

Hepatoselüler Karsinomların Tanısal Yaklaşımında HepPar-1, Glypican-3 ve AFP Ekspresyonlarının İmmünohistokimyasal Analizi

Immunohistochemical Analysis of HepPar-1, Glypican-3 and AFP Expressions in the Diagnostic Approach of Hepatocellular Carcinomas

 Naile Kökbudak¹,  Zeliha Çelik¹,  Fahriye Kılınc²

¹Konya Numune Hastanesi, Tıbbi Patoloji, Türkiye

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Makale Tarihleri/Article Dates: Gelış Tarihi/Recived: 16 Kasım 2021
Kabul Tarihi/Accepted: 19 Aralık 2021
Yayın Tarihi/Published Online: 23 Aralık 2021

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Naile Kökbudak, Konya Numune Hastanesi, Tıbbi Patoloji, Konya, Türkiye
e mail: naileyaldiz@hotmail.com

Açıklama/Disclosure: Yazarların hiçbirisi, bu makalede bahsedilen herhangi bir ürün, aygıt veya ilaç ile ilgili maddi çıkar ilişkisine sahip değildir. Araştırma, herhangi bir dış organizasyon tarafından desteklenmedi. Yazarlar çalışmanın birincil verilerine tam erişim izni vermek ve derginin talep ettiği takdirde verileri incelemesine izin vermeyi kabul etmektedirler.

ÖZET

Amaç: Karaciğer kanseri yüksek mortalite ile ilişkili ve giderek yaygınlaşan bir malignitedir. En çok tanı alan kanserler içerisinde 6. sıradadır ve kansere bağlı ölüm nedenleri arasında 4. sıradadır. Histopatolojik tip tayini konusunda morfolojik özellikler yanı sıra immünohistokimyasal profil de önem taşımaktadır. HepPar-1, alfa-fetoprotein (AFP) ve Glypican-3 (GPC-3) Hepatoselüler karsinom (HCC) tanısında ve metastatik tümörlerden ayırımında kullanılan başlıca immünohistokimyasal belirteçlerdendir.

Gereçler ve Yöntem: 2019 Ocak – 2021 Ekim tarihleri arasında HCC tanısı almış 101 olguya ait rezeksiyon ve biyopsi materyallerinin Hematoksilen/Eozin ve immünohistokimyasal özellikleri değerlendirildi. HepPar-1, GPC-3 ve AFP sonuçları listelendi. Bu üç belirteç açısından pozitiflik ve negatiflik oranları belirlendi.

Bulgular: 101 olgunun 85 (%84,2)'inde HepPar-1, 76 (%75,2)'sında, GPC-3, 28 (%27,7)'inde AFP pozitifliği. 3 parametrenin de pozitif olduğu 17 (%16,83) olgu, negatif olduğu 4(%3,96) olgu tespit edildi. 2 parametre açısından pozitiflikler değerlendirildiğinde HepPar-1 ve GPC-3 49 (%48,51), HepPar-1 ve AFP 5 (%4,95), AFP ve GPC-3 4 (%3,96) olguda pozitifliği. HepPar-1 ve GPC-3'ün birlikte pozitifliği belirgin oranda yüksek saptandı.

Sonuç: HCC tanısında ve metastatik tümörlerden ayırımında literatürde hepatoid diferansiasyonla ilişkilendirilmiş ve malignite açısından değerli olduğu bildirilmiş HepPar-1, GPC-3 ve AFP gibi immünohistokimyasal belirteçlerin tanısal panelde yer almasının etkili sonuca ulaşmada önemli olacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: AFP, Glypican-3, hepatoselüler karsinom, HepPar-1, karaciğer kanseri

ABSTRACT

Aim: Liver cancer is an increasingly common malignancy associated with high mortality. It is the sixth most common cancer and the fourth the leading cause of cancer-related death worldwide. In histopathological type determination, besides morphological features, immunohistochemical profile is also important. HepPar-1, AFP and Glypican-3 (GPC-3) are the main immunohistochemical markers used in the diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC) and differentiation from metastatic tumors.

Materials and Method: Hematoxylin/Eosin and immunohistochemical properties of resection and biopsy materials of 101 cases diagnosed with HCC between January 2019 and October 2021 were evaluated. HepPar-1, GPC-3 and AFP results are listed. The rates of positivity and negativity were determined for these three markers.

Results: HepPar-1 was positive in 85 (84.2%) of 101 cases, GPC-3 was positive in 76 (75.2%) cases and AFP was positive in 28 (27.7%) cases. There were 17 (16.83%) cases in which all 3 parameters were positive and 4 (3.96%) cases in which they were negative. When the positivity was evaluated in terms of 2 parameters, HepPar-1 and GPC-3 were positive in 49 (48.51%) cases, HepPar-1 and AFP 5 (4.95%) cases, AFP and GPC-3 4 (3.96%) cases. The co-positivity of HepPar-1 and GPC-3 was found to be significantly higher.

Conclusion: We think that the inclusion of immunohistochemical markers such as HepPar-1, GPC-3 and AFP, which have been associated with hepatoid differentiation in the literature and have been reported to be valuable in terms of malignancy, in the diagnosis and differentiation of HCC from metastatic tumors, will be important in achieving an effective result.

Key words: AFP, Glypican-3, hepatocellular carcinoma, HepPar-1, liver cancer



Atıf yapmak için/ Cite this article as: Kökbudak N, Çelik Z, Kılınc F. Hepatoselüler Karsinomların Tanısal Yaklaşımında HepPar-1, Glypican-3 ve AFP Ekspresyonlarının İmmünohistokimyasal Analizi. Mev Med Sci. 2021;1(3): 89-94

“This article is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) (CC BY-NC 4.0)”

GİRİŞ

Karaciğer kanseri yüksek mortalite ile ilişkili ve giderek yaygınlaşan bir malignitedir. Erkeklerde kadınlara göre iki kat fazla görülmektedir (1). En çok tanı alan kanserler içerisinde 6. sırada ve kansere bağlı ölüm nedenleri arasında 4. sırada yer almaktadır (2). Karaciğer kanserlerinin en yaygın türü Hepatit B ve Hepatit C ile ilişkili olan ve genellikle siroz zemininde gelişen Hepatoselüler Karsinom (HCC)'dur (1,3). HCC, hepatoselüler diferansiyasyon gösteren epitel hücrelerinden oluşan karaciğerin primer malignitesidir (2).

Primer karaciğer kanserleri şu şekilde sınıflandırılmaktadır: Hepatoselüler karsinom, intrahepatik kolanjiokarsinom (ICC) ve kombine hepatoselüler ve kolanjiokarsinom (CHC). HCC'yi diğer karaciğer kanser türlerinden ve metastatik tümörlerden ayırt etmek prognoz ve tedavi için önemlidir ancak histopatolojik olarak bu ayırım zorlayıcı olabilmektedir (1,4,5). Histopatolojik tip tayini konusunda morfolojik özellikler yanı sıra immünohistokimyasal profil de önem taşımaktadır (6). Bunun için patoloğlar değerlendirmelerinde sık sık belirli yardımcı tekniklere ve tümör belirteçlerine başvurmaktadır (1). HepPar-1, alfa fetoprotein (AFP) ve Glypican-3 (GPC-3) bunlardan başlıcalarıdır (6).

HepPar-1 mitokondrial üre siklus antijenidir. Genellikle hepatik diferansiyasyon belirteci olarak kullanılır ancak benign / malign ayırımında kullanışlı değildir (7). HepPar-1 az diferansiyasyon HCC'lerde negatif olabileceği gibi ayrıca bazen hepatoselüler neoplazi olmayan durumlarda da ekspresyona edilebilmektedir (5,8). Son on yıldır, HepPar-1 hepatik diferansiyasyon için pozitif bir belirteç olarak giderek daha fazla kullanılmakla birlikte, HCC ve adenokarsinom arasındaki ayırımın en zor olduğu durumlarda az diferansiyasyon hepatoselüler karsinomdaki nispeten düşük hassasiyetinden dolayı faydası sınırlı kalmaktadır. Ek olarak, çoğu adenokarsinom HepPar-1 negatifken, mide, özofagus ve pulmoner kaynaklı adenokarsinomlar güçlü sitoplazmik HepPar-1 boyanması gösterebilmektedir (9).

AFP şeker içeren bir proteindir, yaklaşık 70 kd molekül ağırlığındadır ve her molekül bir tane karmaşık glikolipid zincirden oluşmaktadır. Fetüste, AFP yolk kesesi ve karaciğer tarafından üretilmektedir. Yetişkinlerde, AFP'nin HCC'de üretildiği iyi bilinmektedir. AFP, kronik hepatit ve siroz gibi iyi huylu karaciğer hastalıklarında da artmakta ve bu da AFP serum seviyeleri ile erken evre HCC tanısını zorlaştırmaktadır (10). HCC tanısında sık kullanılan immünohistokimyasal AFP düşük sensitiviteye (%30-50) sahip olduğu ve sıklıkla sadece fokal ekspresyon gösterdiği için küçük biyopsilerde kullanımının sınırlı olduğu bildirilmektedir (9).

GPC-3 birkaç dokuda hücre sağ kalımında hücrenin göçü, çoğalması ve modülasyonu ile ilgili bir heparin sülfat proteoglikandır (11). GPC-3 normalde ekspresyona edilmezken

malign dönüşümle birlikte ekspresyona edilmeye başlamaktadır. Bazı dokularda (mezotelyoma, over, meme ve akciğer kanserlerinde) ise down regülasyon olarak bulunmaktadır (8,12,13). GPC-3 HCC tanısı koymada potansiyel olarak yararlı bir immünohistokimyasal belirteç olarak ortaya çıkmıştır. GPC-3 ile normal karaciğer parankiminde boyanma izlenmezken HCC'lerde %64 ile %90 oranında ekspresyon görülmektedir. Daha da önemlisi, GPC-3 iyi diferansiyasyon HCC'leri ile karşılaştırıldığında az diferansiyasyon HCC'lerinde daha sık boyanmaktadır. Bu durum GPC-3'ün az diferansiyasyon HCC'leri adenokarsinomlardan ayırt etmede faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, GPC-3'ün pulmoner tümörlerde, skuamöz hücreli karsinomda, germ hücreli tümörlerde ve mide adenokarsinomlarının bir subtipi dahil olmak üzere çok çeşitli tümörlerde immünoreaktif olduğu iyi bilinmektedir (9). İyi gelişmiş HCC'lerin %72'sinden fazlasında GPC-3 ekspresyonu izlenirken displastik nodüllerde, normal karaciğerde, hepatik adenomlarda, sirotik karaciğerde GPC-3 ekspresyonu görülmemektedir (6,14).

Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 20.000 yeni olgu ile giderek daha fazla HCC tanısı konulmaktadır. Kronik hepatit C veya B viral enfeksiyonu varlığında HCC tanısı genellikle basittir ve bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme tümörün oldukça karakteristik görünümü göz önüne alındığında güvenilir bir şekilde belirlenebilmektedir (9). Ancak klinik ve histopatolojik özellikleri açısından ayırıcı tanısı güç olan karaciğerdeki kitlesel lezyonlarda patoloğlar değerlendirmelerinde belirli belirteçlerden oluşan bir antikor paneline ihtiyaç duyabilmektedirler. Bu çalışmada HCC tanılı bir dizi olguya ait iğne biyopsisiyle ve rezeksiyon materyallerinden elde edilen karaciğer dokularında AFP, HepPar-1 ve GPC-3 ekspresyonlarının immünohistokimyasal olarak tanınmasını belirlemek, sonuçları literatür verileriyle birlikte değerlendirmek ve rutin patoloji pratiğinde bu belirteçleri incelerken akıldaki tutulması gereken ekspresyon özelliklerini irdelemek amaçlanmıştır.

GEREÇLER VE YÖNTEM

Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarında 2019 Ocak – 2021 Ekim tarihleri arasında HCC tanısı almış rezeksiyon ve biyopsi materyallerinin formalinle sabitlenmiş, arşivlenmiş parafine gömülü doku bloklarından yapılan kesitsel bir çalışmadır. Çalışmaya dahil etmek üzere HCC tanılı 104 olgu tespit edilmiştir. Olgulara ait dokuların Hematoksilen/Eozin kesitleri ve immünohistokimyasal sonuçları gözden geçirilmiştir. 3 belirtecin elde edilebilen immünohistokimyasal sonuçlarına ve olguların klinik bilgilerine göre 101 tanesi çalışmaya dahil edilmiştir. Klinik bilgilerine net olarak ulaşamadığımız 3 olgu çalışmadan dışlanmıştır. Olguların 23'ü (%22,7) rezeksiyon

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen hepatoselüler karsinom örneklerinde immünohistokimyasal HepPar-1, glypican-3 ve AFP sonuçları.

Boyama Sonucu	HepPar-1	GPC-3	AFP
Pozitif	85 (%84,2)	76 (%75,2)	28 (%27,7)
Negatif	15 (%14,9)	24 (%23,8)	35 (%34,6)
Uygulanmamış/Bilinmiyor	1 (%0,9)	1 (%0,9)	38 (%37,7)

(GPC-3: glypican-3, AFP: alfa fetoprotein)

materyali, 78'i (%77,3) iğne biyopsi materyalidir.

HepPar-1, GPC-3 ve AFP immünohistokimyasal belirteçlerinin her biri için tümör hücrelerinin %10'undan fazlasında sitoplazmik boyanma pozitif, hiç boyanmama negatif olarak kabul edilmiştir. Biyopsi ve rezeksiyonlarda immünohistokimyasal belirteçlerin değerlendirilmesi açısından karşılaştırma yapılmamıştır.

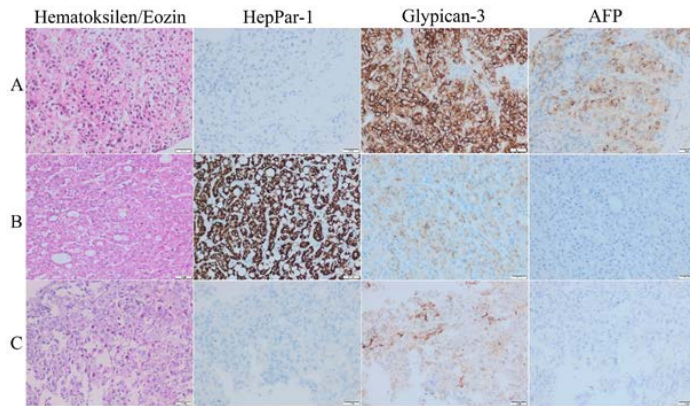
HepPar-1, GPC-3 ve AFP için her biri tek başına, iki belirteç birlikte ve üç belirteç birlikte pozitiflikleri ve üç belirtecin de negatifliği kaydedilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda 22-92 yaş aralığında HCC tanısı almış 101 olgunun 15'ini (%14,8) kadın hastalar, 86'sını (%85,2) erkek hastalar oluşturmaktadır. Bizim çalışmamızda E/K oranı 5,7'dir.

Olguların 100'ünün HepPar-1, 100'ünün GPC-3, 63'ünün AFP sonuçlarına ulaşılmıştır.

HepPar-1 HCC tanısı almış 101 olgunun 85 (%84,2)'inde pozitif ekspresyon gösterirken, 15'inde (%14,9) negatiftir.



Resim 1. Üç farklı hepatoselüler karsinom olgusuna ait karaciğer doku örnekleri (A, B, C) izlenmektedir. Bu örneklerde sırasıyla HepPar-1 negatif, Glypican-3 ve AFP pozitif (A'da), HepPar-1 ve Glypican-3 pozitif, AFP negatif (B'de), HepPar-1 negatif, Glypican-3 pozitif, AFP negatif (C'de) görülmektedir (Hematoksilen/Eozin ve immünohistokimyasal görüntüler 200x büyütme altındadır)

Geriye kalan 1 olguda (%0,9) boyanma sonucuna ulaşılamamıştır.

GPC-3 HCC tanısı almış 101 olgunun 76 (%75,2)'sında pozitif ekspresyon gösterirken, 24'ünde (%23,8) negatiftir. Geriye kalan 1 olguda (%0,9) boyanma sonucuna ulaşılamamıştır.

AFP HCC tanısı almış 101 olgunun 28'inde (%27,7) pozitif ekspresyon gösterirken, 35'inde (%34,6) negatiftir. Geriye kalan 38 olguda (%37,7) boyanma sonucuna ulaşılamamıştır (Tablo 1).

Her üç belirtecin pozitif olduğu 17 (%16,83) olgu, negatif olduğu 4 (%3,96) olgu tespit edilmiştir. 2 belirtecin birlikte pozitif olduğu 58 (%57,42) olgu, tek belirtecin pozitif olduğu 22 (%21,78) olgu tespit edilmiştir.

2 parametre açısından pozitiflikler değerlendirildiğinde HepPar-1 ve GPC-3 49 (%48,51), HepPar-1 ve AFP 5 (%4,95), AFP ve GPC-3 4 (%3,96) olguda pozitifliği. HepPar-1 ve GPC-3'ün birlikte pozitifliği belirgin oranda yüksek saptandı (Tablo 2).

Örnek olarak seçilen üç adet örneğin Hematoksilen/Eozin ve immünohistokimyasal sonuçlarına ait mikroskopik görüntüler Resim 1'de izlenmektedir.

TARTIŞMA

HCC en sık görülen primer karaciğer malignitesidir. Dünya çapında tüm malignitelerin %6'sını oluşturmaktadır. Tahmini yıllık insidansı 500.000'de 1'dir (7). Karaciğer lezyonlarına

Tablo 2. Belirteçlerin boyanma oranları açısından tek başına ve birlikte sonuçları.

Pozitif/Negatif	Belirteçler	n (%)
Tek belirteç pozitif	HepPar-1	15 (14,85)
	GPC-3	6 (5,94)
	AFP	1 (0,99)
2 belirteç pozitif	HepPar-1+GPC-3	49 (48,51)
	HepPar-1+AFP	5 (4,95)
	AFP+GPC-3	4 (3,96)
3 belirteç pozitif	HepPar-1+GPC-3+AFP	17 (16,83)
3 belirteç negatif	HepPar-1+GPC-3+AFP	4 (3,96)
	Toplam	101 (100)

(GPC-3: glypican-3, AFP: alfa fetoprotein)

terapötik yaklaşım, sıklıkla görüntüleme kılavuzluğunda ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) ile elde edilen sınırlı materyal üzerinde yapılan teşhislere dayandığından, HCC'yi diğer karaciğer tümörlerinden ve metastatik adenokarsinomlardan ayırt etmede yardımcı olabilecek işaretleyiciler son derece faydalı olmaktadır (9).

HCC'deki tümör hücreleri morfolojik ve immünohistokimyasal olarak hepatositik diferansiyasyon göstermektedirler. Arjinaz-1 sitoplazmik ve nükleer boyanma paterni göstermektedir. HCC olgularının %45-95'inde sensitiftir. İyi diferansiyasyonlu olgularda bazen negatif olabilmektedir ancak az diferansiyasyonlu HCC'lerde HepPar-1'den daha fazla ekspresyon gözlenmektedir. HepPar-1 sitoplazmik boyanma paterni göstermektedir. HCC olgularının %70-85'inde sensitiftir. İyi diferansiyasyonlu HCC'lerde Arjinaz-1'den daha iyi ekspresyon gözlenmektedir. AFP ise sitoplazmik boyanma paterni göstermektedir. HCC olgularında %30 sensitiftir. İyi diferansiyasyonlu HCC'lerde sıklıkla negatiftir. Polyclonal CEA ve CD10 kanaliküler boyanma paterni göstermektedir. HCC olgularında sırasıyla %45-80 ve %50-75 oranında sensitiftir. Diğer belirteçler göz önüne alındığında bu iki tetkik HCC tanısında daha az kullanışlı görülmektedir (2).

Pour ve ark. yaptıkları çalışma ile HCC'yi diğer karaciğer tümörü türlerinden ayırt etmede HepPar-1 ile karşılaştırıldığında GPC-3'ün boyanmasını, sensitivitesini ve spesifitesini araştırmışlardır. Çalışmaya dahil edilen 66 olgunun 26'sı primer HCC, 4 tanesi intrahepatik kolanjiokarsinom ve 36 tanesi metastatik tümörlerdir. HepPar-1 24/26 primer HCC olgusunda, 2/40 non-HCC olgusunda, GPC-3 ise 19/26 primer HCC olgusunda, 3/40 non-HCC olgusunda pozitif tespit edilmiştir. GPC-3 ve HepPar-1'in boyanmaları bağımsız olarak HCC tanısı ile ilişkili bildirilmiştir. HCC'nin saptanmasında HepPar-1'in sensitivitesi ve spesifitesi %92,5 ve %95 iken, GPC-3'ün sensitivitesi ve spesifitesi %73,1 ve %95,2 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre HepPar-1'in GPC-3'ten 1,3 kat daha fazla HCC'lerin doğru tespiti ile ilişkili olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak GPC-3'ün HCC tanısında yararlı bir belirteç olduğu sonucuna varılmıştır, ancak HepPar-1 kadar hassas olmadığı bulunmuştur. Bu bulgulardan HCC'nin tanısında antikör paneli içinde GPC-3'ün HepPar-1 ile birlikte kullanılması önerilebilir (1). Bizim bulgularımız HepPar-1'in GPC-3'e kıyasla daha yüksek oranda ekspresyon göstermesi ile bu çalışma ile tutarlıdır. Aynı zamanda HepPar-1 ve GPC-3'ün birlikte pozitifliğinin tanısal yaklaşımda değerli olduğu görülmektedir.

Chen ve ark. yaptıkları çalışma ile erken HCC'lerde GPC-3 pozitifliğinin hepatektomi sonrası rekürrensi ile ilişkisini araştırmışlardır. Çalışmaya dahil edilen 55 olgunun 28'inde GPC-3 ekspresyonu tespit edilmiş, 55 olgunun hiçbirinde

AFP ekspresyonu görülmemiştir (6). HCC'lerin AFP ürettiği bilinen bir veri (15) olmasına rağmen Fujioka ve ark.nın çalışmasında da 15 iyi diferansiyasyonlu HCC olgusunun tümünde AFP negatiftir (10). Bizim çalışmamızda AFP ile %28 oranında pozitif ekspresyon izlenmiştir. Chen ve ark.nın çalışmasında 55 hastanın 33'ünde hepatektomi sonrası kalan karaciğerde nüks gelişmiştir. Bu çalışmanın sonucunda GPC-3'ün HCC'lerde yeni bir prognostik faktör olduğu, GPC-3 pozitifliğinin postoperatif metastaz ile ilişkili olabileceği (16), GPC-3 pozitif hastalarda negatif olanlara göre 5 yıllık sağ kalımın daha düşük olduğu ve GPC-3 pozitifliğinin hastalısız sağ kalım için önemli bir prognostik faktör olduğu anlaşılmıştır (6). Çalışmamızın limitasyonlarından biri, yaklaşık son üç yıllık süreçte histopatolojik olarak incelenen karaciğer doku örneklerinin analiz edilmesi, bu nedenle nüks ya da hastalısız sağ kalım açısından olguların klinik verilerinin dahil edilmemesidir. Ancak tanısal katkı açısından bakıldığında; çalışmamız GPC-3'ün HepPar-1 ile birlikte kullanımıyla %48,51 orana ulaşarak değerini öne çıkarmaktadır.

HCC en sık tanı alan kanserlerden biri olmasıyla birlikte karaciğer dokusu en sık metastaz alan dokulardan biridir ve kitlesel lezyonlardan elde edilen iğne biyopsi materyallerinde ayırıcı tanı önemlidir (17). İbrahim ve ark. karaciğer iğne aspirasyon biyopsilerinde HCC'lerin metastatik karsinomlardan ayrımında GPC-3 ve HepPar-1 immünohistokimyasal ekspresyonları üzerine çalışma yapmışlardır. Çalışmada karaciğer iğne aspirasyon biyopsilerinde hazırlanan toplam 48 hücre bloğu (30 HCC, 18 metastatik adenokarsinom) değerlendirmeye alınmıştır. GPC-3; HCC olgularının %97'sinde eksprese edilmiştir. Metastatik karsinomların tamamında negatiftir. HepPar-1; HCC olgularının %93'ünde eksprese edilmiştir. Metastatik karsinomların %11'inde pozitifdir. Bu çalışmada GPC-3 sensitivitesi %96,7, spesifitesi %100 iken HepPar-1 sensitivitesi %93,3, spesifitesi %88,9'dur. Bu çalışmaya göre sitolojik materyallerde yani hücre bloğunda GPC-3'ün yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu gösterilmiştir (8). İbrahim ve ark.nın HepPar-1 ve GPC-3 ekspresyonlarını %90'ın üzerinde ve birbirine yakın oranda bulmasına karşılık, bizim çalışmamızda HepPar-1 ile %84,2 oranında, GPC-3 ile ise %75,2 oranında boyanma ile daha düşük fakat yine birbirine yakın oranda ekspresyon saptanmıştır.

Fujiwara ve ark. İİAB'lerde hepatik diferansiyasyon için arjinaz-1, HepPar-1 ve GPC-3'ün ekspresyonlarını karşılaştırmışlardır. 37 primer HCC ve 61 karaciğeri içeren metastatik adenokarsinom tanılı olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Arginaz-1 HCC'de %57 oranında (21/37) tümörün %50'sinden fazlasında reaktivite olarak tanımlanan yaygın boyanma gösterirken, GPC-3 ile %32 (12/37), HepPar-1 ile %41 (15/37) boyanma izlenmiştir. 7 az diferansiyasyonlu HCC'den 3'ü

(%43) hem arginaz-1 hem de GPC-3 için immünoaktifken, sadece 1'i (%14) HepPar-1 boyanması göstermektedir. Arginaz-1 ekspresyonu pankreas, kolorektal ve meme kaynaklı adenokarsinomlarda görülmektedir ve 2 tane pankreas adenokarsinomunda reaktivite yaygın olarak izlenmiştir (2/15; %13). Arginaz-1 HCC tanısı için İİAB'lerdeki hepatik diferansiasyonda %81 sensitivite ile, HepPar-1'den (%70) veya GPC-3'ten (%54) daha duyarlı bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda Arginaz-1'in HCC'de HepPar-1 veya GPC-3'ten daha yaygın boyama sergileyerek sınırlı İİAB örneklerinde yorumlamayı kolaylaştırdığı görülmüştür. Ancak Arginaz-1, özellikle pankreas kaynaklı adenokarsinomlarda immünoreaktivite gösterdiğinden, hepatik diferansiasyon için tamamen spesifik olamadığı bildirilmektedir (8). Ayrıca Timek ve ark.nın yaptığı çalışmada ise 37 HCC olgusunun 26'sında HepPar-1 ekspresyonu izlenirken bunlardan %81'inde diffüz, %19'unda zayıf boyanma görülmüştür. Buna karşılık metastatik adenokarsinomlarda yalnızca %5 oranında HepPar-1 ekspresyonu tespit edilmiştir (18). Laboratuvarımızda yakın zamanda immünohistokimyasal panele eklenmesi nedeniyle uygulanan biyopsi oranı oldukça düşük olduğundan Arginaz-1 sonuçları bu çalışmaya dahil edilmemiştir.

Fujioka ve ark.nın çalışmasında 3 cm'den küçük çapta 68 HCC olgusunun AFP ve PIVKA-II ekspresyonları immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Kanserli dokularda, ekspresyon oranı PIVKA-II'nin küçük boyutlu HCC'ye daha yüksek özgüllüğünü düşündüren şekilde, PIVKA-II (%50) için AFP (%31)'den daha yüksek bulunmuştur. 68 olgunun 16'sı (%24) hem AFP hem de PIVKA-II için pozitif saptanmıştır ve bu 16 olgunun 8'inde, AFP ve PIVKA-II boyanan bir nodül, fibröz bir septumla net bir şekilde bölünmektedir. Histolojik derecelere göre, PIVKA-II ekspresyonu şu şekilde doğrulanmaktadır: 15 iyi diferansiye HCC'den 2'sinde ve 12 "nodül içinde nodül" tipi iyi farklılaşmış HCC'lerin 6 tanesinin iyi diferansiye bileşeninde ekspresyon göstermiştir. İyi farklılaşmış HCC'lerde AFP ekspresyonu görülmemiştir, ancak 40 orta derecede farklılaşmış HCC'nin 16'sında (%40) ve 12 "nodül içinde nodül" tipi iyi farklılaştırılmış HCC'lerin 3'ünün orta derecede farklılaşmış bileşeninde ekspresyon izlenmiştir. Doku-AFP-negatif olgularla karşılaştırıldığında, doku-AFP-pozitif HCC'lerin daha büyük bir tümör boyutuna, daha yüksek portal ven invazyonu sıklığına ve intrahepatik metastaza, yüksek Ki-67 proliferasyon indeksine ve daha düşük oranda sağ kalıma sahip olduğu görülmüştür. Bu nedenle, doku-AFP-pozitif HCC'lerin, AFP-negatif ve PIVKA-II-pozitif olan HCC'lerden biyolojik olarak daha malign olabileceği düşünülmüştür (10). Bizim çalışmamızda PIVKA-II kullanılmamıştır. AFP ekspresyonu sadece 1 olguda tek başına pozitif saptanmış olup HepPar-1 ve GPC-3 ile birlikte bakıldığında 27 olguda ikili

veya üçlü pozitiflik şeklinde eşlik ettiği görülmüştür. AFP'nin tek başına pozitifliğine göre HepPar-1 ve GPC-3 ile birlikte kullanımıyla tanılabilir yararlılığının arttığı göze çarpmaktadır.

Li ve ark.nın yaptığı çalışmanın amacı AFP negatif hepatit B ile ilişkili HCC'li hastalarda GPC-3'ün tanılabilir değerini değerlendirmektir. 426 opere olmuş ve 179 iğne biyopsisi alınmış hepatit B ile ilişkili HCC hastalarının karaciğer dokusunda GPC-3 ekspresyonu immünohistokimyasal olarak test edilmiştir. Aynı zamanda serum GPC-3 ve AFP değerleri de ölçülmüştür. Opere HCC numuneleri arasında GPC-3 ekspresyonunun %80'i pozitifken, ancak parakarsinomatöz ve sirotik nodüllerde negatif olarak tespit edilmiştir. Bu hastalardan, GPC-3 ekspresyonu iyi diferansiye HCC'lerde %81,2 (147/181), orta diferansiye HCC'lerde %81,1 (86/106), kötü diferansiye HCC'lerde %77,7 (108/139) oranında pozitif olarak izlenmiştir. Biyopsi dokularında GPC-3 pozitif ekspresyonu %74,9'dur. Opere dokularda ve iğne biyopsisi örnekleri arasında GPC-3 ekspresyon farkı görülmemiştir. GPC-3 ekspresyonu serum AFP negatif olan hastalarda %77,4 (328/424) ve AFP'si 400 µg/L'ye eşit ya da daha yüksek olan hastaların %81,2'sinde (147/181) saptanmıştır. AFP'nin sensitivitesi %25,4'tür. Bu çalışmada serum GPC-3 seviyesi, serum AFP negatif hastaların %48,8'inde pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma ile GPC-3'ün yüksek ve spesifik ekspresyonunun HCC dokusunda tanılabilir bir belirteç olduğu ve AFP negatif HCC ve sirotik nodüller arasında ayırıcı tanıda yardımcı olabileceği doğrulanmıştır (19). Çalışmamızda serum AFP düzeylerine bakılmaksızın AFP ve GPC-3 sonuçlarına bakıldığında; AFP negatif 24 olguda GPC-3 pozitif, AFP pozitif 23 olguda GPC-3 pozitif saptanmış olup 24 olguda GPC-3'ün AFP'ye tanılabilir açıdan yardımcı olduğu sonucuna ulaşılabılır.

SONUÇ

Karaciğer lezyonlarının tanısı patolojinin zor alanlarından birisidir, histopatolojik ve sitolojik özelliklere ne kadar dikkat edilse de günümüzde kesin tanıya varabilmek için yardımcı araçlara ihtiyaç duyulmaktadır. İmmünohistokimya; bu konuda kullanılan, en hızlı sonuç veren ve en fazla öneme sahip yöntemlerden birisidir. Çalışmamızın sonucunda hali hazırda günlük rutinde kullanılan bazı immünohistokimyasal belirteçlerin tanımlamalarda yardımcı olabileceği görülmektedir.

Bu çalışmada; HCC tanısı almış olan hastalarda literatüre göre HepPar-1 ekspresyonunun GPC-3'e kıyasla daha fazla oranda olduğu görülmektedir. HCC'lerin AFP ürettiği bilinen bir veridir. Bazı çalışmalarda AFP, HCC olgularının tamamında negatif olmasına rağmen çalışmamızda %28 oranında pozitif ekspresyon göstermiştir. Nüks ya da hastalısız sağ kalım oranlarının dahil edilmemesi çalışmanın limitasyonlarından biridir. Diğer bir limitasyon AFP uygulanan örnek

sayısının düşük olmasıdır. Tümör heterojenitesi göz önüne alındığında iğne biyopsi materyallerinde elde edilen negatif immünohistokimyasal sonuçların tümörün tamamını temsil etmiyor olabileceğinin, pozitif sonuçların da ekstrahepatik bir tümörü kesin ekarte ettirmeyeceğinin akılda tutulması önem arz etmektedir. Ayrıca tümörün histolojik derecesinin yüksek ya da düşük olması ile belirteçlerin değişkenlik gösterebileceği de bilinmektedir. Bu nedenle HCC tanısına ulaşırken ve metastatik bir tümörden ayırt etmede tek bir belirteç yerine mümkün olduğunca panel uygulanması ve immünohistokimyasal sonuçların morfolojik, klinik, radyolojik ve serolojik bulgularla birlikte bütün olarak değerlendirilmesi efektif yaklaşım olarak öne çıkmaktadır. Bu çalışma ile HepPar-1, GPC-3 ve AFP'nin tek başına, ikisi ve üçü birlikte pozitiflikleri karşılaştırılmıştır; AFP'nin tek başına ya da antikor paneli içerisinde kullanımının HCC tanısında yeterince efektif olmadığı, ancak bunun aksine HepPar-1 ve GPC-3 ekspresyonlarının HCC için tanısal açıdan daha değerli belirteçler olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmamız HCC'nin tanısında ve metastatik tümörlerden ayırımında antikor paneli içinde öncelikle GPC-3 ve HepPar-1'in birlikte yer alması gerektiğini göstermektedir.

Çıkar Çatışması: Çalışmada herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Finansal Çıkar Çatışması: Çalışmada herhangi bir finansal çıkar çatışması yoktur.

Sorumlu Yazar: Naile Kökbudak, Konya Numune Hastanesi, Tıbbi Patoloji, Konya, Türkiye
e-mail: naileyaldiz@hotmail.com

KAYNAKLAR

1. Pour AM, Masir N, Rose IM, et al. Glypican-3 is useful but not superior to HepPar-1 in differentiating hepatocellular carcinoma from other liver tumours. *Malaysian J Pathol* 2016; 38(3):229-33.
2. Dilani L, Valeria AW, Reiko W, et al. WHO Classification of Tumors, Digestive System Tumours, 5th edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2019; 229-39.
3. Chen D, Li Z, Song Q, et al. Clinicopathological features and differential diagnosis of hepatocellular carcinoma in extrahepatic metastases. *Medicine* 2018;97(50):1-7.
4. Bhattacharya JB, Jain SL, Devi S, et al. The Role of Immunocytochemical Markers to Differentiate Primary from Secondary Neoplastic Hepatic Masses: A Diagnostic Challenge on Cytology. *Turk Patoloji Derg* 2021;37:196-202.
5. Atta IS. Efficacy of expressions of Arg-1, Hep Par-1, and CK19 in the diagnosis of the primary hepatocellular carcinoma subtypes and exclusion of the metastases. *Histol Histopathol* 2021;18-361.
6. Chen I, Ariizumi S, Nakano M, et al. Positive glypican-3 expression in early hepatocellular carcinoma predicts recurrence after hepatectomy. *J Gastroenterol* 2014;49:117-25.
7. Ibrahim TR, Abdel-Raouf SM, et al. Immunohistochemical Study of Glypican-3 and HepPar-1 in Differentiating Hepatocellular Carcinoma from Metastatic Carcinomas in FNA of the Liver. *Pathol Oncol Res* 2015;21:379-87.
8. Fujiwara M, Kwok S, Yano H, et al. Arginase-1 is a more sensitive marker of hepatic differentiation than HepPar-1 and glypican-3 in fine-needle aspiration biopsies. *Cancer Cytopathology* 2012;120(4):230-7.
9. Fujioka M, Nakashima Y, Nakashima O, et al. Immunohistologic Study on the Expressions of alpha-Fetoprotein and Protein Induced by Vitamin K Absence Antagonist II in Surgically Resected Small Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 2001;34(6):1128-34.
10. Wang XY, Degos F, Dubois S, et al. Glypican-3 expression in hepatocellular tumors: Diagnostic value for preneoplastic lesions and hepatocellular carcinomas. *Hum Pathol* 2006;37:1435-41.
11. Shirakawa H, Suzuki H, Shimomura M, et al. Glypican-3 expression is correlated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2009;100:1403-7.
12. Morford LA, Davis C, Jin L, et al. The oncofetal gene glypican 3 is regulated in the postnatal liver by zinc fingers and homeo boxes 2 and in the regenerating liver by alpha-fetoprotein regulator 2. *Hepatology* 2007;46:1541-7.
13. Ligato S, Mandich D, Richard W, et al. Utility of glypican-3 in differentiating hepatocellular carcinoma from other primary and metastatic lesions in FNA of the liver: An immunocytochemical study. *Mod Pathol* 2008;21:626-31.
14. Kandil D, Cooper K, et al. Glypican-3 a novel diagnostic marker for hepatocellular carcinoma and more. *Adv Anat Pathol* 2009;16:125-9.
15. Yamauchi N, Watanabe A, Hishinuma M, et al. The glypican 3 oncofetal protein is a promising diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Mod Pathol* 2005;18:1591-8.
16. Anatelli F, Chuang S, Yang X, et al. Value of glypican 3 immunostaining in the diagnosis of hepatocellular carcinoma on needle biopsy. *Am J Clin Pathol* 2008;130:219-23.
17. Shiran MS, Isa MR, Sherina MS, et al. The utility of hepatocyte paraffin-1 antibody in the immunohistochemical distinction of hepatocellular carcinoma from cholangiocarcinoma and metastatic carcinoma. *Malays J Pathol* 2006;28(2):87-92.
18. Timek DT, Shi J, Liu H, et al. Arginase-1, HepPar-1 and Glypican-3 are the most effective panel of markers in differentiating hepatocellular carcinoma from metastatic tumor on fine needle aspiration specimens. *Am J Clin Pathol* 2012;138:203-10.
19. Li B, Liu H, Shang HW, et al. Diagnostic value of glypican-3 in alpha feto protein negative hepatocellular carcinoma patients. *African Health Sciences* 2013;13(3):703-9.