım 31,69 aydı. COX-2 ekspresyonun derecesine göre grupların sağ kalımları arasında fark yoktu ( $p>0.72$ ) (Tablo 12). Tek lezyonu olan hastalarla çok lezyonu olan hastaların sağ kalımları karşılaştırıldığında her iki grupta da ortanca sağ kalım ulaşamadığı tespit edildi. Bu gruplarda ortalama sağ kalımlar sırasıyla 34,51 ay ve 22,67 aydı. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.42$ ) (Tablo 13). Tümörün farklılaşma derecesi ile sağ kalım arasında bir ilişki yoktu (Tablo 14). Hastalara uygulanan tedavilere göre sağ kalımlar incelendiğinde lokal tedavi uygulanan 6 hastada ortanca sağ kalım 9 aydı. Transplantasyon ya da cerrahi eksizyon yapılan 17 hastanın 3ü takipten çıkmış olup diğer hastaların hepsi sağdı. Bu grupta hastaların yarısından fazlasının sağ olması nedeniyle, ortanca ve ortalama sağ kalım süreleri hesaplanamadı. Bu gruplar arasında anlamlı olarak sağ kalım farkı vardı ( $p<0.001$ ) (Tablo 15). Evrelere göre sağ kalım analizi yapıldığında beklendiği gibi erken evrelerde hastaların daha uzun sağ kalımları olduğu görüldü ( $p=0.042$ ) (Tablo 16).



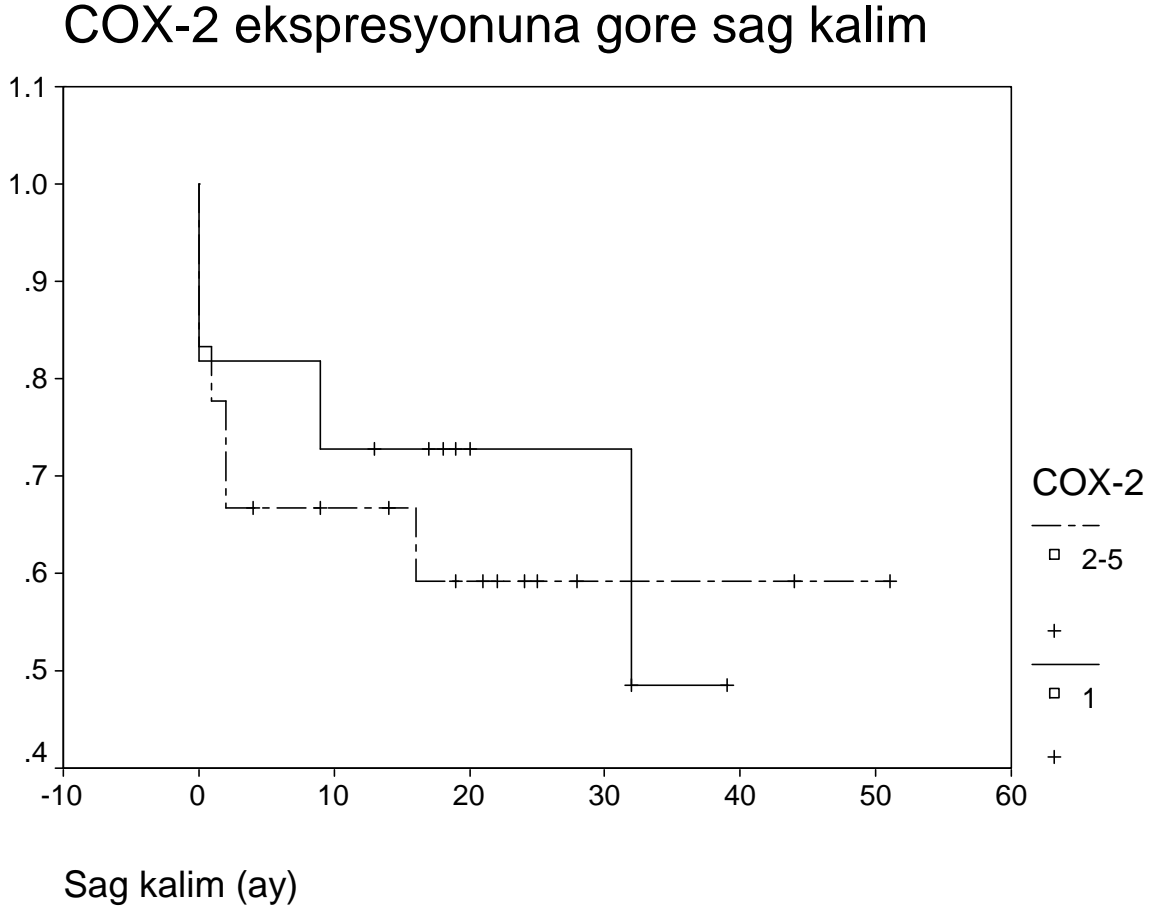
Şekil 7: Hastaların genel sağ kalım grafiği



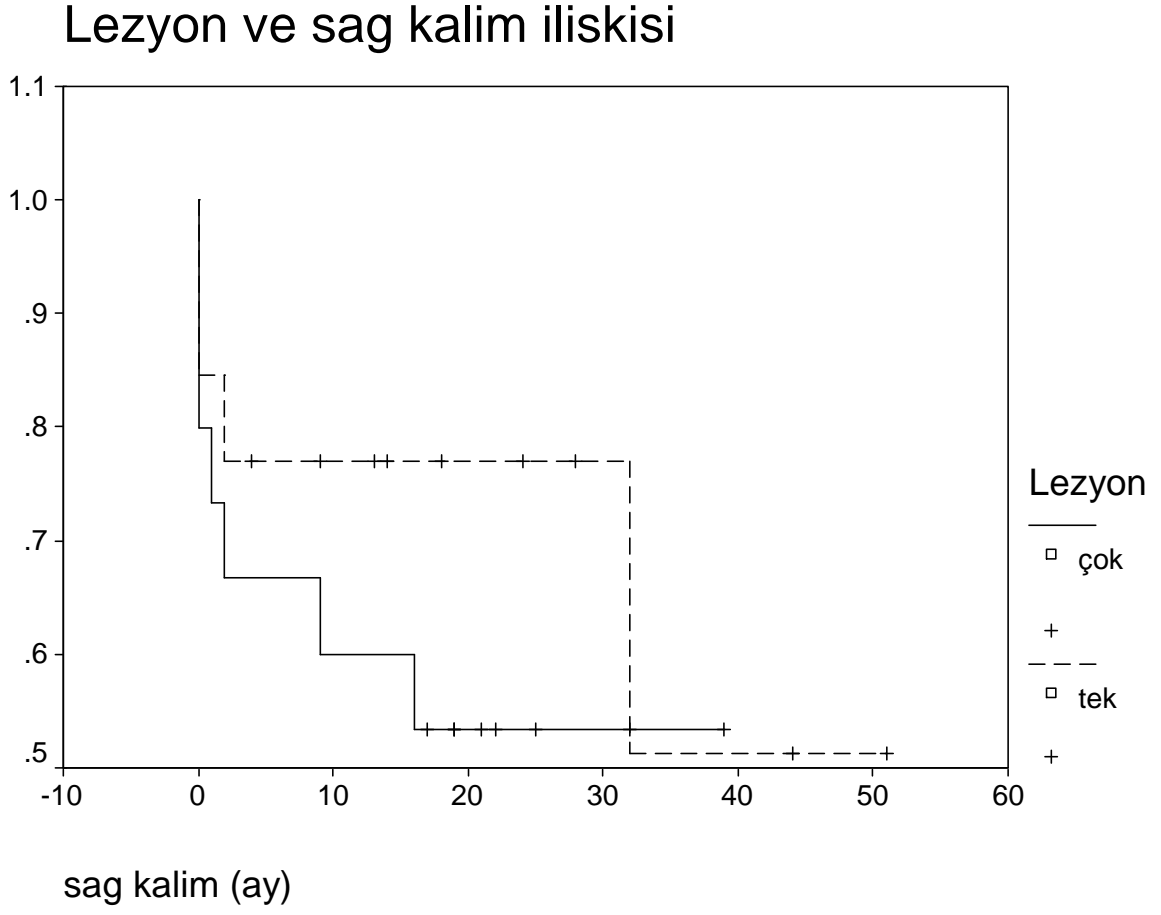
Şekil 8: Hepatit belirteçlerine göre sağ kalım grafiği



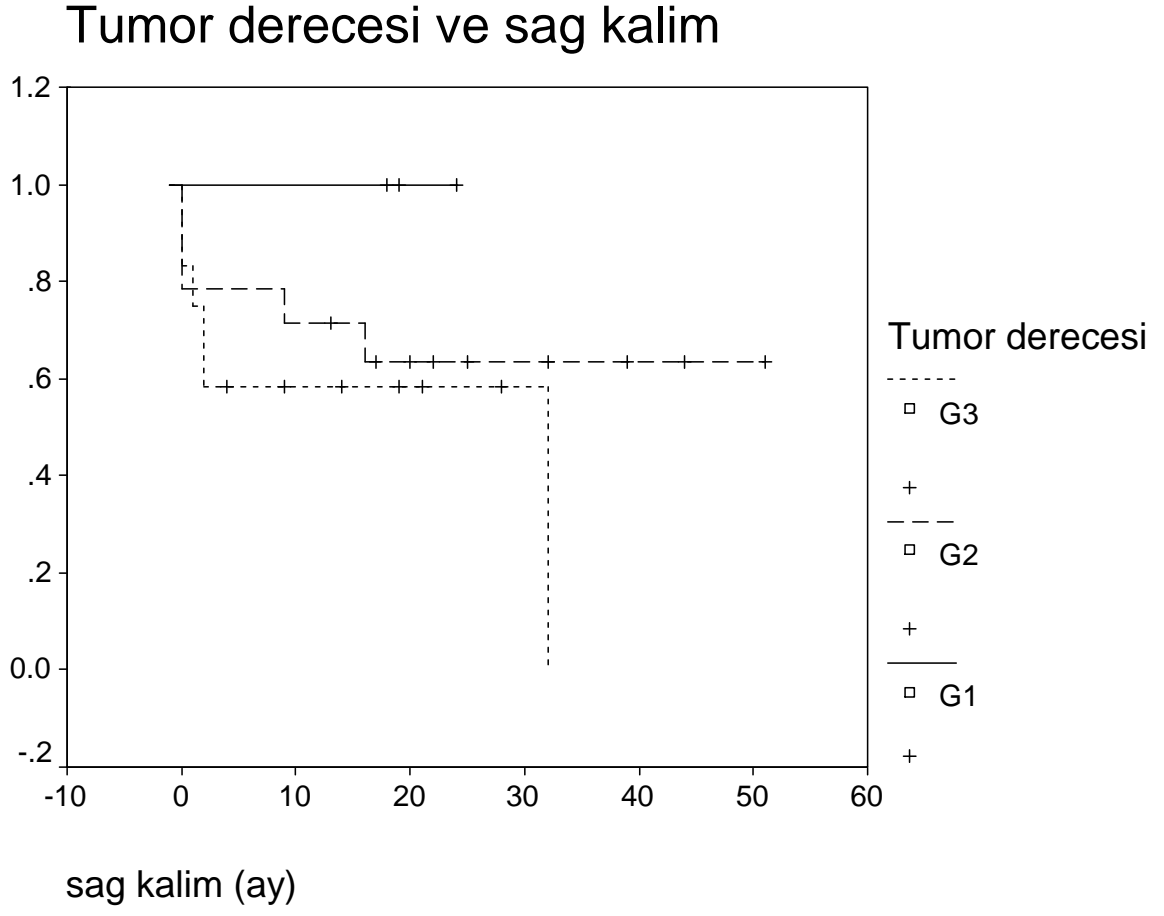
Şekil 9: COX-2 ifade derecesine göre sağ kalım grafiği



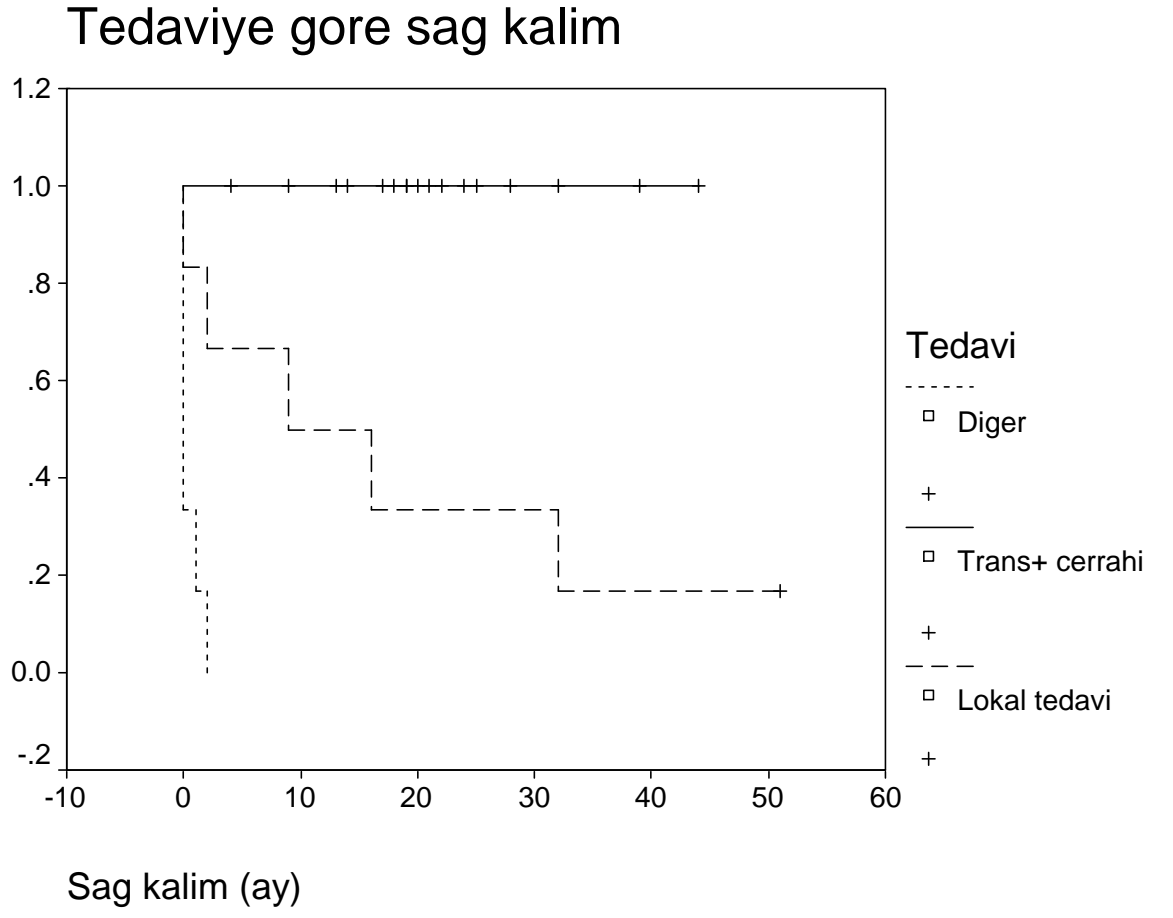
Şekil 10: Lezyonların durumuna göre sağ kalım grafiği



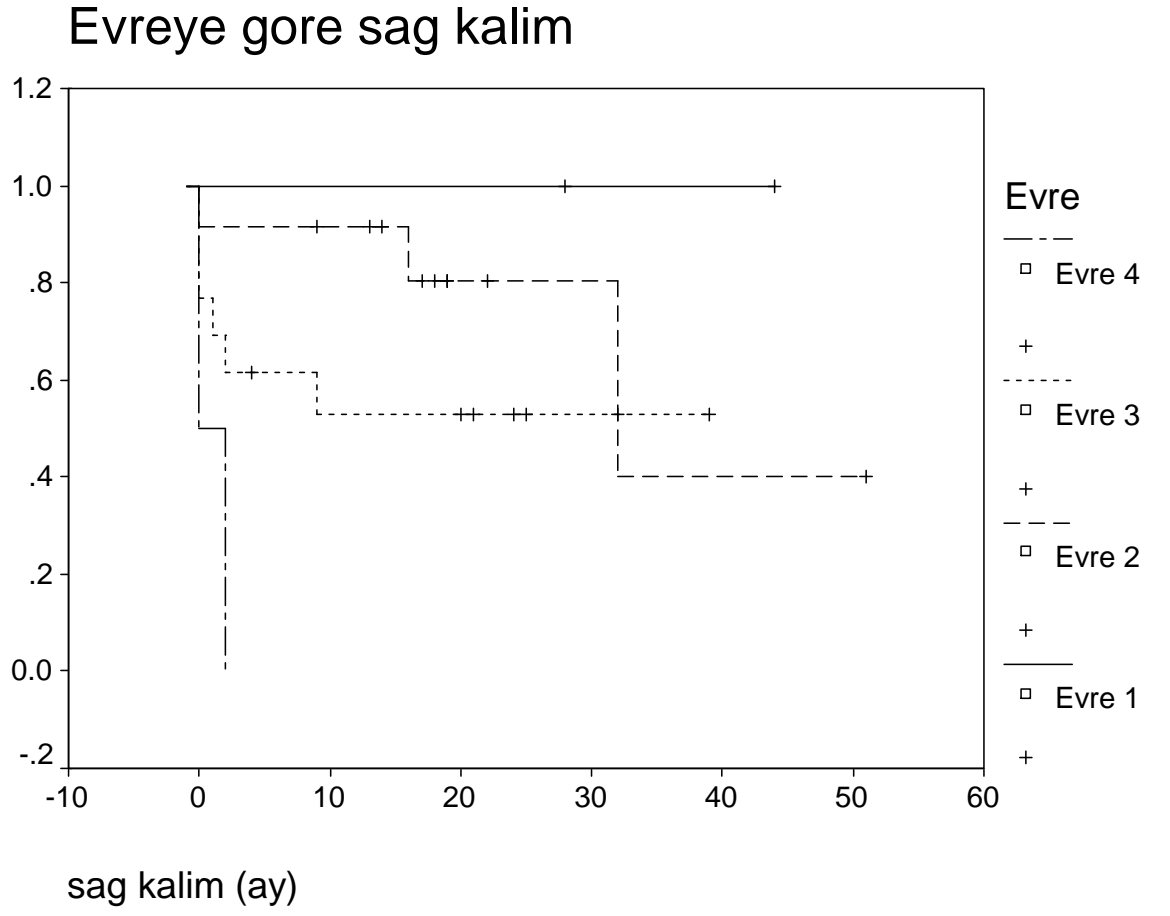
Şekil 11: Tümörün farklılaşma derecesine göre sağ kalım grafiği



Şekil 12: Tedaviye göre sağ kalım grafiği



Şekil 13: Evreye göre sağ kalım grafiği



## 5. TARTIŞMA

HCC dünya çapında giderek artan sıklığı nedeniyle önemli bir sağlık problemi haline gelmektedir. HCC tedavisi hem kanserin hem de altta yatan karaciğer fonksiyon bozukluğunun tedavisini içermesi nedeniyle karmaşıktır. Bununla birlikte erken evrede, küratif olabilen cerrahi girişimler dışında, ileri evre hastalıkta henüz standardize edilmiş bir tedavi protokolü tanımlanamamıştır. HCC kemoterapiye oldukça dirençli klonlara sahiptir (82). Hepatoma hücrelerinde oldukça yoğun gözlenen genetik mutasyon birikimi kemoterapiye duyarsızlıkta önemli bir mekanizma olmaktadır. Bunun yanı sıra, HCC da artmış dihidropirimidin dehidrogenaz düzeyleri 5-florourasile dirence neden olmaktadır (87). Çoklu ilaç direnç gen ifadesi ve bu gen ürünü olan P-glikoprotein ifadesi özellikle paklitaksele karşı tam direncin sebebi gibi görünmektedir (88). Hastaların bir çoğunda tespit edilen kronik karaciğer hastalığı ve eşlik eden siroz, ilaç metabolizmasında azalmaya neden olabileceği için sitotoksik ilaç tedavilerinin uygun dozda ve etkili bir biçimde uygulanmasını engellemektedir.

HCC bir çok farklı etiolojik faktöre maruziyet sonucu ortaya çıkabilmekle birlikte en yaygın olarak hepatit virüslerinin meydana getirdiği kronik karaciğer zemininde oluşmaktadır. Özellikle Asya toplumunda yaygın olarak görülen HBV ve HCV'ye bağlı HCC, Batı toplumunda da giderek yaygınlaşmaktadır. HBV için hepatit B aşısı enfeksiyondan ve dolayısıyla uzun dönemde ortaya çıkabilecek olan kronik karaciğer hasarından ve HCC'dan korumakta etkin olmakla birlikte dünya çapında rutin aşılama programının uygulanamaması nedeniyle yetersiz kalmaktadır. HCV için ise henüz koruyucu özellikte bir aşı geliştirilememiştir.

HCC gelişimini önlemede koruyucu yöntemlerin yeterli olamaması ve dünya çapında yaygın olarak uygulanamaması, tedaviye yönelik en uygun yaklaşımların standardize edilememesi nedeniyle HCC patogenezinin aydınlatılması ve hepatokarsinogenezde yer alan



önemli moleküllere yönelik hedeflenmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesi, görülme sıklığı ve mortalitesi batı toplumlarında da giderek artan bu kanserde önemli olmaktadır.

Hedeflenmiş tedavi yöntemlerinde son yıllarda sıklıkla araştırma konusu olan bir madde de siklooksijenaz (COX) enzimidir. Nonsteroidal anti inflamatuvar ilaçlar (NSAII ) COX enziminin iyi bilinen bir hedefidir (34). NSAII hem COX-1 hem de COX-2 enzimini engelleme özelliğine sahiptir. Ancak antikanser tedavilerle asıl hedef COX-2 molekülüdür. COX-2 aşırı ifadesi özellikle gastrointestinal sistem karsinogenezinin sık rastlanan bir bulgusudur. Nitekim, epidemiolojik çalışmada NSAII kullanımı ile bu kanserlerin insidansının ve mortalitesinin azaltıldığı gösterilmiştir (34).

HCC sıklıkla viral hepatitlere bağlı kronik karaciğer hastalığı zemininde ve daha az oranda kriptojenik olarak ortaya çıkmaktadır. Etiolojik faktörler farklı olmasına rağmen hastalık benzer klinik sonuçlar ortaya çıkarmaktadır. Ancak hastalığın prognozu bu faktörlerden bağımsız gibi görünmektedir. HBV, HCV ya da diğer faktörlerin neden olduğu hepatokarsinogenez basamakları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada HBV, HCV pozitifliği zemininde ya da belirli bir etiolojik ajana bağlı olmadan geliştiği düşünülen HCC vakalarında COX-2 ifadesi incelendi. Literatüre bakıldığında Japon gruplar tarafından yapılan çalışmalarda COX-2 ifadesi sıklıkla HCV ilişkili HCC vakalarında, Çinli gruplar tarafından yapılan çalışmalarda HBV ilişkili HCC vakalarında incelenmiştir (33,46,47). Çalışmalarda bu iki virüs ilişkili hepatokarsinogenezde COX-2 ifadesinin farklı seyri olduğu gözlenmiştir (89,90). Ancak kriptojenik HCC vakalarında COX-2 yaygınlığı bilinmemektedir.

HCC dokusunda COX-2 ifadesi sıklıkla immunhistokimyasal olarak değerlendirilmektedir. COX-2 boyanmasında bir standart olmamakla birlikte yapılan çalışmalarda COX-2 pozitifliği yüzde olarak derecelendirilmektedir (92,93). COX-2 boyanma yoğunluğu semi-kantitatif olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmada da COX-2 boyanma yoğunluğu %0 ile >%75 aralığında 5 derece üzerinden değerlendirildi. Ancak bu beş gruba

düşen hasta sayıları istatistiksel analiz için yeterli olmaması nedeniyle COX-2 ifadesi %1-5 (derece 1) ve >%5 (derece 2-5 arası) olmak üzere iki gruba ayrılarak inceleme yapıldı.

Bu çalışmada hem HCV ve HBV ile ilişkili HCC vakalarında hem de kriptojenik tüm HCC vakalarında COX-2 ifadesi gözlemlendi. Bu gözlem hepatokarsinogenezde COX-2 yolunun, etiolojiden bağımsız olan ortak bir yolu olduğunu düşündürmektedir. COX-2 ifade derecesi ile etiolojik faktörler arasında bir ilişki tespit edilememiştir. HCV ilişkili HCC ve kriptojenik HCC'lu vaka sayısının az olması bu vakalarda COX-2 boyanma derecesinin seyrini belirlemede sınırlayıcı olmuş gibi görünse de, yapılan diğer çalışmalara bakıldığında HCV ilişkili HCC da COX-2 boyanma derecesinin değişken olduğu görülmektedir (33). Çalışmamızda hastalardaki HCC'un klinik bulguları ile COX-2 ifade derecesi karşılaştırıldığında, COX-2 ifadesinin lezyonların tek ya da çok olmasından bağımsız olduğu görüldü. Yapılan bazı çalışmalarda COX-2'nin ileri evre hastalıktan ziyade erken evrelerde aşırı eksprese edildiği söylenmektedir (35,47). Ancak bu çalışmada COX-2 yaygınlığı ile hastalığın evresi, tümörün farklılaşma derecesi arasında bir ilişki tespit edilmedi. Benzer şekilde, COX-2 ifade derecesi ve sıklığının iyi ve kötü farklılaşmış HCC'larda farklı olmadığı ve HCC'un klinik ve patolojik karakterleri ile COX-2 ifadesinin korelasyon göstermediği yapılan iki farklı çalışmada gösterilmiştir (93,94). Bu nedenle COX-2'nin ileri evre hepatokarsinogenezde rolü olabileceği düşünülmektedir (93). Gerek lezyonların sayısı gerekse hastalığın evresi ile COX-2 yaygınlığı arasında korelasyon olmaması, COX-2 yolunu tümör yükünden bağımsız olarak aktive olduğunu düşündürmektedir. Kronik HCV zemininde gelişen HCC vakalarının tümör içermeyen karaciğer dokularında COX-2 ifadesinin incelendiği bir çalışmada, bu bölgelerde de COX-2 ifadesinin arttığı gözlenmiştir (46). Bir başka çalışmada ise COX-2 mRNA ifadesinin kanserli olan ve olmayan karaciğer dokusunda farklılık göstermediği gözlenmiştir. HCV ve HBV ile ilişkili 59 HCC vakasının patolojik örneklerinin incelendiği bir çalışmada COX-2 ifadesinin tümör dokusunda ve tümör

içermeyen karaciğer dokusunda arttığı ve özellikle tümördeki artışın anlamlı olarak farklı olduğu tespit edilmiştir (95). Yapılan tüm verilen ele alındığında HCC da COX-2 ifadesinin farklılık gösterdiği gözlenmektedir. Displastik hepatositlerde de COX-2 ifadesinin varlığı ve bu bulgular birlikte düşünüldüğünde COX-2 sisteminin hepatokarsinogenezin başlangıcından itibaren her aşamasında rolü olabileceği düşüncesini doğurmaktadır. Bu tespit teorik olarak COX-2 hedefine yönelik ajanların HCC tedavisinin her aşamasında gerek prekanseröz lezyonların önlenmesinde, gerekse rezeksiyon sonrası nüksleri önlemede rolü olabileceğini düşündürse de, COX-2 ifade derecesinin değişkenliği hedefe yönelik tedavi stratejilerinin etkinliğini sınırlar gibi görünmektedir.

Literatüre bakıldığında COX-2 ifadesi ile HCC 'lu hastalarda sağ kalımı ilişkisinin incelendiği çalışma sayısının oldukça az olduğu görülmektedir (46,95). Bu çalışmada COX-2 ifade derecesine göre hastaların sağ kalımları bakıldığında COX-2 ifadesi >%5 olan grupta ortalama sağ kalımın daha uzun olduğu görülmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kondo ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada da HCV ile ilişkili HCC vakalarında tümör dokusundaki COX-2 ifadesi ile sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (46), ancak tümör içermeyen karaciğer dokusundaki COX-2 ifadesinin cerrahi sonrası nükslerle ve kısa süreli hastalıksız sağ kalım ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (46). Diğer bir çalışmada ise tümördeki COX-2 gen ifadesinin hastalıksız sağ kalım ile ilişki olduğu söylenmektedir (95).

HCC'li hastalarda etiolojik faktörler ile hastaların sağ kalım süreleri karşılaştırıldığında viral hepatitlerle ilişkili HCC vakalarıyla, kriptojenik HCC'lu vakalar arasında sağ kalım farkı tespit edilmedi. Sağ kalıma etki eden en önemli faktörler, hastalığın evresi ve hastaların küratif rezeksiyona uygun olup olmamalarıdır. Transplantasyon ya da küratif cerrahi girişim uygulanan hastalarda anlamlı olarak artmış sağ kalım süreleri tespit edildi. Bu gruptaki hastaları yarısından fazlası sağ olduğu için ortanca sağ kalıma ulaşamadı.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

HCC prognozu oldukça kötü olan bir tümördür. Günümüzde standardize edilmiş bir tedavisi yoktur. Sadece sınırlı sayıda hastaya uygulanabilen karaciğer transplantasyonu ile uzun süreli sağ kalım sağlanabilmektedir. HCC farklı bir çok etiolojik faktöre bağlı ortaya çıkabilmesine rağmen ortaya çıkan klinik tablo benzer olmaktadır. Hepatokarsinogenez mekanizmaları, etiolojik faktörlere bağlı olarak farklı süreçler içermektedir. Ancak bu mekanizmalar tam olarak açığa kavuşturulamamıştır. COX-2 sistemi bir çok kanserin oluşum sürecinde rol almaktadır. Hepatokarsinogenezde de COX-2 sisteminin rolü olabileceğini düşündüren çalışmalar vardır. Ancak HBV ve HCC ilişkili HCC' larla, kriptojenik HCC lu vakalarda COX-2 ifadesini karşılaştıran çalışma literatürde mevcut değildir. Bu çalışmada COX-2 ifadesi, etiolojiden bağımsız olarak tüm HCC vakalarında tespit edilmiştir. COX-2 sisteminin farklı hepatokarsinogenez mekanizmalarının ortak bir süreci olduğu düşünülebilir. Bununla beraber klinik olarak hem erken, hem de ileri evrelerde COX-2 ifadesi gözlenmiştir. COX-2 nin karsinogenez sürecinin başlangıcında ve ileri evrelerinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, COX-2 sisteminin HCC tedavisinde etkin olabileceğini gösterebilir. Erken hepatokarsinogenez sürecinde de rol alabildiği düşünülen COX-2' nin HCC oluşumunu ve gelişimini önlemede de anlamı olabilir.

Sonuç olarak, karaciğer transplantasyonu dışında etkili bir tedavisi olmayan HCC da COX-2 sistemine yönelik hedeflenmiş tedavilerin faydalı olabileceği düşünülmektedir. Gerek hastalığın tedavisinde gerekse hastalığın gelişiminin önlenmesinde COX-2 sistemine yönelik tedavilerle ilgili daha geniş çaplı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Haskell CM. Liver. Natural history, diagnosis and staging. Haskell CM ed. 776-86.
2. Bartlett DL, Carr BI, Marsh JW. Cancer of Liver. In : Cancer, Principles and Practice of Oncology. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, 2001:1162-77.
3. Tiribelli C, Melato M, Croce LS, et al. Prevalence of hepatocellular carcinoma and relation to cirrhosis: comparison of two different cities of the world-Tieste, Italy and Chiba, Japan. *Hepatology* 1989;10:998-92
4. Baesley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22707 men in Taiwan. *Lancet* 1981;48:437-47
5. Ozyilkan O, Arslan M, Ozyilkan E. Hepatitis B virus and Hepatitis C virus infections in Turkish patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1996;91(7):1479-80
6. McMahon BJ, London T. Workshop on screening for hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:916-20
7. Okuda K. Hepatocellular carcinomas associated with hepatitis B and C virus infections: are they different? *Hepatology* 1995;22:1883-7
8. Brechot C, Jaffredo F, Lagorge D et al. Impact of HBV, HCV and GBV-C/HGV on hepatocellular carcinomas: result of European concerted action. *J Hepatol* 1998;29:173-83
9. Thorgeirsson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2002;31:339-46.

10. Levrero M. Viral hepatitis and liver cancer: the case of hepatitis C. *Oncogene* 2006;25:3834-47.
11. Furuya K, Nakamura M, Yamamoto Y, et al. Macroregenerative nodule of the liver. A clinicopathological study of 345 autopsy cases of chronic liver disease. *Cancer* 1988;61:99-105
12. Terada T, Ueda K, Nakanuma Y. Histopathological and morphometric analyses of atypical adenomatous hyperplasia of human cirrhotic liver. *Virchows Arch A* 1993; 422:381-8.
13. Bluteau O, Jeannot E, Bioulac-Sage P, et al. Biallelic inactivation of TCF1 in hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2002;32:312-15.
14. Ozturk M. Genetic aspects of hepatocellular carcinogenesis. *Semin Liver Dis* 1999;19:235-42
15. Moradpour D, Wands JR. Molecular Pathogenesis of Hepatocellular Carcinoma. In *Hepatology: A textbook of liver disease*. Zakim D, Boyer TD eds. 4th Edition. 2002. WB Saunders: Philadelphia , 339-46
16. Moradpour D, Blum HE. Pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:477-83
17. Nishida N, Fukuda Y, Komeda T, et al. Amplification and over expression of the cyclin D1 gene in aggressive human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1994;54:3107-10.
18. Merle P, de la Monte S, Kim M, et al. Functional consequences of frizzled-7 receptor overexpression in human hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol* 2004;127:1120-22

19. Aguilar F, Hussain SP, Cerutti P. Aflatoxin B1 induces the transversion of G→T in codon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:8586-90
20. Macdonald GA, Greenson JK, Saito K, et al. Microsatellite instability and loss of heterozygosity at DNA mismatch repair gene loci occurs during hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 1998; 28: 90-7.
21. Nakamoto Y, Guidotti LG, Kuhlen Cv, et al. Immune pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *J Exp Med* 1998;188:341-50.
22. Clevers H. At the crossroads of inflammation and cancer. *Cell* 1989;59:1145-56.
23. Murakami S. Hepatitis B virus X protein: structure, function and biology. *Intervirology* 1999;42:81-99.
24. Szabo E, Paska C, Novak PK, et al. Similarities and differences in hepatitis B and C virus induced hepatocarcinogenesis. *Path Oncol Res* 2004;10:5-11.
25. Ray RB, Steele R, Meyer K, et al. Transcriptional repression of p53 promoter by hepatitis C virus core protein. *J Biol Chem* 1997; 272:10983-6
26. Alisi A, Giambartolomei S, Cupelli F, et al. Physical and functional interaction between HCV core protein and the different p53 isoforms. *Oncogene* 2003;22: 2573-80.
27. Wang F, Yoshida I, Takamatsu M, et al. Complex formation between hepatitis C virus core protein and p21waf1/cip1/sdi1. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 ;273:479-84
28. Jordan R, Wang L, Graczyk TM, et al. Replication of cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus activates PERK and induces endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of MDBK cell. *J Virol* 2002;76:9588-99

29. Kaufman RJ. Stress signaling from the lumen of endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes Dev* 1999;13:1211-33
30. Sumida Y, Nakshima T, Yoh T, et al. Serum the rodoxin levels as an indicator of oxidative stress in patients with hepatitis C virus. *J Hepatol* 2000;33:616-22
31. Gong G, Waris G, Tanveer R, et al. Human hepatitis C virus NSA5 protein alters intercellular calcium levels, induces oxidative stress and activates STAT-3 and NF kappa B. *Prog Natl Acad Sci USA* 2001;98:9599-604
32. Edamoto Y, Hara A, Biernat W, et al. Alterations of RB1, p53, and Wnt pathways in hepatocellular carcinomas associated with hepatitis Ci hepatitis B and alcoholic liver cirrhosis. *Int J Cancer* 2003;106:334-41.
33. Tang RCM, Poon TP, Fan ST. The significance of cyclooxygenase –2 expression in human hepatocellular carcinoma. *Biomed Pharmacother* 2005;59:S311-6
34. Cervello M, Montalto G. Cyclooxygenase in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2006;12:5113-21
35. Tay A, Squire JA, Goldberg H, et al. Assignment of the human prostoglanding-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) gene to 1q25 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 1994;23:718-9
36. Rahman MA, Dhar DK, Yamguchi E, et al. Coexpression of inducible nitric oxide synthase and Cox-2 in hepatocellular carcinoma and surrounding liver: possible involvement of Cox-2 in angiogenesis of hepatitis C virus-positive cases. *Clin Cancer Res* 2001;7:1325-32
37. Cheng As, Chan HL, To KF, et al. Cyclooxygenase-2 pathway correlates with vascular endothelial growth factor expression and tumor angiogenesis in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2004;24:853-60



38. Wu T. Cyclooxygenase-2 in hepatocellular carcinoma. *Cancer Tre Rev* 2006;32:28-44
39. Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO, et al. Cyclooxygenase-2: a pharmacological target for prevention of cancer. *Lancet Oncol* 2001;2:544-51
40. Gasparini G, Longo R, Sarmiento R, et al. Inhibitors of cyclooxygenase-2: a new class of anticancer agents? *Lancet Oncol* 2003;4:605-15
41. Gonzalez FJ. The role of peroxisome proliferator activated receptor alpha in peroxisome proliferation, physiological homeostatic and chemical carcinogenesis. *Adv Exp Med Biol* 1997;422:109-25
42. Cheng ASL, Chan HLY, Leung WK, et al. Expression of HBx and COX-2 in chronic hepatitis B, cirrhosis and hepatocellular carcinoma: implication of HBx in upregulation of COX-2. *Modern Pathol* 2004; 17: 1169-79
43. Waris G, Siddiqui A. Hepatitis C virus stimulates the expression of cyclooxygenase-2 via oxidative stress: Role of prostaglandin E2 in RNA replication. *J Virol* 2005; 79:9725-34
44. Baldwin AS. Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF-kB. *J Clin Investig.* 2001;107:241-6
45. Sengupto S, Jang BC, Wu MT, et al. The RNA-binding protein HuR regulates expression of cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 2003;278:25227-233
46. Kondo M, Yamamoto H, Nagano H, Okami Ji Ito Y, Shimizu J, et al. Increased expression of COX-2 in nontumoral liver tissue is associated with shorter disease-free survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999,5:4005-12

47. Koga H, Sakisaka S, Ohishi M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Sasatomi K et al. Expression of cyclooxygenase-2 in human hepatocellular carcinoma: relevance to tumor dedifferentiation. *Hepatology* 1999; 29:688-96
48. Shiota G, Okubo M, Noumi T, et al. Cyclooxygenase-2 expression in hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterol* 1999;46:407-12 in
49. Bae SH, Jung ES, Park YM, et al. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in hepatocellular carcinoma and growth inhibition of hepatocellular cell lines by a COX-2 inhibitor, NS 398. *Clin Cancer Res* 2001;7:1410-8
50. Leng J, Han C, Demetris AJ, et al. Cyclooxygenase-2 promotes hepatocellular carcinoma cell growth through Akt activation: evidence for SKt inhibition in celecoxib induced apoptosis. *Hepatology* 2003;38:756-68
51. Tang TC, Poon RT, Lau CP, et al. Tumor cyclooxygenase-2 levels correlate with tumor invasiveness in human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005;11:1896-902
52. Callejas NA, Bosca L, Willams CS, et al. Regulation of cyclooxygenase 2 expression in hepatocytes by CCAATT/enhancer-binding proteins. *Gastroenterol* 2000;119:493-501
53. Lara-Pezzi E, Gomez-Gavero MV, Galvez BG, et al. The hepatitis B virus protein promotes tumor cell invasion by inducing membrane-type matrix metalloproteinase-1 and cyclooxygenase-2 expression. *J Clin Invest* 2002;110:1834-8.
54. Akari Y, Okamura S, Hussain SP, et al. Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the Wnt and ras pathways. *Cancer Res* 2003;63:728-34
55. Akriadiadis EA, Llovet JM, Efremidis SC, et al. Hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 1998 ;85 :1319-31

56. Mayoral R, Fernandez-Martinez A, Bosca L, et al. Prostaglandin E2 promotes migration and adhesion in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2005;26:753-61
57. Tian G, Yu JP, Luo HS, et al. Effect of nimesulide on proliferation and apoptosis of human hepatoma SMMC-7721 cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:483-7
58. Hu KQ, Yu CH, Mineyama Y, et al. Inhibited proliferation of cyclooxygenase-2 expressing human hepatoma cells by NS-398 a selective COX-2 inhibitor. *Int J Oncol* 2003;22:752-63
59. Kern MA, Schubert D, Sahi D, et al. Proapoptotic and antiploriferative potential of selective cyclooxygenase -2 inhibitors in human liver tumor cells. *Hepatol* 2002;36:885-94
60. Evans GH, Harries SA, Hobbs KE. Safety of and necessity for needle biopsy of liver tumors. *Lancet* 1987;1:620-3
61. Okuda K, Obata H, Nakajima Y, et al. Prognosis of primary hepatocellular carcinoma 1894;4:3S
62. Llovet JM, Fuster J, Bruix J. Intention to treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: Resection versus transplantation. *Hepatology* 30:1434-1440, 1999.
63. Miyagawa S, Makuuchi M, Kawasaki S, Kazaku T. Criteria for safe hepatic resection. *Am J Surg* 169:589, 1995.
64. Roayaie S, Schwartz M. Liver resection and transplantation for hepatocellular carcinoma. In *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. Perry MC (ed). Alexandria, VA 2005;324-28.
65. Tsuzuki T, Sugioka A, Ueda M, et al. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *Surgery* 1990;107:511,

66. GraziGL, Cescon M, Ravaioli M, et al. Liver resection for hepatocellular carcinoma in cirrhotics and noncirrhotics. Evaluation of clinicopathologic features and comparison of risk factors for long term survival and tumor recurrence in single center. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17[suppl 2]:199
67. Monden M, Sakon M, Gotoh M, et al. Selection of therapeutic modalities for hepatocellular carcinoma in patients with multiple hepatic lesions. *Cancer Chemother Pharmacol* 31: [Suppl]:S 38-44, 1992
68. Chen WT, Chau GY, Lui WY, et al. Recurrent hepatocellular carcinoma after hepatic resection: Prognostic factors and long-term outcome. *Eur J Surg Oncol* 30:414-420, 2004.
69. Steinmuller T, Jonas S, Neuhaus P. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 17 [Supp 2], 138, 2003.
70. Freeman RB. Transplantation for hepatocellular carcinoma: The Milan criteria and beyond. *Liver Transp* 12 [Suppl 2]:8-13, 2006.
71. Karakayali H, Moray G, Sozen H, Dalgıç A, Emiroglu R, Haberal M. Expanded criteria for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma. *Tranplant Proc* 38(2):575-578, 2006.
72. Haberal M, Emiroglu R, Karakayali H, et al. Expanded criteria for hepatocellular carcinoma and liver transplantation. *Int Surg*, in press.
73. Lesurtel M, Müllhaupt B, Pestalozzi BC, et al. Transarteriel chemoembolization as bridge to liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an evidence based analysis. *Am J Transplant* 6(11): 2644-2650, 2006.
74. Mazzaferro V, Battiston C, Perrone S, et al. Radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients awaiting liver transplantation: a prospective study. *Ann Surg* 240:900-909, 2004

75. Oldhafer KJ, Chavan A, Fruhauff NR, et al. Arterial chemoembolisation before liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma: marked tumor necrosis, but no survival benefit? *J Hepatol* 29:953-959, 1998.
76. Schwartz JD, Schwartz M, Mandelli J, Sung M. Neoadjuvant and adjuvant therapy for resectable hepatocellular carcinoma: review of the randomized clinical trials. *Lancet Oncol* 3:593-603, 2002.
77. Lliapi E, Geschwind JH. Image-guided interventions for treatment of hepatocellular carcinoma: Intra-arterial and locoregional ablative techniques. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. Perry MC (ed). Alexandria, VA 2005;318-323.
78. Llovest JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 362: 1907-1917, 2003.
79. De Sanctis JT, Goldberg SN, Mueller PR: Percutaneous treatment of hepatic neoplasms: A review of current techniques. *Cardiovascular Intervent Radiol* 21: 273-296, 1998.
80. Sironi S, Livraghi T, Meloni F, et al. Small hepatocellular carcinoma treated with percutaneous RF ablation: MR imaging follow-up. *Am J Roentgenol* 1999;173:1225-1229.
81. Lin SM, Lin CJ, Lin CC, et al. Radiofrequency ablation improves prognosis compared with ethanol injection for hepatocellular carcinoma  $\leq$  4 cm. *Gastroenterology* 2004;127: 1714-23
82. Abou-Alfa GK. Current and novel therapeutics for hepatocellular carcinoma. In: *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. Perry MC (ed). Alexandria, VA 2004;192-197.

83. Ye1 W, Mok TS, Zee B, et al. A randomized phase III study of doxorubicin versus cisplatin/interferon  $\alpha$ -2b/doxorubisin/Fluorourasil (PIAF) combination chemotherapy for unresectable hepatocellular carcinoma. *J Nat Cancer Inst* 2005; 97(20):1532-38
84. Schwartz JD, Schwartz M, Goldman J, et al. Bevacizumab in hepatocellular carcinoma, in patient without metastasis and without invasion of portal vein. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004( abstr 4088)
85. Patt YZ, Hassan MM, Lozano RD, et al. Durable clinical response of refractory hepatocellular carcinoma to orally administered thalidomide. *Am J Clin Oncol* 23:319-321, 2000.
86. Philip PA, Mahoney M, Thomas J, et al. Phase II Trial of erlotinib (OSI-774) in patients with hepatocellular or biliary cancer *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004 (abstr 4025).
87. Jiang W, Lu Z, He Y, et al. Dihydroprimidine dehydrogenase activity in hepatocellular carcinoma: implication in 5-Flourouracil-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 1997;395-9
88. Chao Y, Chan WK, Birkhofer MJ, et al. Phase II and pharmacokinetic study of pactitaxel therapy for unresectable hepatocellular carcinoma patients. *Br J Cancer* 1998;78:34-9
89. Roayaie S, Haim MB, Emre S, Fishbein TM, Sheiner PA, et al. Comparison of surgical outcomes for hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B versus Hepatitis C: a western experience. *Ann Surg Oncol*, 7, 764-770, 2000
90. Chen TH, Tseng LM, Chau GY, Lui WY, Tsay SH, King KL, et al. Clinicopathologic and prognostic differences between patients with hepatitis B-

- and C-related respectable hepatocellular carcinoma. *J Formos Med Assoc* 2001; 100:443-448,
91. Qui DK, Ma X, Peng YS, Chen XY. Significance of cyclooxygenase-2 expression in human primary hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8;815-7
  92. Cervello M, Daniela F, Florena A, et al. Correlation between expression of cyclooxygenase-2 and the presence of inflammatory cells in human primary hepatocellular carcinoma: Possible role in tumor promotion and angiogenesis. *World J Gastroeterol* 2005;30:4638-43
  93. Sung YK, Hwang SY, Kim JO, Bae HI, Kim JC, Kim MK. The correlation between cyclooxygenase-2 expression and hepatocellular carcinogenesis. *Mol Cells*,17:35-38, 2003
  94. Morinaga S, Yamamoto Y, Noguchi Y, et al. Cyclooxygenase-2 mRNA is upregulated in cirrhotic or chronic hepatitis liver adjacent to hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:1110-5
  95. Iwamoto A, Ikeguchi M, Matsumoto S, Hukumoto Y, Inoue M, Ozaki T et al. tumor cyclooxygenase gene suppresses local immune responses in patients with hepatocellular carcinoma. *Tumori*,92;130-133, 2006