



**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HEPATOSELÜLER KARSİNOM İLE RESOLVİN D1 ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**Arş. Gör. Dr. Züleyha ERDİN**

**UZMANLIK TEZİ**

**KIRIKKALE**

**2019**

**T.C.**  
**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HEPATOSELÜLER KARSİNOM İLE RESOLVİN D1 ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**Arş. Gör. Dr. Züleyha ERDİN**

**İÇ HASTALIKLARI**  
**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Dr. Öğr. Üyesi Özlem GÜL UTKU**

**KIRIKKALE**

**2019**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Hepatoselüler karsinom ile resolvin D1 arasındaki ilişki” isimli çalışma, aşağıdaki jüri tarafından UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:03.07.2019

**İMZA**

Dr. Öğr. Üyesi Özlem GÜL UTKU  
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Gastroenteroloji Bilim Dalı

Jüri Başkanı

**İMZA**

Prof. Dr. Uğur ÇOŞKUN  
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı

Üye

**İMZA**

Doç. Dr. İsmail Hakkı KALKAN  
TOBB ETÜ Tıp Fakültesi  
Gastroenteroloji Bilim Dalı

Üye

## TEŐEKKÜR

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimimde emeği olan tüm hocalarıma, tezi hazırlamamda büyük emeği olan tez hocam Dr. Öğr. Üyesi Özlem GÜL UTKU başta olmak üzere Prof. Dr. Üçler KISA'ya, Doç. Dr. Bülent BAKAR'a ve emeği geçen diğer tüm hocalarıma, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Dr. Merve ŞANLIER, Dr. Ayşe ÖNAL, Dr. Nihal YAKUT, Dr. Esra EMİN ve Dr. Büşra DELİGÖZ'e, her zaman desteğini hissettiğim dostum Elif PATİR'a, ömür boyu benden desteğini esirgemeyen annem, babam, abilerime ve her zaman her anımda yanımda olan canım eşim Dr. Rıdvan ERDİN'e teşekkürü borç bilirim.

Dr. Züleyha ERDİN

Kırıkkale, 2019

## ÖZET

**Hepatoselüler karsinom ile resolvin D1 arasındaki ilişki, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2019.**

**Giriş ve Amaç:** Karaciğer kanseri, kansere bağlı ölümlerde 2. sıradadır ve hepatoselüler karsinom (HCC), karaciğerin en sık görülen primer tümörüdür. Hepatoselüler karsinom, sirotik karaciğerde inflamasyon zemininde gelişmektedir. Çalışmamızın amacı, rezolüsyonda görevli lipid mediyatörü olan resolvin D1'in azalması ile hepatokarsinogenez ilişkisini saptamaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya Mart 2018 ile Haziran 2019 tarihleri arasında kliniğimizde takipli olan 30 HCC hastası, 30 sirozlu hasta, 30 sağlıklı kişi alındı. Hastaların rutin tetkikleri hastane sisteminden kaydedildi. Serum resolvin D1 ölçümü için alınan kan örnekleri -80 C'de buzdolabında saklandı. Toplanan bu kanlardan ELİSA tekniği kullanılarak resolvin D1 düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Çalışmamızda resolvin D1 düzeyi HCC'li grupta  $1.71 \pm 1.46$ , sirozlu grupta  $3.63 \pm 2.92$  ve sağlıklı kontrol grubunda  $6.24 \pm 3.18$  ölçüldü. 3 grup arasında anlamlı düzeyde fark saptandı. HCC'li grupta sirozlu gruba göre, sirozlu grupta sağlıklı kontrol grubuna göre resolvin D1 düzeyi daha düşük bulundu. Çalışmamızda resolvin D1 düzeyi,  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) düzeyi ve tümör evresi ile negatif korelasyon gösterdi.

**Sonuç:** Rezolüsyonda görevli lipit mediyatörlerinin azalması hepatoselüler karsinom patogenezinde rol oynayan pro-inflamatuar sitokinleri artırmaktadır. Resolvin D1'in azalması kronik inflamasyon ve hepatokarsinogenezi tetikleyebilir. Resolvin D1, sirotik hastaların HCC'ye progresyonunu öngörmede klinik pratikte önemli tanısal katkı sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Hepatoselüler karsinom, siroz, pro-inflamatuar sitokinler, AFP, resolvin D1

## **ABSTRACT**

**The relationship between hepatocellular carcinoma and resolvin D1,**  
**Department of Internal Medicine Kırıkkale University Medicine Faculty,**  
**Specialist Thesis, Kırıkkale, 2019.**

**Introduction and Aims:** Liver cancer is the second most common cause of cancer death and hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common primary tumor of the liver. Hepatocellular carcinoma develops on the basis of inflammation in cirrhotic liver. The aim of our study was to determine the relationship between the decrease in resolvin D1, the lipid mediator involved at resolution, and hepatocarcinogenesis.

**Materials and Methods:** Thirty patients with HCC, 30 patients with cirrhosis and 30 healthy subjects followed in our clinic between March 2018 and June 2019 were included in the study. Routine laboratory results of the patients were recorded from the hospital system. Blood samples for serum resolvin D1 measurement were stored in the refrigerator at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Resolvin D1 levels were measured by ELISA technique.

**Results:** Resolvin D1 levels were  $1.71 \pm 1.46$  in the HCC group,  $3.63 \pm 2.92$  in the cirrhosis group, and  $6.24 \pm 3.18$  in the healthy control group. There was a significant difference between the 3 groups. Resolvin D1 levels were lower in the HCC group than in the cirrhotic group and in the cirrhotic group compared to the healthy control group. In our study, resolvin D1 level was negatively correlated with  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) level and tumor stage.

**Conclusion:** Reduction of lipid mediators involved in resolution increases the pro-inflammatory cytokines involved in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. Decrease in resolvin D1 may trigger chronic inflammation and hepatocarcinogenesis. Resolvin D1 will provide an important diagnostic contribution in clinical practice to predict the progression of cirrhotic patients to HCC.

**Keywords:** Hepatocellular carcinoma, cirrhosis, pro-inflammatory cytokines, AFP, resolvin D1

## İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	12
2. GENEL BİLGİLER .....	13
2.1. HEPATOSSELÜLER KARSİNOM.....	13
2.1.1. EPİDEMİYOLOJİ .....	13
2.1.2. ETİYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ .....	13
2.1.3. HEPATOSSELÜLER KARSİNOM PATOFİZYOLOJİSİ .....	15
2.1.4. TANI.....	18
2.1.5. EVRELEME .....	21
2.1.6. TEDAVİ.....	22
2.2. LİPİT MEDİYATÖRLER, İNFLAMASYON VE KARSİNOGENEZ .....	25
2.2.1. ÇOKLU DOYMAMIŞ YAĞ ASİTLERİ .....	25
2.2.2. İNFLAMATUAR LİPİT MEDİYATÖRLERİ .....	27
2.2.3. ANTI-İNFLAMATUAR LİPİT MEDİYATÖRLERİ .....	29
2.3. RESOLVİN D1 .....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	34
3.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....	37
4. BULGULAR.....	39
5. TARTIŞMA .....	55
6. SONUÇ.....	60

## SİMGELER VE KISALTMALAR

**HCC:** Hepatoselüler Karsinom

**AFP:**  $\alpha$ -fetoprotein

**USG:** Ultrasonografi

**TNF- $\alpha$ :** Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$

**LOX:** Lipooksijenaz

**COX:** Siklooksijenaz

**DNA:** Deoksiribo Nükleik asit

**HBV:** Hepatit B Virüsü

**HCV:** Hepatit C Virüsü

**HDV:** Hepatit Delta Virüsü

**HBeAg:** Hepatit B e Antijeni

**ALT:** Alanin Transaminaz

**ALP:** Alkalin Fosfataz

**GGT:** Gama Glutamil Transferaz

**T. Bil:** Total Bilirubin

**NASH:** Non-alkolik Steatohepatit

**APC:** Antijen Sunan Hücre

**KC:** Kuppfer hücreleri

**LSEC:** Karaciğer Sinüzoidal Endotel Hücreleri

**MHC:** Major Histocompatibility Complex

**TGF- $\beta$ :** Transforming Growth Faktör

**PD-1:** Programlanmış Ölüm Reseptörü 1

**PD-L1/L2:** Programlanmış Ölüm Reseptör Ligandı 1/2

**CTLA-4:** Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4

**Treg:** T Regülatuar Hücre

**IL:** İnterlökin

**CSC:** Kanser Kök Hücresi

**LPC:** Karaciğer Progenitör Hücreleri

**TAM:** Tümör İlişkili Makrofajlar

**ROS:** Reaktif Oksijen Radikalleri

**NO:** Nitrik Oksit

**CCL:** Chemokine (C-C motif) Ligand

**STAT-3:** Signal transducer and activator of transcription-3

**NF- $\kappa$ B:** Nükleer Faktör Kappa B

**IKK:** I $\kappa$ B kinaz kompleksleri

**LPS:** Lipopolisakkarit

**BT:** Bilgisayarlı Tomografi

**MR:** Manyetik Rezonans

**FDG-PET:** Florodeoksiglikoz-Pozitron Emisyon Tomografisi

**CC:** Kolanjiyoselüler Karsinom

**TNM:** Tümörün Özellikleri (T), Lenf Nodu (N) ve Metastaz (M)

**BCLC:** Barcelona Klinik Karaciğer Kanseri Sistemleri

**CLIP:** Karaciğer İtalyan Programı Skoru

**PT:** Protrombin Zamanı

**INR:** International Normalized Ratio

**TAKE:** Transarterial Kemoembolizasyon

**TARE:** Transarterial Radyoembolizasyon

**SBRT:** Stereotaktik Vücut Radyasyon Terapisi

**BSC:** En İyi Bakım Tedavisi

**RFA:** Radyofrekans Ablasyon



**MWA:** Mikrodalga Ablasyon

**OLT:** Ortotopik karaciğer transplantasyonu

**VEGFR:** Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör Reseptör

**PDGFR:** Platelet Kaynaklı Büyüme Faktör Reseptör

**SHARP:** Sorafenib Hepatocellular Carcinoma Assessment Randomized Protocol

**STORM:** Adjuvant sorafenib for hepatocellular carcinoma after resection or ablation

**CTLA:** The cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen

**PUFA:** Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

**EPA:** Eikasopentaneik Asit

**DHA:** Doksoheksanoik Asit

**AA:** Araşidonik Asit

**PG:** Prostaglandinler

**TX:** Tromboksanlar

**LT:** Lökotrienlerin

**NSAID:** Non-steroidal anti-inflamatuar ilaç

**CYP:** Sitokrom P450

**EET:** Epoksi-eikosatrienoik Asit

**HETE:** Hidroksieikoatetraenoik Asit

**PI3K:** Fosfatidil inositol 3 kinaz

**MAPK:** Mitojenle aktive olan protein kinaz

**HPETE:** Hydroperoxyeicosatetraenoic Asit

**FLAP:** 5-LOX aktifleştirici protein

**PMNL:** Polimorfo nükleer lökosit

**SPM:** Specialized pro-resolving lipid mediators

**LXA4 ve ATL:** Lipoksin A4 ve aspirin ile tetiklenen lipoksin

**PPAR:** Peroxisome proliferator-activated reseptör

**GPCR:** G protein ilişkili reseptörler

**ALX/FPR2:** Lipoksin A4 reseptörü/formil peptid reseptörü

**GPR32:** DRV1, resolvin D1 reseptörü

**IFN- $\gamma$ :** İnterferon gama

**Th:** T helper

**Ig:** İmmüoglobulin

**p-ERK:** Extracellular-signal-regulated kinase

**p-JNK:** C-Jun N-terminal kinase

**miRNA:** mikroRNA

**Real-time PCR:** Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

**ELİSA:** Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

**NLO:** Nötrofil Lenfosit Oranı

**CRP:** C Reaktif Protein

**MELD:** Model for End-Stage Liver Disease

**ROC:** Receiver Operating Characteristic

**SLE:** Sistemik lupus eritematozus

**KBH:** Kronik böbrek hastalığı

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1:</b> TNM Evrelemesi .....	21
<b>Tablo 2:</b> Child-Pugh Sınıflaması.....	22
<b>Tablo 3:</b> BCLC Evrelemesi.....	22
<b>Tablo 4:</b> Resolvin D1'in standart dilüenti ile hazırlanış formülleri .....	36
<b>Tablo 5:</b> Demografik özellikler.....	39
<b>Tablo 6:</b> Hastalık etyolojisi, evre, Child-Pugh sınıflaması ve asit .....	40
<b>Tablo 7:</b> MELD skoru ve tümör boyutu.....	41
<b>Tablo 8:</b> Biyokimyasal Değerler .....	42
<b>Tablo 9:</b> Gruplar arasındaki farklılığın değerlendirilmesi.....	46
<b>Tablo 10:</b> Gruplara ait parametrelerin özgünlük ve duyarlılık dereceleri .....	48
<b>Tablo 11:</b> Gruplara ait parametrelerin tanısal değeri .....	50
<b>Tablo 12:</b> Gruplara ait parametrelerin tanısal değer karşılaştırmaları.....	51



## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1:</b> Hepatokarsinogenezde PD-1 ve CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4) aracılığı ile T hücre inhibisyonu .....	16
<b>Şekil 2:</b> İnflamatuar yolların aktivasyonu ve hepatokarsinogenez .....	17
<b>Şekil 3:</b> Sirozik karaciğerde saptanan nodüle yönelik algoritm .....	19
<b>Şekil 4:</b> BCLC evreleme sistemine göre HCC aşamalarında tedavi seçenekleri.....	23
<b>Şekil 5:</b> Yağ asitleri; doymuş yağ asidi (stearik asit), tekli doymamış yağ asidi (oleik asit), çoklu doymamış yağ asidi (linoleik asit) .....	25
<b>Şekil 6:</b> n-3 ve n-6 çoklu doymamış yağ asitleri (PUFAs), araşidonik asit (AA), eikosapentaneik asit (EPA) ve doksoheksanoik asit (DHA).....	26
<b>Şekil 7:</b> Araşidonik asit (AA) metabolizması .....	28
<b>Şekil 8:</b> Akut inflamasyonda lipid mediyatörlerinin sentezi. ....	29
<b>Şekil 9:</b> A. Lipoksin A4 (LXA4) ve ATL sentezi, B. Resolvin E1 sentezi, C. Resolvin D1 ve Protektin sentezi.....	30
<b>Şekil 10:</b> Lenfosit sayısının gruplara göre dağılım grafiği .....	43
<b>Şekil 11:</b> Resolvin D1 düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği.....	44
<b>Şekil 12:</b> Alfa-fetoprotein düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği.....	44
<b>Şekil 13:</b> Alanin aminotransferaz düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği .....	45
<b>Şekil 14:</b> Gama-glutamil transferaz düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği.....	45
<b>Şekil 15:</b> Siroz hastalarını kontrol grubundan ayırt edebilen Resolvin D1 değişkenine ait ROC-Curve grafiği.....	51
<b>Şekil 16:</b> Siroz hastalarını kontrol grubundan ayırt edebilen Alfa-fetoprotein değişkenine ait ROC-Curve grafiği.....	52
<b>Şekil 17:</b> HCC hastalarını sağlıklı kişilerden ayırt edebilen Resolvin D1 değişkenine ait ROC-Curve grafiği.....	53
<b>Şekil 18:</b> HCC hastalarını siroz hastalarından ayırt edebilen Alfa-fetoprotein değişkenine ait ROC-Curve grafiği.....	54

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer kanseri dünyada en sık görülen 5. kanser ve kansere bağlı ölümlerde 2. sıradadır. Hepatoselüler karsinom (HCC), karaciğer kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Hastaların çoğu tanı aldığı anda ileri evredir, tedavi yöntemleri ve tedavi şansı sınırlıdır. Beş yıllık sağkalımı %10'dan azdır.

Hepatoselüler karsinom gelişiminden, gelişmekte olan ülkelerde en sık Hepatit B enfeksiyonu, gelişmiş ülkelerde ise en sık Hepatit C enfeksiyonu ve alkol kullanımı sorumludur. HCC'ye erken tanı koymak için risk grubundaki hastalar düzenli olarak  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) ve ultrasonografi (USG) ile taranmalıdır. AFP, kanser kök hücrelerinden salınan bir biyobelirteç olup erken tanıda kullanılmaktadır.

Hepatoselüler karsinom tanısı alan hastaların %90'ında siroz mevcuttur. Sirozun en sık nedenleri viral hepatitler ve alkoldür. Sirotik karaciğerde pro-inflamatuar sitokinler aracılığı ile; inflamasyona bağlı metabolik ve oksidatif hasar, nekroz, tekrarlayan kompanseuar rejenerasyon olmaktadır. Bunların sonucunda biriken nokta mutasyonlar ve genetik hatalar tümör süpressör genlerin baskılanmasına, proto-onkogenlerin aktivasyonuna neden olur.

İnflamasyonun ideal sonucu olan rezolüsyon yolaklarında özel lipid mediyatörleri mevcuttur. Bu lipid mediyatörleri ile ilgili yolaklarda eksiklik ya da bozukluk olması kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezinde yer alır.

Rezolüsyonda görevli lipid mediyatörü olan resolvin D1, nötrofil kemotaksisini azaltıp makrofaj eferositozu artırarak doğal anti-mikrobiyal eylemleri uyarır. Resolvin D1, makrofajlarda tümör nekrozis faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) salınmasını azaltır. 5-LOX ve COX-2 (5-lipooksijenaz ve siklooksijenaz-2) baskılanmasını sağlayarak pro-inflamatuar sitokinlerin sentezini azaltır. Hepatositlerde DNA hasarını ve oksidatif radikalleri azaltarak, nekroinflamatuvar karaciğer hasarını azaltmaktadır. Resolvin D1'in azalması, hem kronik inflamasyonu hemde pro-inflamatuar sitokinler aracılığı ile hepatokarsinogenez oluşumunu tetikler.

Çalışmamızda hepatoselüler karsinom geliştiren sirotik hastalarda, geliştirmeyen hastalara ve normal popülasyona göre, resolvin D1'in hepatoselüler karsinom patogenezindeki rolünü ortaya koymayı ve AFP belirteci ile karşılaştırmayı amaçladık. Çalışmamız hepatoselüler karsinom ve rezolüsyon mediyatörü olan resolvin D1 arasındaki ilişkiyi gösteren ilk klinik çalışmadır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. HEPATOSELÜLER KARSİNOM**

Karaciğer kanseri, dünya genelinde en yaygın beşinci kanser türüdür ve kansere bağlı ölümlerin ikinci en sık nedenidir. Dünya genelinde yılda 854.000 yeni vaka ve 810.000 ölümle tüm kanserlerin %7'sini oluşturmaktadır. Hepatoselüler karsinom (HCC), primer karaciğer kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturur (1, 2).

#### **2.1.1. EPİDEMİYOLOJİ**

Hepatoselüler karsinom insidansı, yaş ilerledikçe artar ve 70 yaş civarında zirveye çıkar (3). HCC'nin görülme sıklığı, erkeklerde kadınlardan daha fazla olup, erkek/kadın oranı 2-2.5/1'dir (4). Karaciğer kanseri insidansının dağılımı dünya genelinde değişmektedir. HCC vakalarının %80'inden fazlası Sahra altı Afrika ve Doğu Asya'da görülmektedir (> 20/100.000). Güney Avrupa ülkeleri (İspanya, İtalya ve Yunanistan gibi) orta insidans seviyelerine (10-20/100.000) sahipken, Kuzey Amerika, Güney Amerika, Kuzey Avrupa ve Avustralya'da HCC görülme sıklığı düşüktür (<5/100.000) (5). Ülkemizde HCC sıklığı, Sağlık Bakanlığı verilerine göre 2003 yılında 0,85/100.000, 2009 yılında ise erkeklerde 2,1/100.000, kadınlarda 1,2/100.000 olarak saptanmıştır (6).

#### **2.1.2. ETİYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ**

Hepatoselüler karsinomun yaklaşık %90'ında etiyolojik neden bilinmektedir ve en sık nedenleri sırasıyla kronik hepatit B enfeksiyonu (HBV), kronik hepatit C enfeksiyonu (HCV) ve alkol kullanımındır. Daha nadir olarak otoimmün hepatit,  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği, kalıtsal hemokromatoz ve bazı porfirialar da neden olabilir (5). Hepatoselüler karsinom için risk faktörleri bölgelere göre değişmektedir. Afrika ve Doğu Asya'da en sık sebep kronik HBV enfeksiyonudur (%60). Batı ülkelerinde ise majör risk faktörü kronik HCV enfeksiyonudur ve HBV, HCC'li hastaların sadece %20'sinde görülmektedir. Dünya genelinde, HCC vakalarının yaklaşık %54'ü HBV enfeksiyonuna (400 milyon kişi), %31'i HCV enfeksiyonuna (170 milyon kişi) ve %15'i diğer nedenlere bağlıdır (1).

Kronik hepatiti olan hastalarda siroz gelişme riski yıllık %1'dir. Siroz HCC için önemli bir risk faktörüdür ve genel olarak siroz hastalarının üçte biri yaşamları

boyunca HCC geliştirecektir (2, 7). Sirozu olan hastalarda yıllık %1-8 oranında HCC insidansı mevcuttur. Tespit edilen tüm HCC vakalarının yaklaşık %70-90'ında siroz mevcuttur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar karaciğer kanserindeki artışla, portal basıncın ve elastografi ile ölçülen karaciğer sertliğinin paralel olduğunu göstermiştir (8-10). Türkiye'de 207 hastayı içeren bir çalışmada, sirotik karaciğerde, HCC etiolojisinde en sık HBV enfeksiyonu (%56), ikinci sırada HCV enfeksiyonu (%23,2), üçüncü sırada ise alkolik karaciğer hastalığının (%5,2) olduğu bildirilmiştir (6).

Kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda siroz olmadan da HCC geliştiği saptanmıştır. Ancak HCC gelişen HBV'li hastaların %70-90'ında siroz mevcuttur. HBeAg antijen seropozitifliği, yüksek viral yük ve genotip C, HCC gelişiminin bağımsız belirleyicileridir (11-13).

Kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda HCC ile ilişkili diğer risk faktörleri arasında; yaşlılık, alkol-sigara kullanımı, serum ALT seviyelerinde yükseklik, core-precore mutasyonların varlığı, HCV/HDV ko-enfeksiyonu ve HCC için aile öyküsü bulunmaktadır (14-16).

HBV tedavisi ile HCC riskinin %50-60 azaldığı saptanmıştır (17). İnterferon tedavisi ile HCC insidansında azalma olmazken, nükleozid ve nükleotid analogları ile HCC insidansında belirgin azalma görülmüştür (18, 19). HBV'ye karşı evrensel bebek aşılması, endemik ülkelerde HBV ile ilişkili HCC oranını azaltmıştır (20, 21).

Kronik HCV enfeksiyonu, Amerika'da HCC vakalarının üçte birinden sorumlu tutulmuştur (22). Yaşamları boyunca kronik HCV enfeksiyonu olan hastaların %5'inde HCC gelişmektedir. Daha yüksek viral yük ve genotip 1b, HCC riskinde daha fazla artışa sebep olmaktadır (23, 24).

Diyet ile aflatoksin B1'e maruziyet, Afrika ve Asya'nın bazı bölgelerinde HCC gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Aflatoksin B1'e maruziyet, p53 gen mutasyonuna yol açarak HCC'ye neden olmaktadır (25).

Hemakromatozisi olan hastaların %45'inde HCC gelişmektedir (26). Akut hepatik porfiri, porfiri kutanea tarda ve  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği olan hastalarda, siroz gelişmesi sonucunda HCC riski artmaktadır (27-29).

Metabolik sendrom, diyabet ve obezite ile ilişkili non-alkolik steatohepatit (NASH) gelişen hastalarda, HCC riskinin arttığı gösterilmiştir (30).

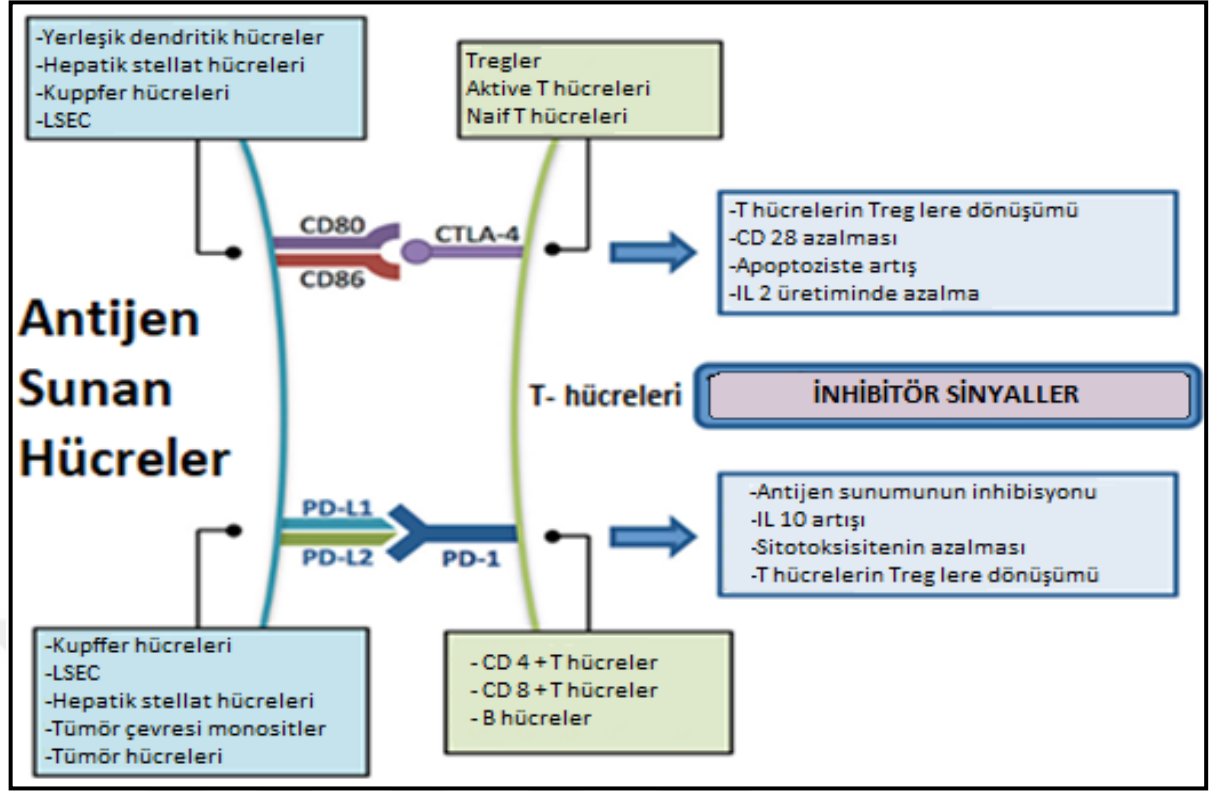
### 2.1.3. HEPATOSSELÜLER KARSİNOM PATOFİZYOLOJİSİ

Hepatokarsinogenez, kronik karaciğer inflamasyonu ile yakından ilişkilidir. HCC, hücre dejenerasyonu, fibrozis, siroz ve tümör oluşumu olmak üzere dört aşamada ilerler. Tüm aşamalarda inflamasyon bulunmaktadır (31). HCC'lerde kanser gelişimi, kromozomal mutasyon ve translokasyonların birikimi sonucu olmaktadır (32). Sirozlu hastalarda 20-40 yıl süren kronik inflamasyonun, HCC gelişimine neden olduğu düşünülmektedir (5). Tümör süpressör genlerin baskılanması ve onkogenlerin aktivasyonuna yol açan mutasyonlar sonucunda hepatokarsinogenez başlatılır. Bu mutant hücrelerde, apoptozis kaybı ve proliferasyon gözlenir (33).

Karaciğerde, klasik antijen sunan hücreler (APC) olan dentritik hücrelerle birlikte, karaciğere özgü hücreler olan; hepatik stellat hücreler, Kuppfer hücreleri (KC) ve karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri (LSEC) bulunmaktadır (34). APC'ler karaciğer immünitesinde kilit rol oynamaktadır ve aktivitelerindeki bozulma immünite kaybına yol açmaktadır (35). Bu antijen sunan hücreler (APC), MHC (major histocompatibility complex) sınıf-2 molekülü ile CD4+ (T helper hücreleri) ve CD8+ (sitotoksik T hücreleri) T hücrelerini aktive etmektedir (36).

Antijen sunan hücreler, T hücrelerin, bellek hücrelere farklılaşmasını sağlarlar. Böylece, tekrarlayan antijen maruziyeti ile hızlı ve güçlü sitotoksik T hücre yanıtı oluşturulur (37). Aynı zamanda Kuppfer hücreleri ve sinüzoidal hücrelerden sekrete edilen TGF- $\beta$  ile CD4+ T hücreleri, immünsüpresif rolü olan regülatuar T hücrelerine (Treg; CD4+, FOXP3+ ve CD25+) dönüştürülür (38).

Programlanmış ölüm reseptörü 1 (PD-1) ve ligandları PD-L1/L2 (programlanmış hücre ölümü ligand 1/2) immünotoleransın temel kaynağıdır ve T hücrelerinin, Treg'e farklılaşmasını sağlarlar. Kronik karaciğer inflamasyonu; Treg aktivitesini, KC ve LSEC tarafından üretilen IL-10 ve TGF- $\beta$  sekresyonunu arttırmaktadır. Treg aktivasyonu, T hücre apoptozu ve APC'lerin inhibisyonuna yol açmaktadır. Bu inhibisyon, yetersiz neoplastik hücre tanınmasına ve immün-toleransa neden olur. Bunun kanıtı olarak HCC'de Treg arttığı, CD4+ T hücrelerinin azaldığı ve APC'lerin inhibe olup tümör hücrelerini tanımadığı saptanmıştır (39).



**Şekil 1:** Hepatokarsinogenezde PD-1 ve CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4) aracılığı ile T hücre inhibisyonu (39).

### 2.1.3.a. Kanser Kök Hücreleri

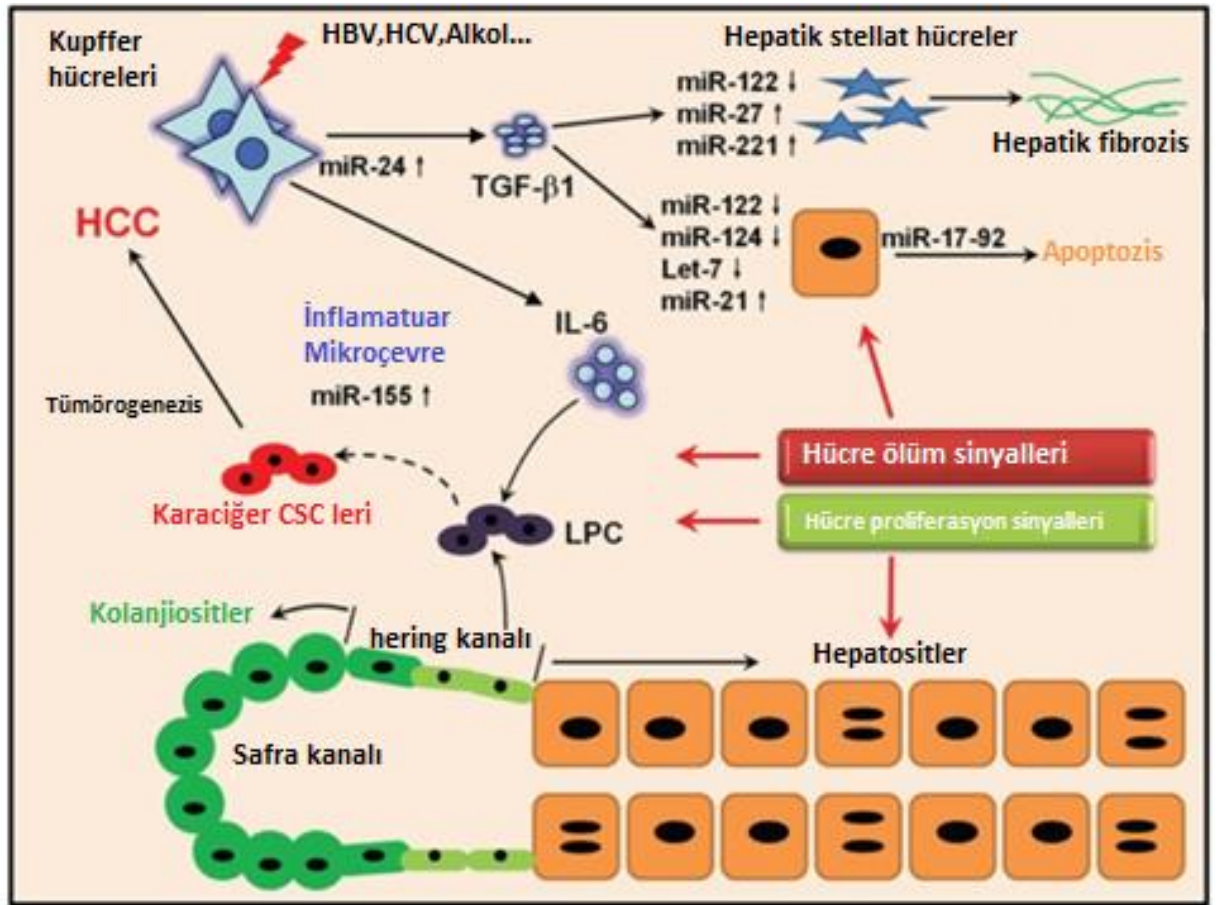
Kanser kök hücreleri (CSC'ler), hematolojik malignitelerin yanı sıra karaciğer, meme, prostat, beyin ve kolon tümörlerinde tanımlanmıştır. HCC'de kanser kök hücreleri (CSC'ler) olarak adlandırılan, kendini yenileyebilen ve tümörojenik potansiyel gösteren bir hücre topluluğunun bulunduğu düşünülmektedir. Karaciğer progenitor hücreleri (LPC), kanser kök hücreleri ile benzerlik göstermektedir. LPC'lerin inflamatuvar, tümörojenik mikro-ortamda CSC'lere dönüştüğü düşünülmektedir (40). Hering kanalından kaynaklanan LPC'ler hepatosit ve kolanjiyositlere farklılaşırken, inflamatuvar sitokinler ile uyarılan LPC'ler, otokrin etkili IL-6 üreterek CSC'lere dönüşür. AFP gibi biyobelirteçler, CSC'leri tanımlamak için kullanılan biyobelirteçlerdir ve erken tanıda kullanılmaktadır (41).

### 2.1.3.b. İnflamatuvar Mikro-Çevre

Hepatokarsinogenez sürecinde, tümörle ilişkili makrofajlar (TAM'lar), tümör hücreleri ve stroma hücreleri arasında önemli role sahiptir. Periferik kandaki monositlerden üretilen makrofajlar, polaritelerine göre M1 ve M2 olarak



sınıflandırılmaktadır. Güçlü antijen sunma potansiyeline sahip M1 tipi makrofajlar, IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , reaktif oksijen radikalleri (ROS) ve nitrik oksit (NO) üreterek inflamasyonda rol alırlar. IL-4, IL-10, IL-13'e maruz kalan monositler, M2'ye farklılaşarak IL-10, TGF- $\beta$  ve CCL17, CCL22 ve CCL24 salgırlar ve doku yeniden yapılanmasında görev alırlar. Karaciğerdeki Kupffer hücreleri adı verilen yerleşik makrofajlar, karaciğer hasarını algılamak ve HCC'de inflamatuvar tepkileri başlatmaktan sorumludur (41).



**Şekil 2:** İnflamatuvar yolların aktivasyonu ve hepatokarsinogenez (41).

Karaciğer, HBV, HCV, alkol gibi uyarılara maruz kaldığında, Kupffer hücrelerinden IL-6 ve TGF- $\beta$ 1 sentezlenir. TGF- $\beta$ 1, stellat hücreleri etkileyerek, hepatic fibrozis, apoptozis ve metastazdan sorumludur. IL-6 ile uyarılan karaciğer progenitor hücreleri, kanser kök hücrelerine dönüşerek, HCC gelişiminde rol oynamaktadır (41).

### **1.1.3.1. PRO-İNFLAMATUAR SİTOKİNLERİN HCC'DEKİ ROLÜ**

#### **a. İnterlökin-6 (IL-6)**

İnterlökin-6 (IL-6), fizyolojik ve patolojik yolların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Stromal hücrelerde IL-6 sekresyonu, kanser kök hücrelerini (CSC'leri) indükler. IL-6, STAT-3'ü aktive ederek, HCC gelişiminde doğrudan görevli genleri düzenler (41).

#### **b. Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) ve Nükleer Faktör Kappa B (NF- $\kappa$ B)**

İnflamasyona bağlı hepatoselüler karsinom gelişiminde, TNF- $\alpha$ 'nın önemli rolü vardır (42). NF- $\kappa$ B, inaktif durumda, sitoplazmada, inhibitör I $\kappa$ B kinaz (IKK)'a bağlanır. IL-1, lipopolisakkarit (LPS), TNF- $\alpha$  ile I $\kappa$ B kinaz (IKK) kompleksinin, ubiquitin aracılı I $\kappa$ B- $\alpha$  degradasyonu sağlanır. Aktifleşen NF- $\kappa$ B, nükleusda gen transkripsiyonunu etkileyerek, inflamasyon, hücre proliferasyonu ve tümörjenezini sağlamaktadır. NASH, otoimmün karaciğer hastalıkları ve kronik hepatit B/C enfeksiyonu ilişkili HCC'de aktive olmaktadır (41).

### **2.1.4. TANI**

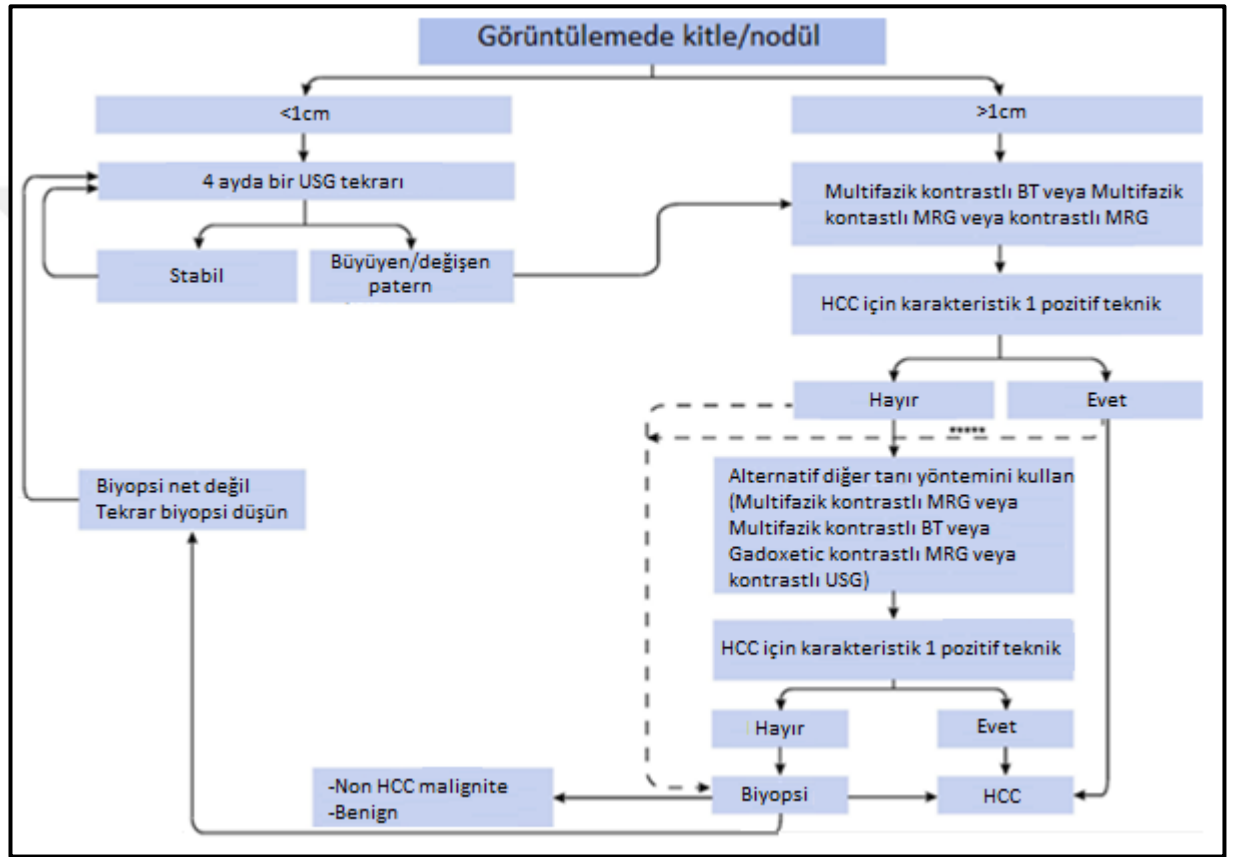
Hepatoselüler karsinom için yüksek riskli kişiler (kronik HBV/HCV enfeksiyonu, NASH, alkol kullanımı) düzenli olarak taranması önerilmektedir.. Risk grubundaki kişileri, düzenli tarama erken teşhis ve iyileştirici tedaviye olanak sağlayabilir (43). Yapılan bir randomize kontrollü çalışmada, kronik HBV enfeksiyonu olan non-sirotik hastaların, alfa-fetoprotein (AFP) testi ve ultrasonografiyle takibinin HCC ile ilişkili mortaliteyi %37 oranında azalttığı gösterilmiştir (44).

#### **2.1.4.a. Alfa-Fetoprotein (AFP)**

Fetal karaciğer ve yolk kesesi tarafından üretilen bir glikoprotein olan AFP, sağlıklı bir erişkinde 10 mcg/L'nin altındadır. 20-400 mcg/L arasındaki değerler karaciğerdeki rejenerasyonu gösterirken, 400 mcg/L üstündeki değerler ise HCC lehine değerlendirilmelidir. AFP; HCC dışında, germ, non-germ hücreli tümörler, mide ve kolorektal kanserlerde de yükselebilmektedir (45).

### 2.1.4.b. Ultrasonografi (USG)

Ultrasonografi, riskli grupta 6 ayda bir yapılmalıdır. Tarama programında ultrasonda saptanan 1 cm'den küçük nodüller, 3-4 ay aralıklarla takip edilir. Büyüme olmayan nodüller, 1-2 yıl boyunca 3-4 ay aralıklarla takip edildikten sonra tarama sıklığı azaltılabilir (2, 46). USG'de büyüme olan nodüller ileri görüntüleme yöntemleri ile değerlendirilmelidir (4).



Şekil 3: Sirotik karaciğerde saptanan nodüle yönelik algoritım (2).

### 2.1.4.c. BT ve MR'ın tanısal değeri

Görüntüleme, hepatoselüler karsinom tanısında ve evrelemesinde önemlidir. 2005 yılında dinamik görüntüleme ile tipik tanısal patern kullanılmaya başlanmıştır (47, 48). Görüntüleme tabanlı tanı, sirotik hastalarda hepatokarsinogenez esnasında oluşan anormal vasküler düzensizliğe dayanmaktadır (49). HCC tanısı için kontrastlı görüntüleme yöntemleri gereklidir. Kontrastlı görüntüleme tekniği olarak, multifazik bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme önerilmiştir. Vasküler

fazlarda lezyon görünümüne göre tanı konulur (50, 51). Buna göre, geç arteriyel fazda hipervaskülarite, portal venöz/geç fazda wash-out (silikleşme) görülmesi tipik özelliğidir ve hepatokarsinogenez sırasında oluşan vasküler düzensizliği gösterir (49).

Yapılan birçok çalışmada BT'ye kıyasla MR'ın daha duyarlı olduğu bulunmuştur ve MR'ın özgüllüğü %85-100 aralığındadır (52-54). HCC için tipik MR ve BT görüntüleri tanımlanmıştır. Bunlar; T2 ağırlıklı MR'da hiperintensite, difüzyon ağırlıklı MR'da hiperintensite, intra-lezyonel yağ, kapsül varlığı, mozaik yapı, nodül içinde nodül yapısı, intra-lezyonel hemorajidir (55). Geç dinamik fazda hipo-intens görünüm, portal venöz fazda yıkanma olması HCC için duyarlılığı artıran görüntülerdir. Bu tipik görüntüler, HCC'nin sekonder malignitelerden ve benign nodüllerden ayırımına katkıda bulunur (56).

Gadoksetik asit, karaciğere özgü bir kontrast madde olup yaklaşık %50'si hepatositler tarafından alınır ve safra yolları ile atılır. Kalan yarısı böbrekler tarafından atılır ve hepatosit fonksiyonunun değerlendirilmesini sağlar (56).

Florodeoksiglikoz-pozitron emisyon tomografisi (FDG-PET) ile vakaların %40'ından azında tutulum görüldüğünden dolayı HCC için duyarlılığı düşüktür ve iyi diferansiye HCC'lerde tutulum görülmemektedir. Bu nedenle HCC'de kullanımı kısıtlıdır (2).

#### **2.1.4.d. Patoloji**

Histopatolojik tanı, HCC tanısı ve ayırıcı tanı için altın standarttır (57, 58). Karaciğer lezyonlarının patolojik tanısı, HCC, kolanjiyoselüler karsinom (CC), kombine HCC / CC, karaciğerin sekonder malignitelerinden (nöroendokrin tümörler, skuamöz hücreli karsinom metastazları, akciğer kanseri metastazı) ayırımı için yapılır. Yapılan morfo-moleküler çalışmalar ile HCC'nin alt tipleri olan fibrolameller ve kromofob alt tipleri de tespit edilebilmektedir (59).

Histolojik değerlendirme, benign ve premalign lezyonların, HCC'den ayırımında da kullanılmaktadır. İnvaziv bir işlem olan biyopsi, görüntüleme yöntemleri ile tanı konulamayan hastalara yapılmalıdır (60). Biyopside, kanama ve iğne ile tümörün ekimi riskleri vardır. İğne ile tümör hücrelerinin çevre dokuya ekimi, genel sağkalımı etkilememektedir (61).

### 2.1.5. EVRELEME

Hepatoselüler karsinom tanısı konulan hastanın, prognostik değerlendirmesi ve tedavi yaklaşımı için evreleme sistemleri kullanılmaktadır. Evrensel kabul edilen bir sistem olmamakla birlikte en yaygın kullanılan 4 sistem; TNM, Okuda, Barcelona Klinik Karaciğer Kanseri (BCLC) sistemleri ve Karaciğer İtalyan Programı (CLIP) skorudur. Bu evreleme sistemlerinde tümör durumu (boyutu, sayısı, vasküler invazyon varlığı, ekstrahepatik yayılım), karaciğerin fonksiyonel durumu ve hastanın performansı değerlendirilir. TNM evrelemesinde, patoloji sonucuna göre değerlendirme yapılır. Karaciğerin fonksiyonel durumu ve hastanın performansı değerlendirilmez (62). Okuda, BCLC ve CLIP skoru, sirotik zeminde HCC gelişen, ameliyat edilemeyen hastalarda prognozu belirlemede daha faydalıdır. Barcelona evrelemesinde (BCLC), tümörün boyutu, sirozun derecesi ve hastanın performansı birlikte değerlendirildiğinden tedavi seçiminde ve prognozun belirlenmesinde kullanılmaktadır (4)

**Tablo 1:** TNM Evrelemesi (62)

Evre	TNM	ŞEMA
Evre 1	T1N0M0	<2 cm tek tümör, vasküler invazyon yok
Evre 2	T2N0M0	<2 cm tek tümör, vasküler invazyon var veya <2cm multiple tümör veya 2 cm tek tümör vasküler invazyon olmadan
Evre 3A	T3N0M0	Tek lobda multiple tümör ±vasküler invazyon veya >5 cm herhangi bir tümör veya >2cm tümör + vasküler invazyon
Evre 3B	T1-3N1M0	Pozitif reyonel lenf nodu
Evre 4A	T4N0-1M0	Major portal veya hepatik venleri de içeren, 2 veya daha fazla lobda multiple tümör
Evre 4B	T1-4N0 1M1	Uzak metastaz

**Tablo 2:** Child-Pugh Sınıflaması (63)

Parametreler	Skor	Skor	Skor
	1	2	3
<b>Ensefalopati</b>	Yok	1-2	3-4
<b>Asit</b>	Yok	Kontrol altında hafif	Tedavi dirençli
<b>Bilirubin (mg/dl)</b>	<2	2-3	>3
<b>PT zamanı uzaması (sn)(INR)</b>	<4 (<1,7)	4-6 (1,7-2,3)	>6 (>2,3)
<b>Albumin (g/L)</b>	>3,5	2,8-3,5	<2,8

(Child A: 5-6, Child B: 7-9, Child C: 10-15)

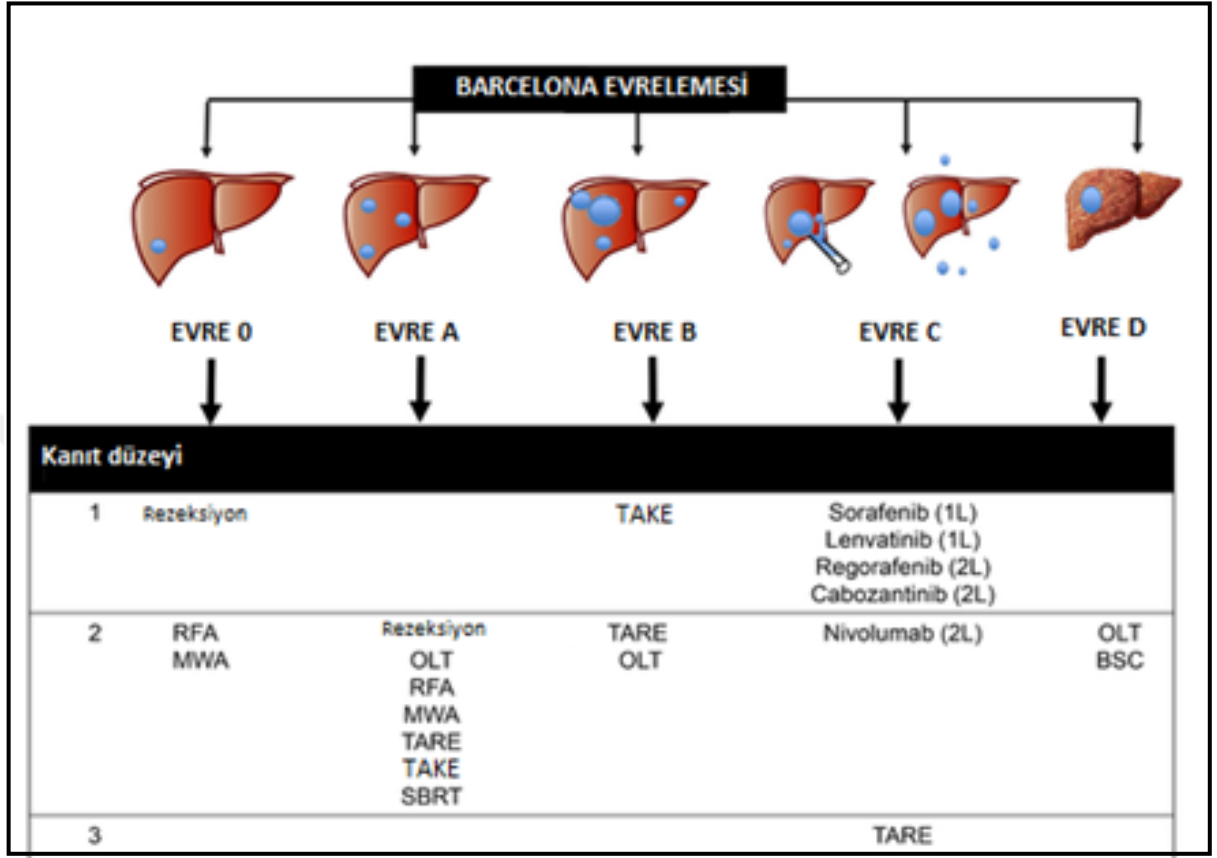
**Tablo 3:** BCLC Evrelemesi (63)

BCLC Evre	Performans Durumu	Tümör Sayısı ve İnvazyon	Child Pugh
<b>0 Çok erken</b>	0	Tek <2cm	A
<b>A Erken</b>	0	Tek <5cm veya <3m en fazla 3 lezyon	A-B
<b>B İntermediate</b>	0	Büyük veya multinodüler	A-B
<b>C İleri</b>	1-2	Vasküler invazyon ve/veya ekstrahepatik yayılım	A-B
<b>D Terminal</b>	3-4	Yukarıdakilerden herhangi biri	C

### 2.1.6. TEDAVİ

Hepatoselüler karsinomda güncel tedavi seçenekleri, küratif ve küratif olmayan tedaviler olarak ikiye ayrılmaktadır. Küratif tedaviler arasında cerrahi rezeksiyon, ortotopik karaciğer transplantasyonu ve ablatif teknikler bulunur. Bu tedavi yaklaşımlarının her biri uzun vadeli yanıt ve daha iyi sağkalım şansı sunmaktadır. Küratif olmayan tedaviler tümör ilerlemesini yavaşlatarak hayatta kalma süresini uzatmayı hedefler. Bu tedaviler arasında, transarteriyel kemoembolizasyon (TAKE),

transarteriyel radyoembolizasyon (TARE), stereotaktik vücut radyasyon terapisi (SBRT) ve sistemik kemoterapi bulunur (64).



**Şekil 4:** BCLC evreleme sistemine göre HCC aşamalarında tedavi seçenekleri (64)

(RFA: Radyofrekans Ablasyon, MWA: Mikrodalga Ablasyon, OLT: Ortotopik karaciğer transplantasyonu, TARE: Transarteriyel radyoembolizasyon, TAKE: Transarteriyel kemoembolizasyon, SBRT: Stereotaktik vücut radyasyon terapisi, BSC: En iyi bakım tedavisi)

Cerrahi rezeksiyon, klinik olarak ciddi portal hipertansiyonu olmayan ve Child Pugh A olan hastalarda önerilmektedir. Sirotik olmayan HCC’de uygun bir tedavidir. (65). Tek solid tümörü bulunan, karaciğer fonksiyonu normal olan ve pulmoner hipertansiyonu olmayan hastalar için (normal bilirubin ve hepatik venöz basınç gradyenti <10 veya trombosit sayısı > 100.000) düşük perioperatif mortalite ile yaklaşık %70 oranında 5 yıllık sağkalım şansı sunmaktadır (66).

Ortotopik karaciğer transplantasyonu, son evre karaciğer hastalığı ve erken evre HCC olan hastalar için uygun bir tedavi seçeneğidir. Milan kriterlerine göre ortotopik

karaciğer transplantasyonu yapılabilecek HCC türleri; çapı 5 cm'den küçük fokal tek HCC kitlesi ya da lenf nodu, vasküler ve uzak metastaz kanıtı olmayan ve herhangi biri 3 cm'den daha büyük olmayan üç ayrı fokal lezyona sahip kitlelerdir. Bu seçim kriterleri kullanıldığında, genel olarak 4 yıllık nüksüz sağkalım oranlarının % 83-92 olduğu bulunmuştur (67).

Tümör hücrelerinin ablasyonu, kimyasal maddelerin (etanol, asetik asit ve salin) enjekte edilmesi veya lokal tümör sıcaklığının değiştirilmesi (radyofrekans ablasyon [RFA], mikrodalga, lazer, kriyoterapi) ile yapılmaktadır. Cerrahi yapılamayan BCLC A evresindeki hastalar için en iyi seçenek olarak kabul edilmektedir (68).

Hepatik arterden kanlanan hepatoselüler karsinomun, transarteriyel kemoembolizasyon (TAKE) ile kanlanmasının bozulması rezektable olmayan HCC tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çok sayıda veya büyük boyuttaki HCC lezyonlarında tercih edilir (69).

Transarteriyel radyoembolizasyon (TARE), TAKE'ye alternatif olarak kullanılmaktadır. Lobar ve segmental hepatic artere yönelik itrium 90 uygulanması ile embolizasyon sağlanmaktadır (70).

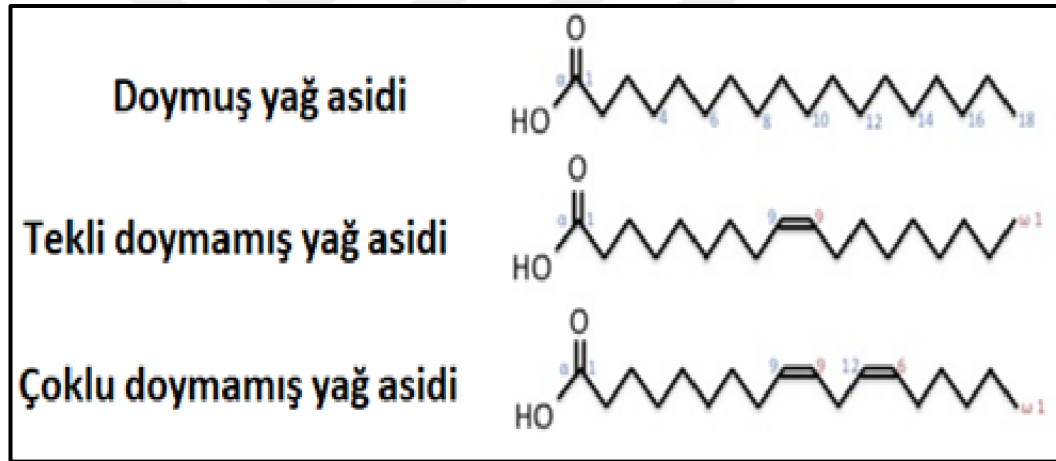
Hepatoselüler karsinomun, diğer malignitelerin aksine sistemik kemoterapiye dirençli olduğu görülmüştür (71). İleri evre HCC'li hastalarda sağkalımı artırabilen ilk ilaç olarak kabul edilen sorafenib, oral multi-tirozin kinaz inhibitörü olup, Raf kinaz, vasküler endotelial büyüme faktör reseptör (VEGFR) ve platelet kaynaklı büyüme faktör reseptör (PDGFR) sinyalizasyon yollarını hedef alır. Avrupa'da yapılan SHARP çalışması ve Asya-Pasifik bölgesinde yapılan STORM çalışmasında, sorafenibin sağkalımı 3 ay artırdığı gösterilmiş ve kullanımı onaylanmıştır (72-74). Hepatoselüler karsinomun anjiyogenik özelliği üzerine odaklanılarak, çeşitli sistemik tedaviler geliştirilmiştir. Bunlar; sunitinib, linifanib, erlotinib, brivanib, everolimus ve ramucirumabtır (71, 75-80). Diğer multi-kinaz inhibitörleri, lenvatinib ve regorafinib de araştırılmaktadır. PD1 inhibitörleri (nivolumab ve lambrolizumab) ve CTLA1 inhibitörleri (ipilumimab) gibi tümör immünoterapileri, HCC tedavisinde araştırılmaktadır (81).



## 2.2. LİPİT MEDİYATÖRLER, İNFLAMASYON VE KARSİNOGENEZ

### 2.2.1. ÇOKLU DOYMAMIŞ YAĞ ASİTLERİ

Yağ asidi, bir ucunda uzun dallanmış alifatik zincir, diğer tarafında ise bir metil grubuna sahip olan karboksilik asittir. Açıl zincirinin uzunluğuna, fonksiyonel gruplarına, çift bağların sayısına ve ilk çift bağın konumuna göre sınıflandırılabilir. Buna göre, yağ asitleri; doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri olarak sınıflandırılır. Doymuş yağ asitleri, çift bağ içermeyen uzun zincirli karboksilik asitlerdir. Tekli doymamış yağ asitleri, yağ asidi zincirinde bir çift bağa sahip olan yağ asitleridir ve zincirdeki karbon atomlarının geri kalanının tamamı tek bağıdır. Çoklu doymamış yağ asitleri en az iki karbon-karbon çift bağ içerir. Yağ asidi viskozitesi ve erime sıcaklığı, çift bağ sayısının azalması ile artar. Fizyolojik olarak, insan vücudundaki çoklu doymamış yağ asitlerinin çift bağları cis konfigürasyonundadır.



**Şekil 5:** Yağ asitleri; doymuş yağ asidi (stearik asit), tekli doymamış yağ asidi (oleik asit), çoklu doymamış yağ asidi (linoleik asit)

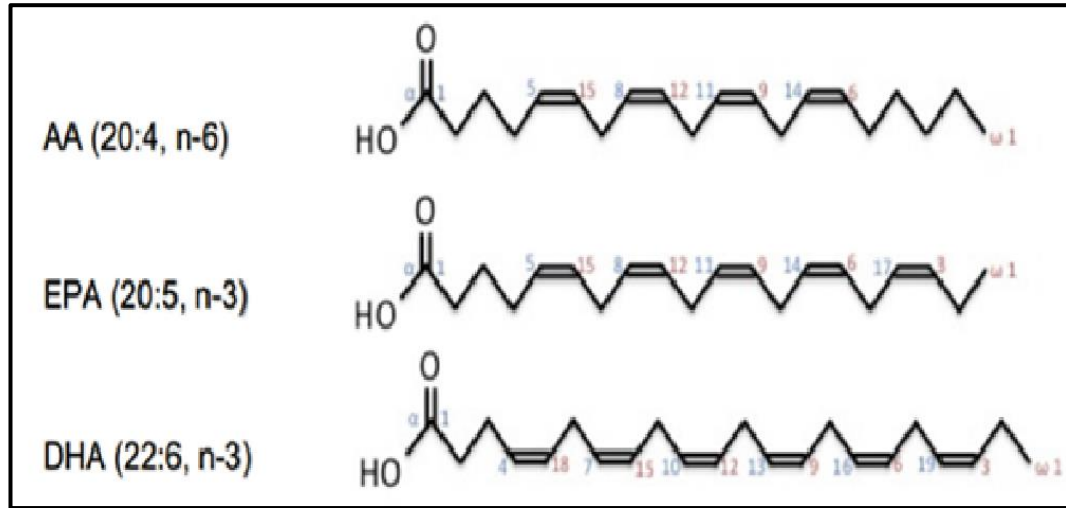
#### 2.2.1.a. Omega-3 ve Omega-6 Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

Omega-3 ve omega-6 yağ asitleri, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) grubundandır. Yunan alfabesinde en son harf olan omega, COOH ucuna en uzak karbon atomunu tanımlamaktadır. Omega-3 yağ asitleri, metil ucundan 3. karbon atomunda çift bağ olduğunu gösterirken, benzer şekilde, omega-6 yağ asitleri, 6. karbondaki çift bağ olduğunu göstermektedir. Esansiyel yağ asitleri, insan vücudunda sentezlenemez. İnsanlar için bilinen iki esansiyel yağ asidi;  $\alpha$ -linolenik asit ve linoleik asittir. Kısa zincirli (18 karbonlu) omega 3 yağ asidi olan  $\alpha$ -linolenik asitten, uzun

zincirli eikasopentaneik asit (EPA; 20 karbonlu) ve doksoheksanoik asit (DHA; 22 karbonlu) insan vücudunda sınırlı oranda sentezlenmektedir ve temel kaynağı besinlerdir (82, 83).

Omega-3 (n-3) ve omega-6 (n-6) yağ asitleri, diyet ile dengeli bir oranda tüketilmelidir. Araştırmacılar, n-6:n-3 tüketim oranınının 1:1 ile 1:4 arasında sağlıklı olduğunu düşünmektedir (84). Araştırmalar, deniz mahsulleri, fındık ve diğer omega-3 yağ asitleri bakımından zengin diyetin böyle bir oranı sağlayabileceğini göstermektedir. Günümüzde, tipik Batı diyetleri 10:1 ile 30:1 arasında oranlar sağlamaktadır (85). N-3 PUFA kaynaklı lipid mediyatörlerinin kritik rolü göz önüne alındığında, diyetteki bu dengesizlik, birçok hastalığının patogeneğinde büyük öneme sahiptir (84).

$\alpha$ -linolenik asit için başlıca diyet kaynağı kanola yağı olup, EPA ve DHA için somon, uskumru, hamsi ve sardalya gibi soğuk su balıklarıdır. N-6 PUFA, çoğunlukla palmye, soya fasulyesi, koza tohumu ve ayçiçek yağında bulunur. Araşidonik asit (20:4, n-6; AA), büyük ölçüde hayvansal yağlar, etler ve yumurta sarısı ile tüketilen bir PUFA'dır (83).



**Şekil 6:** n-3 ve n-6 çoklu doymamış yağ asitleri (PUFAs), araşidonik asit (AA), eikasopentaneik asit (EPA) ve doksoheksanoik asit (DHA) (83).

Omega-6 PUFA olan araşidonik asitin ve omega-3 PUFA'lar olan eikasopentaneik asitin (EPA) ve doksoheksanoik asitin (DHA), inflamasyon ve

proliferasyonda etkili pro- ve anti-inflamatuar mediatörlerin sentezinde önemli görevleri vardır (86).

### 2.2.2. İNFLAMATUAR LİPİT MEDIYATÖRLERİ

Araşidonik asit (AA), pro-inflamatuar sitokinler olan prostaglandinler (PG), tromboksanlar (TX) ve lökotrienlerin (LT) ana kaynağıdır. Siklooksijenaz (COX), araşidonik asitten, prostaglandinlerin ve tromboksanların sentezinde rol oynayan anahtar bir enzimdir. COX-1, çoğu hücrede eksprese edilir. COX-2 sadece lökositler ve makrofajlar gibi bazı hücrelerde bulunur ve endotoksinler, sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından indüklenir.

Siklooksijenaz-2 ile metabolize edilen araşidonik asitten oluşan prostaglandinler (PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2a</sub>, PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> ve TXB<sub>2</sub>) ateş, iltihaplanma ve ağrı gelişiminde önemli bir rol oynarlar. COX-2'nin aşırı ekspresyonu, PGE<sub>2</sub>'de artışa yol açarak, kanser hücrelerinin büyümesinde, çoğalmasında, anjiyogenezinde rol oynar. Akciğer, prostat, meme, kolon ve pankreas tümörlerinde, COX-2'nin aşırı ekspresyonu saptanmıştır. Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçların (NSAIDs) ve özellikle selekoksib gibi selektif COX-2 inhibitörlerinin kolon kanserini önlediği gösterilmiştir.

Araşidonik asit, Sitokrom P450 (CYP) aracılığı ile 8 adet epoksi-eikosatrienoik asit (5,6-EET, 8,9-EET, 11,12-EET ve 14,15-EET) sentezler. CYP'nin, AA'nın hidroksilasyonu ile hidroksieikoatetraenoik asit (HETE; 20-HETE ve 12-HETE) ürettiği de bilinmektedir. CYP enzimleri, akciğer, özefagus, mide, karaciğer ve kolon kanserlerinde aşırı eksprese edilir. CYP enziminin son ürünleri, proliferasyonu uyarabilir, apoptozu inhibe edebilir ve fosfatidil inositol 3 kinaz (PI3K) ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yollarını aktive edebilir.

Polimorfonükleer lökosit içinde AA, lipooksijenaz (LOX) ile metabolize olduğunda lökotrienler (LTA<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub> ve LTD<sub>4</sub>) sentezlenir. Nötrofillerde, 5-LOX aracılığı ile 5-HPETE (5-hidroperoxyeicosatetraenoic asid) sentezlenirken, trombositlerde, 12-LOX aracılığı ile 12-HPETE, endotel/epitel hücrelerinde, 15-LOX aracılığı ile 15-HPETE sentezlenir.

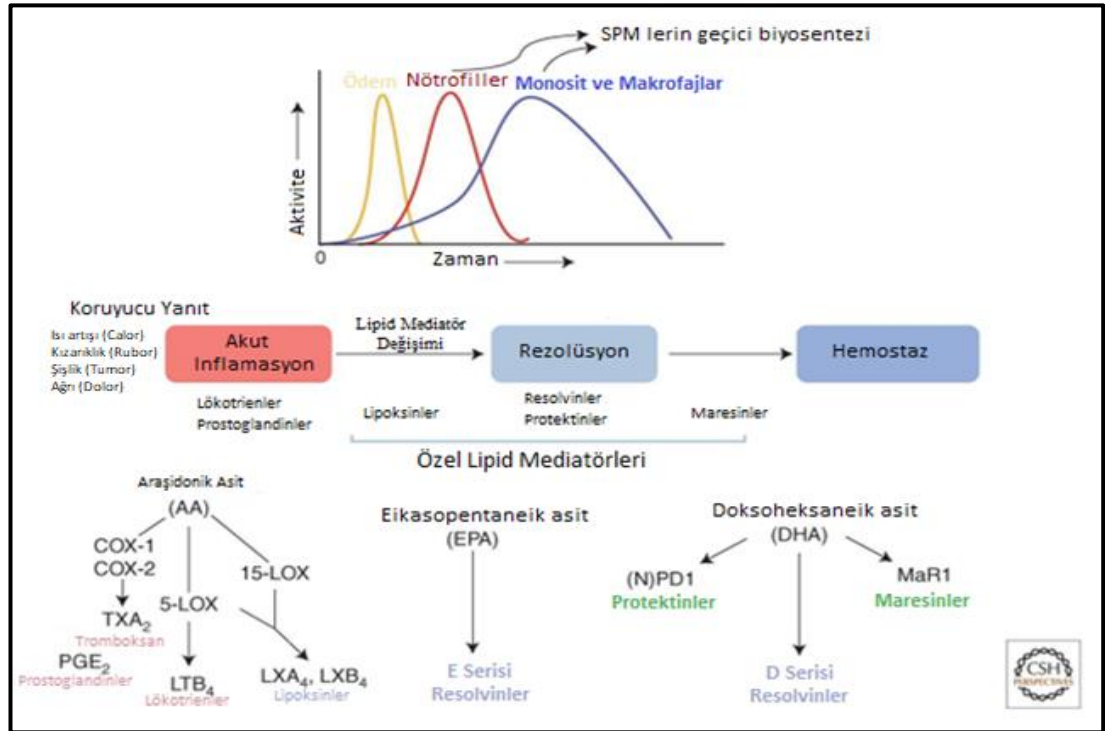
5-Lipooksijenaz (5-LOX) yolu genellikle kronik inflamasyon ve karsinogenez ile yakından ilişkilidir. 5-LOX ekspresyonu, granülositlerde (nötrofiller, eozinofiller



### 2.2.3. ANTI-İNFLAMATUAR LİPİT MEDİYATÖRLERİ

Rezolüsyon akut inflamasyonun beklenen bir sonucudur. İnflamasyon alanına ilk gelen hücreler olan nötrofiller, pro-inflamatuar mediyatörler aracılığı ile inflamasyonu sağlar ve sonrasında gelen makrofajlar, inflamasyonda ve rezolüsyonda görev alırlar. Makrofajların eferositozu, mikropları, hücre kalıntıları ve apoptotik PMNL'yi fagositoz ile temizlemesidir. Rezolüsyonda anahtar rol oynayan makrofajlar, apoptotik hücrelerin eferositoz yoluyla klirensini sağlar (88). Mikropların ve apoptotik hücrelerin zamanında temizlenmesi, homeostazisi (doku hasarını engellemek, doku onarımı ve yenilenmesini) sağlamak için gereklidir (89).

Rezolüsyon, pro-inflamatuar sitokinlerin azalması ile oluşan pasif bir işlem olmaktan ziyade, rezolüsyona ait lipid mediyatörlerin ve yolakların olduğu aktif bir işlemdir. Araşidonik asitten 15-LOX aracılığı ile üretilen lipoksinler, EPA ve DHA'dan 15-LOX ve 5-LOX aracılığı ile üretilen maresin, protektin ve resolvinler, rezolüsyonda görevli lipid mediyatörleridir. Genel olarak pro-inflamatuar mediyatörlerin aşırı üretiminin kronik inflamasyona yol açtığı bildirilmiştir. Ancak son yapılan çalışmalar, rezolüsyonun herhangi bir mediyatör ya da yolağındaki bozulmanın, astım, artrit, ateroskleroz, obezite ve kanser gibi kronik hastalıklara neden olduğunugöstermiştir(90).

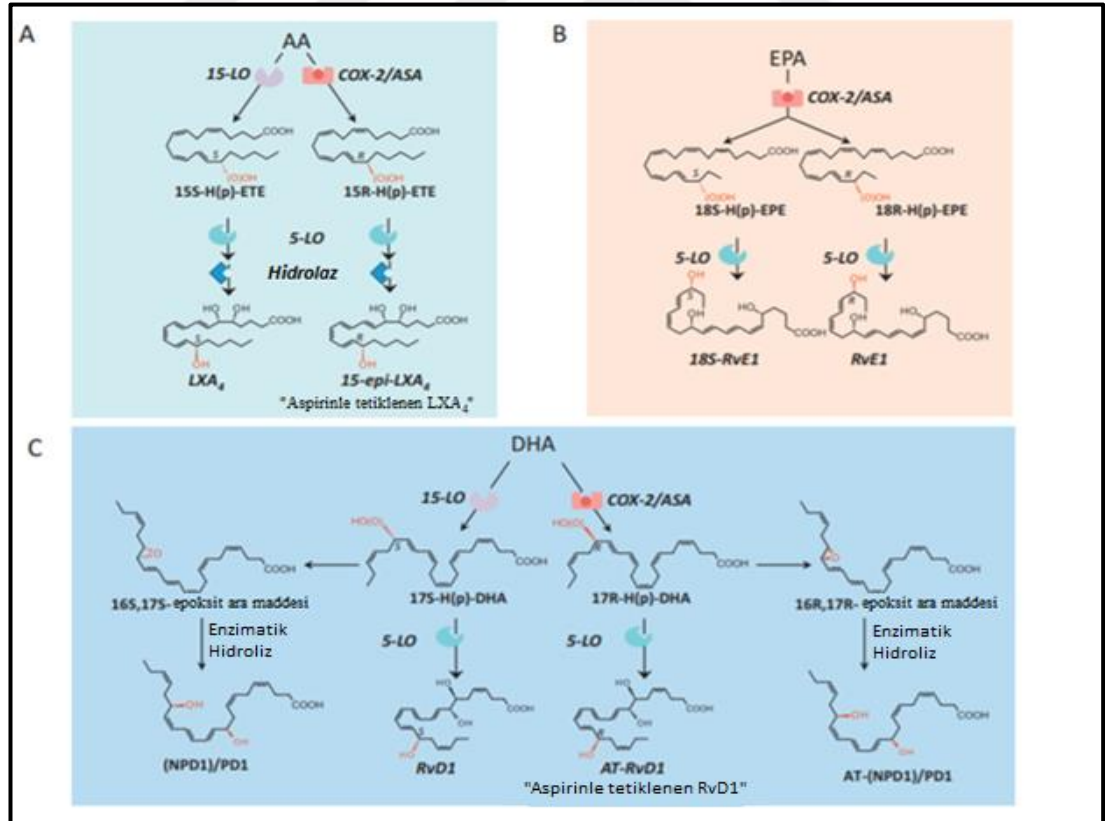


Şekil 8: Akut inflamasyonda lipid mediyatörlerinin sentezi (91).

İnflamasyon sırasında, eksudada hızla EPA ve DHA artışı görülür. EPA ve DHA'dan lipooksijenaz aracılığı ile resolvin, protektin ve maresinler üretilir.

Lipoksin, resolvin, protektin ve maresinler, özel lipid mediyatörleridir (SPM, specialized pro-resolving lipid mediators) ve immün-çözücüler (immünoresolventler) olarak tanımlanmaktadır. Bu SPM'ler, rezolüsyon fazında pico-nanogram miktarında üretilirler. Lökosit infiltrasyonunu sınırlandırıp, makrofaj eferositozunu artırarak doğal anti-mikrobiyal eylemleri uyarırlar (88).

Omega-3 ve omega-6 PUFA'lar, COX ve LOX için substrat düzeyinde rekabet ederler.  $\omega$ -3 PUFA'lar daha yüksek afiniteye sahiptir. Daha yüksek oranda  $\omega$ -3 PUFA alımı ile AA'in membran fosfolipidlerine katılması sağlanır (EPA, fosfolipaz A2'yi inhibe ederek hücre zarından AA salıverilmesini engeller).  $\omega$ -3 yağ asitleri, COX-2 aktivitesini ve pro-inflamatuvar eikosanoidlerin üretimini baskılar.  $\omega$ -3 PUFA'lar, peroksizomal enzimleri indükleyerek eikosanoid katabolizmasını arttırmaktadır (87).



Şekil 9: A. Lipoksin A4 (LXA4) ve ATL sentezi, B. Resolvin E1 sentezi, C. Resolvin D1 ve Protektin sentezi (92, 93)

Omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinden üretilen resolvinler, farelerde akut inflamasyonun rezolüsyon aşamasında toplanan eksüdalardan yapılan lipidomik analizlerde ilk olarak tanımlanmıştır. EPA'dan E serisi resolvinler oluşurken (resolvin E1-E3), DHA'dan D serisi resolvinler (resolvin D1-6) oluşmaktadır (94, 95).

### 2.3. RESOLVİN D1

Doksoheksanoik asitten, lipooksijenaz veya aspirinin asetile ettiği COX-2 aracılığı ile sentezlenen resolvin D1, rezolüsyonda hücreye spesifik aktivite uygular (96). Sentetik trilyum işaretli resolvin kullanılarak, reseptörler üzerine etkileri araştırılmıştır. İnsan nükleer reseptörleri, PPAR (peroxisome proliferator-activated reseptör)  $\alpha$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  veya retinoid X receptor- $\alpha$ 'yı aktive etmediği görülmüştür. Sonra G protein ilişkili reseptörler taranmıştır. TNF- $\alpha$ 'ya yanıt olarak yükselen NF- $\kappa$ B'yi azaltan GPCR'ler, lusiferaz tabanlı raporlama sistemi kullanılarak taranmıştır. Resolvinin aktive ettiği GPCR'ler; ALX/FPR2 (lipoksin A4 reseptörü/formil peptid reseptörü) veya GPR32 (DRV1, resolvin D1 reseptörü) reseptörleridir (94, 96).

Resolvin D1'in, doza bağımlı olarak (çok düşük dozlarda; pikomolar) ALX/FPR2 ve GPR32 reseptörlerini aktive ettiği saptanmıştır (96). Resolvin D1 düşük konsantrasyonlarda GPR32 'yi aktive ederken, yüksek konsantrasyonlarda ALX/FPR2'yi aktive etmektedir (97). Resolvin epimerlerinin de aynı güçte GPCR'leri aktive ettiği bulunmuştur (98). Aynı zamanda epimerler, daha uzun ömürlü ve daha stabil lipid mediyatörleridir (99). İnflamasyon bölgesinde, olgun makrofajlarda ALX/FPR2 veya GPR32 ekspresyonunu artırarak, eferositozu artırdığı saptanmıştır (96).

ALX/FPR2 reseptörleri, miyeloid hücrelerde, lenfositlerde, dendritik hücrelerde, olgun makrofajlarda, sinovyal fibroblastlarda, mezangial hücrelerde, endotel hücrelerinde ve epitel hücrelerinde eksprese edilir. GPR32 reseptörleri, PMNL, monositlerde, olgun makrofajlarda, vasküler endotel hücrelerinde tespit edilmiştir. ALX/FPR2'nin inflamasyonun erken döneminde, eksudadaki lökositlerde arttığı ve rezolüsyonda rol aldığı saptanmıştır (96, 100). Yapılan fare deneylerinde, ALX/FPR2'nin aşırı ekspresyonun peritonitte nötrofil infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir. ALX/FPR2<sup>-/-</sup> farelerde inflamasyonun ve rezolüsyonun uzadığı görülmüştür (101).

Resolvin D1, ALX/FPR2 ve GPR32 reseptörleri aracılığı ile endotel nötrofil etkileşimini, LTB<sub>4</sub>'ün uyardığı aktin polimerizasyonunu ve adhezyondan sorumlu CD11b ekspresyonunu azaltır. Böylece PMNL'nin transendotelial migrasyonunu engellemektedir. Resolvin D1, monositlerde/olgun makrofajlarda, apoptotik lökositlerin, bakterilerin ve maya partiküllerinin fagositozunu (eferositozunu) artırır (96). Resolvin D1, IL-8'in indüklediği nötrofil kemotaksisini azaltır. GPR32 reseptörü aracılığı ile PMNL hücreleri tarafından E. Coli fagositozunu artırır. Antikor sekrete eden B hücre diferansiyasyonunu uyarır. Endotel hücrelerinden salınan pro-inflamatuar sitokinleri azaltır (102).

Resolvin D1, IFN- $\gamma$  (Th1) ve IL-17 (Th17) yapımını azaltarak Th1 ve Th17 hücrelerinin, CD4<sup>+</sup> T hücrelerine farklılaşmasını sağlar. Ayrıca, CD8<sup>+</sup> T hücrelerinden IL-2, IFN- $\gamma$ , ve TNF- $\alpha$  üretimini azaltır. B hücrelerinden (CD27<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup> antikor salgılayan fenotip), Ig M ve Ig G sekresyonunu artırırken, Ig E yapımını azaltmaktadır (103).

Resolvin D1 ayrıca inflamasyon bölgesindeki makrofajların polarizasyonunu düzenleyerek, M1 (pro-inflamasyon) yolağındaki makrofajların, M2 (anti-inflamasyon) yolağına dönüşmesini sağlar (104). Böylece resolvin D1, hem anti-inflamasyon (PMNL infiltrasyonunu azaltır), hemde rezolüsyonda (eferositozu artırır) etkilidir (96)

Makrofajlar, doku ve metabolik homeostazisde anahtar rol alırlar. Makrofaj fonksiyonlarındaki bozukluklar, artrit, obezite, diyabet ve ateroskleroz gibi kronik inflamatuvar hastalıkların temelinde yer alır. Lipid ve glukoz metabolizmasındaki bozukluklarda, dokularda aktive edilmiş makrofajların birikmesi ile pro-inflamatuar sitokinler artar ve kronik inflamasyon oluşur (105-108). Yapılan deneylerde, resolvin D1'in diyabetik farelerde, yağ dokusunda aktive makrofajların birikimini ve IL-6 üretimini azalttığı, adiponektin üretimini ve insülin duyarlılığını artırdığı görülmüştür (109).

Siklooksijenaz ve lipooksijenaz inhibitörleri pro-inflamatuar sitokinler ile birlikte rezolüsyonda görevli lipid mediyatörlerini de azaltarak inflamasyonu baskılar. Buna karşılık aspirin ve glukokortikoidler, rezolüsyon yolları ile sinerjistik etki göstererek homeostazisi sağlar (110).



İnflamasyon belirtilerinden olan ağrı; bradikinin, pro-inflamatuar sitokinler olan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, PGE2 ve I2'nin, 1. duysal nöronu uyarması ile oluşur (111). Deneysel çalışmalarda resolvin D1'in, PG, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'yı azaltarak ağrıyı azalttığı saptanmıştır. Resolvin D1, COX-2 inhibitörleri ve morfin kadar ağrıyı azaltmaktadır (112).

Resolvin D1, eikasanoid oksidoredüktaz tarafından hızlıca inaktif metabolitlerine dönüştürülür (99).

### **2.3.1. Resolvin D1 ile düzenlenen; mitojen ile aktive olan protein kinazlar (MAPK)**

Mitojen ile aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyalleri olan, p-ERK (extracellular-signal-regulated kinase), p-JNK (c-Jun N-terminal kinase) ve p38 yolları, hücre survi ve proliferasyonunda önemlidir.

Deneysel çalışmalarda resolvin D1, karaciğer kanseri hücrelerinde p-ERK, p-JNK ve p38 sinyallerinin seviyelerini azaltarak, kanser hücrelerinin çoğalmasını baskılamaktadır (104).

### **2.3.2. Resolvin D1 tarafından düzenlenen mikroRNA'lar**

Birçok hücrel işlevin düzenleyicileri olan mikroRNA'ların (miRNA), rezolüsyondaki görevleri araştırılmıştır ve resolvin D1 ile düzenlenen miRNA'lar belirlenmiştir (113). Resolvin D1'in rezolüsyon döneminde; ALX / FPR2 ve GPR32'ye bağlı bir şekilde, miR-21, miR-146b ve miR-219'un arttığı, miRNA-208a'nın ise baskılandığı saptanmıştır. Bu mi-RNA'ların, anti-inflamatuar olan IL-10 üretimini artırdığı, TNF- $\alpha$ 'nın indüklediği I $\kappa$ B fosforilasyonunu azaltarak NF- $\kappa$ B'nin nükleer translokasyonunu engellediği, 5-LOX'ı baskılayarak pro-inflamatuar olan LTB4 sentezi azalttığı saptanmıştır (114-117).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. HASTA SEÇİMİ VE ÇALIŞMA METODU**

Çalışmamıza Mart 2018 ile Haziran 2019 tarihleri arasında Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Gastroenteroloji Kliniğinde takip edilen, yeni tanı hepatoselüler karsinomlu 30 hasta, karaciğer sirozlu 30 hasta ve bilinen sağlık problemi olmayan 30 kişi dahil edildi.

Çalışma için Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Uygulamalar Etik Kurulu'ndan 19/03/2019 tarihli 06/03 karar numarası ile onay alınmıştır.

Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri:

1. 18 yaş üstü hastalar
2. Yeni tanı almış hepatoselüler karsinomlu hastalar
3. Kontrol grubu olarak eski ve yeni tanı karaciğer sirozlu hastalar
4. Kontrol grubu olarak bilinen sağlık problemi olmayan bireyler
5. Bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu kabul eden ve imzalayan hastalar ve sağlıklı bireyler
6. Son 1 hafta içerisinde non-steroid anti-inflamatuar ve asetil salisilik asit kullanan hastalardan ilaç kesildikten 1 hafta sonra kanları alınmıştır.

Çalışmaya dahil olmama kriterleri:

1. 18 yaşından küçük olma
2. Hepatoselüler karsinom ve siroz dışında karaciğer hastalığı bulunan hastalar
3. Karaciğer metastazı veya başka bir malignitesi olan hastalar
4. Sağlıklı kontrol grubu içinde;
  - a. Diyabetes mellitus,
  - b. Kronik böbrek hastalığı,
  - c. Obezite,
  - d. Kollajen doku hastalıkları,
  - e. Tiroid hastalıkları,
  - f. Anemi,
  - g. Akut enfeksiyon,
  - h. Hiperlipidemi,
  - i. İnflamatuar barsak hastalığı tanısı olanlar ve
  - j. Son 1 hafta içerisinde non-steroidal ilaç kullanımı öyküsü olan bireyler

5. Bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu kabul etmeyen ve imzalamayan hastalar ve sağlıklı bireyler

Çalışmaya dahil edilen hastalardan en az 12 saat açlık sonrası kanlar alındı. Rutin tetkikler için alınan kanlardan ayrılan 2 cc tüplere alınarak (13x100'lük 5 mL Vacutainer jelli plastik tüp), 5000 devirde 5 dk santrifüj edildi ve ayrılan serum örnekleri steril ependorf tüplere aktarıldı. Serum örnekleri -80°C derin dondurucuda saklandı.

### **3.1.1. Laboratuvar Analiz Yöntemleri**

Açlık plazma glukozu (GLUC Hk Gen.3,800 tests Cobas C kiti ile UV test heksokinaz yöntemiyle), c-reactive protein (Cobas C 501 partikül yüzeyi genişletilmiş immünotürbidimetrik test ile), aspartat transaminaz (Cobas Integra ASTL 500 tests kiti ile UV absorbans yöntemiyle), alanin transaminaz (Cobas Integra ALTL 500 tests kiti ile UV absorbans yöntemiyle), alkalen fosfataz (Cobas Integra ALP 500 tests kiti ile UV absorbans yöntemiyle), gama-glutamil transferaz (Cobas Integra GGT 500 tests kiti ile UV absorbans yöntemiyle), total bilirubin, direk bilirubin (Cobas Integra tests kiti ile kolorimetrik yöntemle), albumin (Cobas Integra ALB Gen.2 300 tests kiti ile kolorimetrik yöntemle), kreatinin (CREAJ Gen.2, 700 tests, Cobas C, Integra kitiyle fotometrik yöntemle), sodyum (Na, Gen.2 300 tests, Cobas c, Integra kiti ile kolorimetrik yöntemle) roche cobas® c501 marka cihaz ve orijinal roche diagnostik kitleri (Roche Diagnostic GmbH, Sandhofer Strasse 116,D-68305 Mannheim) kullanılarak çalışıldı. Hemogram parametreleri (hemoglobin, beyaz küre, platelet, nötrofil, lenfosit, MPV, PDW) otomatik tam kan sayımı cihazında (Mindray BC 6800, Shenzhen, China) akım sitometrik impedans yöntemi ile çalışıldı. Serum AFP düzeyleri kemoluminesans yöntemi ile cobas® e601 marka cihaz ve orijinal roche diagnostik kitleri kullanılarak çalışıldı. INR, Acl Top marka cihazda diagnostik kitler kullanılarak optik koagülometrik yöntemle çalışıldı. HBs Ag, Anti-HBs, Anti-HCV, Vitros Eciq immünodiyagnostik cihazında kemoluminesans yöntemiyle çalışıldı. HCV-RNA, HBV-DNA saptanmasında gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (real-time PCR) platformu olan kitler Qiagen Qiasymphony Rotor Gene Q cihazında çalışıldı.

### 3.1.2. Resolvin D1'in Çalışılması ve Hesaplanması:

Çalışmaya dahil edilen hastalardan en az 12 saat açlık sonrası kanlar alındı. Rutin tetkikler için alınan kanlardan ayrılan 2 cc tüplere alınarak (13x100'lük 5 mL Vacutainer jelli plastik tüp), 5000 devirde 5 dk santrifüj edildi ve ayrılan serum örnekleri steril ependorf tüplere aktarıldı. Serum örnekleri -80°C derin dondurucuda saklandı. Hasta ve kontrol grupları tamamlandığında saklanan serum örneklerinden resolvin D1 çalışıldı. Çalışmaya başlamadan önce, örnekler oda ısısına getirildi. Resolvin D1 düzeyleri ticari firmanın orijinal ELİSA kiti kullanılarak çalışıldı (Human RvD1 ELISA kit, SUNRED). Resolvin D1 parametresi kolorimetrik ölçüm prensibi ve üretici firmanın önerisi doğrultusunda gerçekleştirildi. Yöntem özetle in vitro deney ortamında insan serumlarında kantitatif olarak Resolvin D1 düzeyinin spektrofotometre aracılığı ile kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

- Bu amaçla çalışmada 90 insan serum örneği çalışıldı. Öncelikle serum örnekleri oda ısısına getirilerek vortekslendi.
- Yıkama solüsyonu 1/30 oranında distile su ile sulandırıldı.
- Resolvin D1 Standartı (40 ng/ml) Standart dilüenti ile aşağıdaki tabloda belirtildiği şekilde hazırlanarak kullanıldı.

**Tablo 4:** Resolvin D1'in standart dilüenti ile hazırlanış formülleri

20 ng/ml	Standart No. 5	120 µl orijinal standart + 120 µl Standart Dilüenti
10 ng/ml	Standart No. 4	120 µl Standart No. 5 + 120 µl Standart Dilüenti
5 ng/ml	Standart No. 3	120 µl Standart No. 4 + 120 µl Standart Dilüenti
2.5 ng/ml	Standart No. 2	120 µl Standart No. 3 + 120 µl Standart Dilüenti
1.25 ng/ml	Standart No. 1	120 µl Standart No. 2 + 120 µl Standart Dilüenti

Deney aşaması ise aşağıdaki şekilde gerçekleşti:

- Öncelikle her hastanın serum örneğinin, Standartların ve Blank çalışılmasını sağlayacak şekilde çalışma taslağı oluşturuldu.
- Blank kuyucuğuna örnek ve Resolvin D1 antikorlarından Biotin ve Streptavidin-HRP eklenmeyip, kuyucuk boş bırakıldı.
- Standart kuyucuklarına çalışma taslağı uyarınca 50 µl hazırlanan seri dilüsyonlardan ve üzerine 50 µl Streptavidin-HRP eklendi.

- Hasta örneklerinin kuyucuklarına ise; 40 µl serum örneği, 10 µl Resolvin D1 antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenerek, homojen bir şekilde karışması sağlandı. Kuyucukların üzeri yapıştırıcı film ile kaplanarak 60 dakika 37°C’de inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon edilen plaklar belirtilen süre sonunda 350 µl dilüe edilen yıkama solüsyonu eklenerek, ELISA plağı baş aşağı şekilde kurutma kağıdının üzerinde 1-2 dakikayı geçmeyecek şekilde bekletildi. Bu işlem beş kez tekrarlandı.
- Sonraki aşamada enzim işaretli antijen-antikor kompleksinin oluşturduğu kromojenik reaksiyonu ölçmek için, her bir kuyucuğa 50 µl Chromojen A ve 50 µl Chromojen B eklenerek, homojen bir şekilde karışması sağlandı.
- Plaklar 10 dakika 37°C’de karanlıkta inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası ELISA reaksiyonu, her bir kuyucuğa 50’şer µl Stop Solüsyonu eklenip durduruldu.
- Reaksiyon sonrası oluşan kolorometrik renk değişikliği (absorbans değeri), üretici firmanın önerileri doğrultusunda 450 nm’lik filtreler kullanılarak spektrofotometre (ELISA okuyucusu) ile ölçüldü. Sonuçların analizi aşağıdaki şekilde yapıldı:
- Çalışmanın verifikasyonu ve test edilen insan serum örneklerinin Resolvin düzeylerinin belirlenmesi için standart OD (optik dansite) ile bir grafik elde edildi.
- Test edilen örneklerin elde edilen standart eğri ile sonuçları hesaplandı.
- Test edilen insan serum örneklerinin Resolvin D1 sonuçları ng/ml cinsinden hesaplandı.
- Üretici firmanın önerdiği şekilde hasta sonuç aralığı 0.15 ng/ml-30 ng/ml olarak belirtildi.

### 3.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Parametrik olmayan çalışma bulgularına yönelik istatistiksel analiz için *Kruskall Wallis* testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İkili grup karşılaştırmalarında ise *Mann-Whitney U* testi ve *Bonferroni Correction* testi kullanıldı ve  $p < 0.017$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Parametrik olan çalışma bulgularına yönelik *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) testi uygulandı ve  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi. İkili grup

karşılaştırmalarında ise *Tukey Multiple Comparisons* testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

Ayrıca hastalara ait parametreler arasında korelasyon varlığını tespit etmeye *Spearman's rho Correlation* testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

Çalışma parametrelerinin hastalığı ayırt etmedeki öngörücü özelliklerini belirlemek için *ROC-Curve* testi uygulandı ve parametrelerin hastalığı ayırt etmeye yönelik duyarlılık ve özgüllük oranları "*cut-off*" değerleri elde edilerek belirlendi. Ayrıca bu parametrelerden hastalığı ayırt etmede hangisinin "en iyi parametre" olabileceğine yönelik *Logistik Regression* testi e *Likelihood Ratio* testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



#### 4. BULGULAR

Çalışmamıza 30 HCC hastası, 30 siroz hastası ve 30 kontrol grubu katıldı. Katılımcıların demografik özelliklerine bakıldığında HCC grubunda erkek sayısının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla olduğu bulundu ( $X^2=19.599$ ,  $p<0.001$ ). Cinsiyet bakımından sağlıklı ile siroz grubu ( $Z=-2.583$ ,  $p=0.010$ ), sağlıklı ile HCC grubu ( $Z=-4.375$ ,  $p<0.001$ ) ve siroz ile HCC grubu ( $Z=-1.989$ ,  $p=0.047$ ) arasında fark saptandı. Sağlıklı grubunun daha çok kadın hastalardan oluştuğu, siroz ve HCC grubunda ise daha çok erkek hastaların olduğu görüldü. Üç grup arasında yaşlar açısından anlamlı fark yoktu ( $p=0,544$ ) (Tablo 5).

**Tablo 5:** Demografik özellikler

Değişken	HCC (n=30) n (%)	Siroz (n=30) n (%)	Kontrol (n=30) n (%)	Test ve p değeri
<b>Cinsiyet</b>				
Kadın	5 (16,7)	12 (40,0)	22 (73,3)	$X^2=19,819^*$ $p<0,001$
Erkek	25 (83,3)	18 (60,0)	8 (26,7)	
<b>Yaş (yıl)</b>	<b>Ort±SS (min- maks)</b>	<b>Ort±SS (min- maks)</b>	<b>Ort±SS (min- maks)</b>	<b>Test ve p değeri</b>
	62,9±8,6 (45-79)	60,8±11,0 (34-88)	60,5±7,0 (51-78)	F=0,613 $p=0,544^{**}$

\*Ki-kare testi yapıldı

\*\*Tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) yapıldı

Çalışmamıza dahil edilen 60 hastanın hastalık etyolojilerine bakıldığında; HCC grubundaki 30 hastanın 17 (%56,7)'sinin HBV, 10 (%33,3)'unun NASH ve geri kalan 3 (%10,0)'ünün HCV; siroz grubundaki 30 hastanın 16 (%53,3)'sının HBV, 11 (%36,7)'inin NASH, 2 (%6,7)'sinin HCV ve geri kalan 1 (%3,3)'inin olası otoimmün etyolojili olduğu bulundu (Tablo 6).

HCC grubundaki 30 hastanın 11 (%36,7)'i evre I, 10 (%33,3)'u evre IIIA, 5 (%16,7)'i evre IIIB, 4 (%13,3)'ü ise evre IVB idi. Tümör boyutu ortalaması  $6,1\pm 4,8$  cm (median:5,2; min-maks:1-22,5)'di (Tablo 6).

Child-Pugh sınıflamasına göre, HCC grubundaki 30 hastanın 18 (%60,0)'i A, 9 (%30,0)'u B, 3 (%10,0)'ü C; siroz grubundaki 30 hastanın 22 (%73,3)'si A, 6 (%20,0)'sı B, 2 (%6,7)'si C sınıfındaydı (Tablo 6).

HCC grubundaki 30 hastanın 19 (%63,3)'unun asiti yoktu, 3 (%10,0)'ünün perihepatik, 8 (%26,7)'inin yaygın asiti vardı. Siroz grubundaki 30 hastanın 24 (%80,0)'ünün asiti yoktu, 6 (%20,0)'sının yaygın asiti vardı. HCC ve siroz grupları arasında asit açısından anlamlı fark yoktu ( $p=0,152$ ) (Tablo 6).

**Tablo 6:** Hastalık etiyojisi, evre, Child-Pugh sınıflaması ve asit

Değişken	HCC (n=30) n (%)	Siroz (n=30) n (%)	Test ve p değeri
<b>Etyoloji</b>			-.**
NASH	10 (33,3)	11 (36,7)	
HBV	17 (56,7)	16 (53,3)	
HCV	3 (10,0)	2 (6,7)	
Otoimmün	-	1 (3,3)*	
<b>Evre</b>		-	-
I	11 (36,7)		
IIIA	10 (33,3)		
IIIB	5 (16,7)		
IVB	4 (13,3)		
<b>Child-Pugh</b>			-.**
A	18 (60,0)	22 (73,3)	
B	9 (30,0)	6 (20,0)	
C	3 (10,0)	2 (6,7)	
<b>Asit</b>			$X^2=2,052$
Yok	19 (63,3)	24 (80,0)	$p=0,152^{***}$
Perihepatik	3 (10,0)	-	
Yaygın	8 (26,7)	6 (20,0)	

\*Olası otoimmün etiyojisi

\*\*Beklenen değerler Ki-kare testi varsayımlarını sağlamadığı için test yapılamamıştır

\*\*\*Asit değişkeni var ve yok olarak yeniden kodlanıp Fisher's exact test yapılmıştır



HCC ve siroz grupları arasında MELD skoru açısından anlamlı fark yoktu (p=0,964) (Tablo 7).

**Tablo 7:** MELD skoru ve tümör boyutu

Değişken	Ort±SS (median; min-maks)	Ort±SS (median; min-maks)	Test ve p değeri
MELD	10,1±2,9 (10; 6-16)	11,4±5,8 (9; 6-26)	Z= -0,045 p=0,964*
Tümör boyutu (cm)	6,1±4,8 (5,2; 1-22,5)	-	-

\*Mann-Whitney U testi yapıldı

Beyaz küre sayısı siroz grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktü. Platelet sayısı HCC ve siroz gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktü (p<0,05). Hastaların tüm verilerine uygulanan analiz sonrası üç grup arasında lenfosit (F=10.769, p<0.001), resolvin D1 (X<sup>2</sup>=32.927, p<0.001), AFP (X<sup>2</sup>=42,763, p<0.001), ALT (X<sup>2</sup>=12.702, p=0.002), GGT (X<sup>2</sup>=8.856, p=0.012) ve Child sınıflama (X<sup>2</sup>=68.574, p<0.001) değerleri bakımından istatistiksel farklılık saptandı. Diğer karşılaştırmalarda anlamlı fark bulunmadı (Tablo 8).

**Tablo 8:** Biyokimyasal Değerler

Değişken	HCC Ort±SS (min-maks)	Siroz Ort±SS (min-maks)	Kontrol Ort±SS (min-maks)	Test (F/X <sup>2</sup> )	P Değeri *
Lökosit (sayı / mm <sup>3</sup> )	7592± 2836.86 (3790-15300)	5825 ± 2664.18 (760-12350)	7622 ± 1979.04 (4230-12520)	4.837 **	0.011
Nötrofil (sayı / mm <sup>3</sup> )	4515± 2395.11 (2670-11750)	3645 ± 2022.25 (470-9050)	4805 ± 1685.97 (1970-10200)	5.996	0.050
Lenfosit (sayı / mm <sup>3</sup> )	1652 ± 552.15 (710-2770)	1321 ± 777.84 (210-3640)	2108 ± 581.76 (1120-3770)	10.769**	<b>p&lt;0.001</b>
Platelet (sayı / mm <sup>3</sup> )	193611±99782 (6600-390000)	153066 ± 78542 (35000- 310000)	275166 ± 68157 (188000- 563000)	28,160**	<b>p&lt;0,001</b>
NLO	2.69 ± 2.11 (1.25-9.87)	2.61 ± 2.58 (0.18-14.40)	2.10 ± 1.19 (1.06-6.34)	5.996	0.050
ALT(IU/L)	30 ± 30.04 (10-127)	19.50 ± 31.78 (8-161)	16 ± 8.99 (9-51)	12.702	<b>0.002</b>
ALP(IU/L)	122 ± 327 (51-1264)	110 ± 43 (60-219)	91 ± 20 (69-130)	2.824	0.244
GGT(IU/L)	76 ± 286 (18-1044)	33 ± 311 (12-589)	22.50 ± 25.10 (11-72)	8.856	<b>0.012</b>
Total Bilirubin (mg/dl)	0.97 ± 1.11 (0.35-4.74)	0.87 ± 1.34 (0.46-6.99)	0.56 ± 0.85 (0.45-2.78)	6.162	<b>0.046</b>
CRP (mg/l)	24.93 ± 36.36 (0.01-133)	14.28 ± 24.41 (0.39-93)	8.03 ± 10.27 (1.25-39)	1.795**	0.177
AFP (ng /ml)	43.59 ± 716 (1.40-3340)	4.46 ± 3.255 (1.48-16.02)	2.44 ± 1.44 (0.84-6.46)	42.763	<b>&lt;0.001</b>
Resolvin D1 (ng/ml)	1.71 ± 1.46 (0.28-6.05)	3.63 ± 2.92 (0.56-11.90)	6.24 ± 3.18 (2.35-13.45)	32.927	<b>&lt;0.001</b>

\*One Way Analysis of Variance, (ANOVA) testi, Kruskall Wallis testi, p<0.05

\*\* F value

Lenfosit sayısı bakımından kontrol ile siroz grubu (F=787.000, p=0.010) arasında fark saptandı. Lenfosit sayısı normal değerler aralığında olmakla beraber

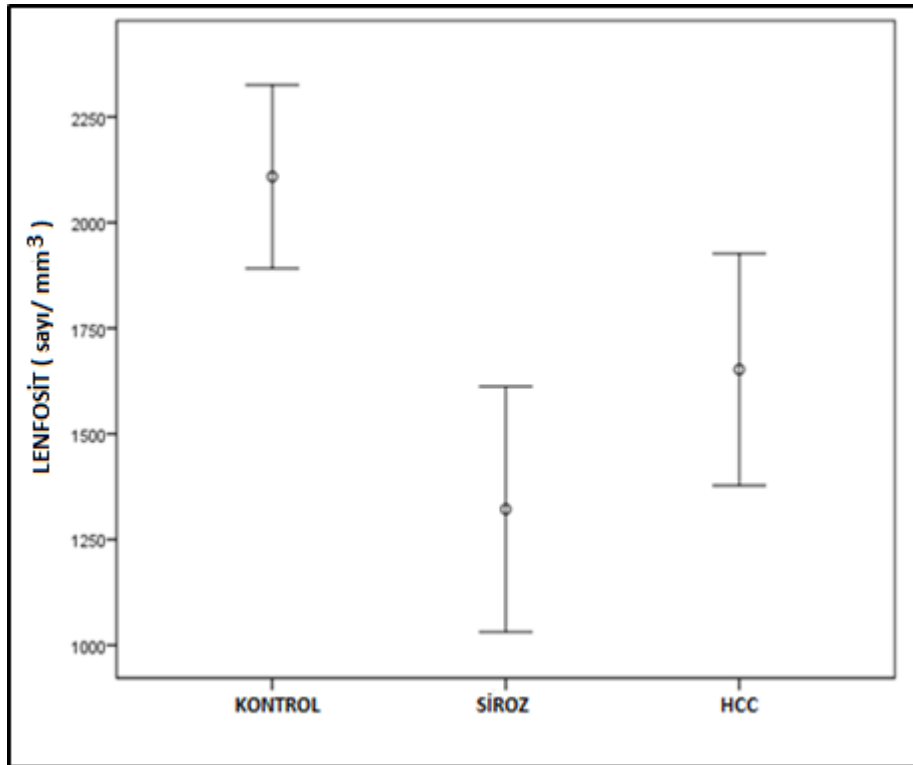
kontrol grubundaki hastaların lenfosit sayılarının siroz grubundaki hastalara göre daha yüksek olduğu görüldü (Şekil 10).

Resolvin D1 düzeylerinde kontrol ile siroz grubu ( $Z=-3.046$ ,  $p=0.002$ ), kontrol ile HCC grubu ( $Z=-5.611$ ,  $p<0.001$ ) ve siroz ile HCC grubu ( $Z=-2.898$ ,  $p=0.004$ ) arasında fark saptandı. Bu bulgularla resolvin D1 düzeylerinin kontrol grubunda en yüksek ve HCC grubunda en düşük düzeyde olduğu görüldü (Şekil 11).

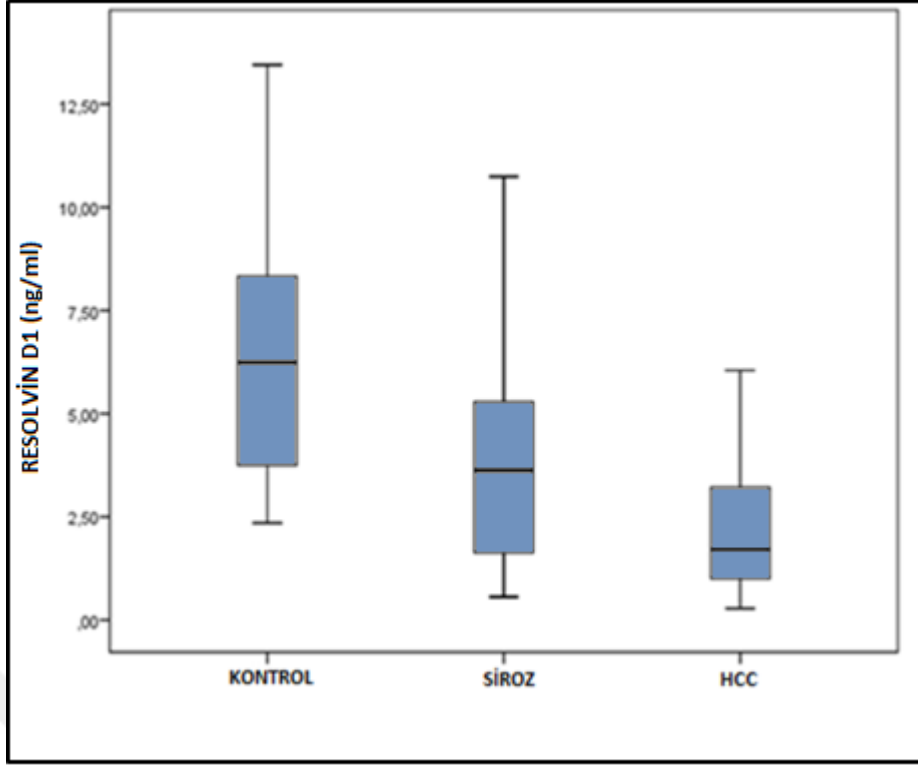
AFP düzeyleri bakımından kontrol ile siroz grubu ( $Z=-3.534$ ,  $p<0.001$ ), kontrol ile HCC grubu ( $Z=-5.604$ ,  $p<0.001$ ) ve siroz ile HCC grubu ( $Z=-4.716$ ,  $p<0.001$ ) arasında fark saptandı. Böylece AFP düzeylerinin kontrol grubunda en düşük ve HCC grubunda en yüksek değerde olduğu bulundu (Şekil 12).

ALT düzeyleri bakımından kontrol ile HCC grubu ( $Z=-3.656$ ,  $p<0.001$ ) arasında fark saptandı (Şekil 13).

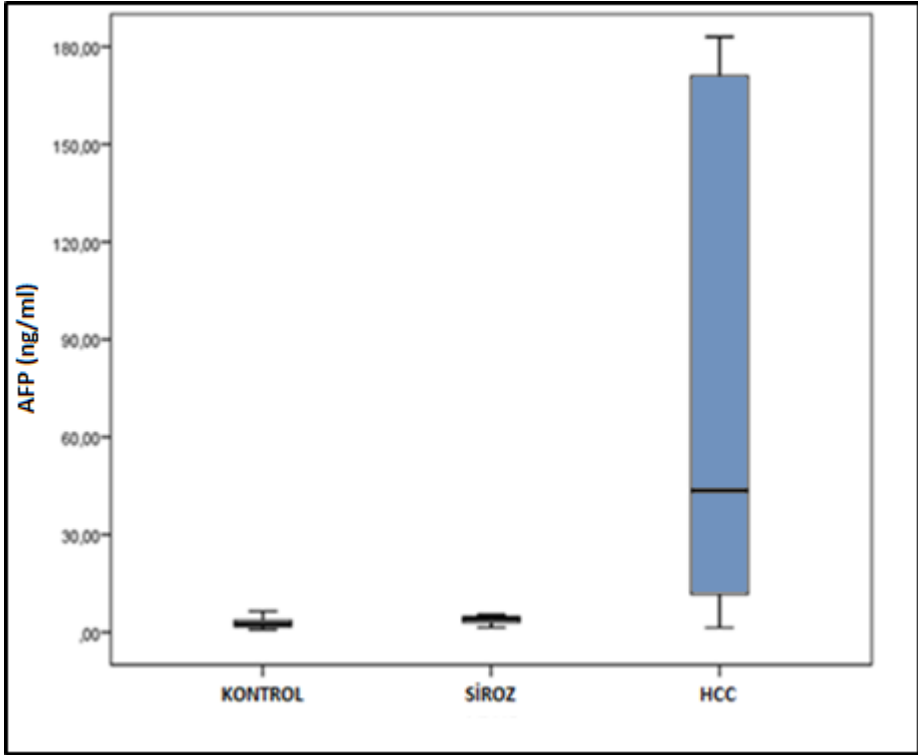
GGT düzeyleri bakımından kontrol ile HCC grubu ( $Z=-2.416$ ,  $p=0.016$ ), siroz ile HCC grubu ( $Z=-2.436$ ,  $p=0.015$ ) arasında fark saptandı. GGT düzeylerinin kontrol grubundaki hastalarda en düşük düzeylerde ve HCC grubundaki hastalarda en yüksek düzeylerde olduğu görüldü (Şekil 14).



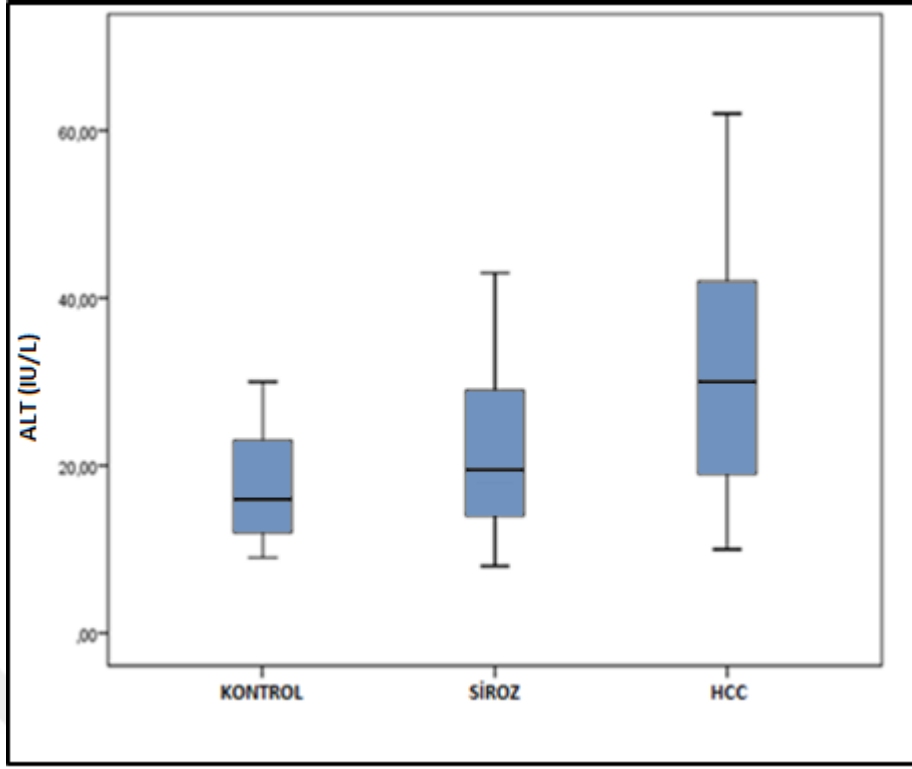
Şekil 10: Lenfosit sayısının gruplara göre dağılım grafiği



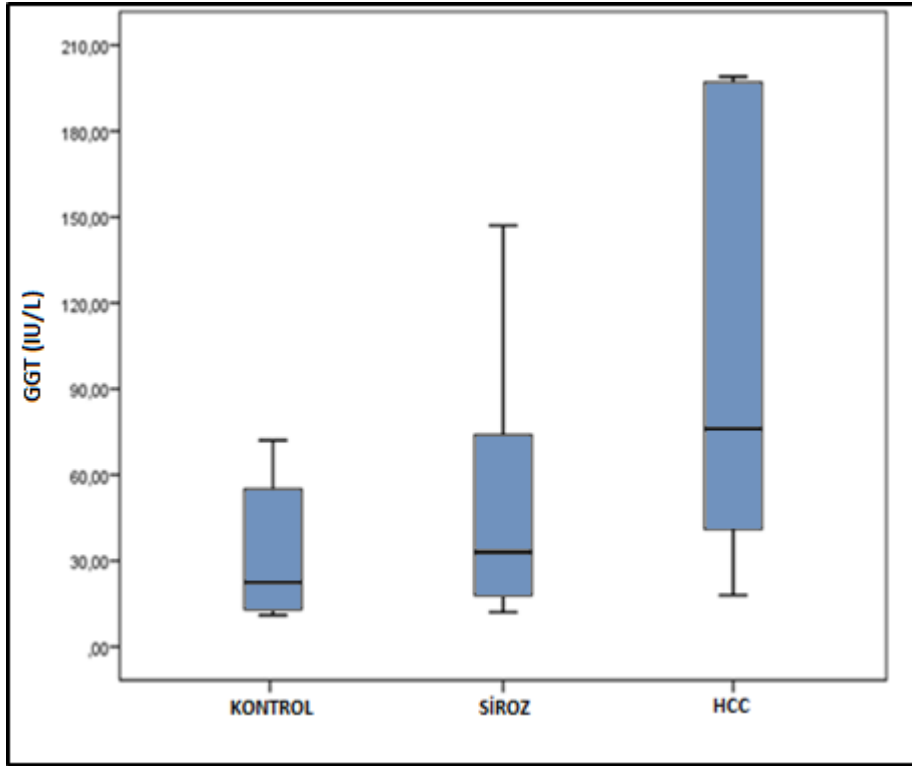
Şekil 11: Resolvin D1 düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği



Şekil 12: Alfa-fetoprotein düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği



Şekil 13: Alanin aminotransferaz düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği



Şekil 14: Gama-glutamil transferaz düzeylerinin gruplara göre dağılım grafiği

Her 3 grup arasında cinsiyet, lenfosit, resolvin D1, AFP, ALT, GGT değerleri arasında anlamlı farklılık mevcuttu (Tablo 9).

**Tablo 9:** Gruplar arasındaki farklılığın değerlendirilmesi

Değişken	Grup	Mean Difference / Z	P
Cinsiyet (Kadın=1 Erkek=2)	Kontrol / Siroz	-2.583	<b>0.010</b>
	Kontrol / HCC	-4.375	<b>&lt;0.001</b>
	Siroz / HCC	-1.989	0.047
Lenfosit	Kontrol / Siroz	787.000*	<b>&lt;0.001</b>
	Kontrol / HCC	456.444*	0.059
	Siroz / HCC	-330.556*	0.218
Resolvin D1	Kontrol / Siroz	-3.046	<b>0.002</b>
	Kontrol / HCC	-5.611	<b>&lt;0.001</b>
	Siroz / HCC	-2.898	<b>0.004</b>
AFP	Kontrol / Siroz	-3.534	<b>&lt;0.001</b>
	Kontrol / HCC	-5.604	<b>&lt;0.001</b>
	Siroz / HCC	-4.716	<b>&lt;0.001</b>
ALT	Kontrol / Siroz	-1.435	0.151
	Kontrol / HCC	-3.656	<b>&lt;0.001</b>
	Siroz / HCC	-2.142	0.032
GGT	Kontrol / Siroz	-1.210	0.226
	Kontrol / HCC	-2.416	<b>0.016</b>
	Siroz / HCC	-2.436	<b>0.015</b>

(\*) mean difference değeri, *Tukey Multiple Comparisons testi, Mann-Whitney U testi, p<0.05*

Tüm hastaların bulgularına yönelik uygulanan korelasyon analizi sonunda resolvin D1 ile AFP ( $r=-0.429$ ,  $p<0.001$ ) ve resolvin D1 ile tümör evresi ( $r=-0.509$ ,  $p<0.001$ ) değerleri arasında negatif korelasyon saptandı. Bu bulgularla AFP düzeyi ya da tümör evresi arttıkça resolvin D1 düzeyinin düşük bulunabileceği düşünüldü.

Diğer yandan AFP ile asit şekli ( $r=0.236$ ,  $p=0.025$ ), AFP ile tümör evresi ( $r=0.625$ ,  $p<0.001$ ), AFP ile ALT ( $r=0.496$ ,  $p<0.001$ ), AFP ile GGT ( $r=0.423$ ,  $p=0.002$ ) ve AFP ile ALP ( $r=0.331$ ,  $p=0.012$ ) düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu bulgularla AFP düzeyi yüksek ölçüldüğü koşulda hastalarda yaygın şekilde asit görülme olasılığının, hastada tümör varsa tümörün mevcut evresinin ve

serum ALT, GGT ve ALP değerlerinin yüksek bulunabileceği düşünüldü. Ayrıca AFP ile lenfosit ( $r=-0.226$ ,  $p=0.046$ ) arasında negatif korelasyon saptandı ve bu sonuçla AFP'nin yüksek olduğu koşulda lenfosit sayısının azalabileceği ngrld.

Yapılan korelasyon analizi sonunda MELD ile asit şekli ( $r=0.478$ ,  $p<0.001$ ), MELD ile tümör boyutu ( $r=0.433$ ,  $p=0.001$ ), MELD ile GGT ( $r=0.423$ ,  $p=0.003$ ), MELD ile ALP ( $r=0.423$ ,  $p=0.003$ ), MELD ile CRP ( $r=0.513$ ,  $p=0.001$ ) düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu bulgularla MELD puanı arttığı koşulda bu hastalarda tümör boyutunun artmış, asidin yaygın şekilde görülme olasılığının, GGT, ALP ve CRP düzeylerinin artabileceği düşünüldü. Diğer yandan MELD puanı ile lenfosit ( $r=-0.320$ ,  $p=0.027$ ) sayısı arasında negatif korelasyon olduğu görüldü ve MELD puanı yüksek bulunduğu koşulda bu hastalarda lenfosit sayısının azalabileceği ngrld.

Hastalardaki asit şekli ile tümör evresi ( $r=0.358$ ,  $p=0.001$ ), asit şekli ile tümör boyutu ( $r=0.439$ ,  $p<0.001$ ), asit şekli ile nötrofil ( $r=0.369$ ,  $p=0.001$ ), asit şekli ile ALT ( $r=0.263$ ,  $p=0.020$ ), asit şekli ile ALP ( $r=0.425$ ,  $p=0.001$ ), asit şekli ile GGT ( $r=0.448$ ,  $p=0.001$ ), asit şekli ile CRP ( $r=0.556$ ,  $p<0.001$ ) düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulunurken asit şekli ile lenfosit sayısı ( $r=-0.229$ ,  $p=0.043$ ) arasında negatif korelasyon tespit edildi. Bu bulgularla yaygın şekilde asit saptanan hastalarda tümör varsa tümörün evresinin ve boyutlarının fazla, kan nötrofil sayısının, serum ALT, ALP, GGT ve CRP değerlerinin yüksek olabileceği ve buna karşılık lenfosit sayısının düşük olabileceği düşünüldü.

Eğer hastalarda tümör varsa tümör evresi ile ALT ( $r=0.381$ ,  $p=0.001$ ) ve tümör evresi ile GGT ( $r=0.424$ ,  $p=0.002$ ) tümör boyutu ile GGT ( $r=0.428$ ,  $p=0.002$ ) ve tümör boyutu ile CRP ( $r=0.420$ ,  $p=0.008$ ) düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Böylece tümörü olan hastalarda tümörün evresi arttığı koşulda ALT ve GGT değerlerinin ve tümör boyutlarının arttığı koşulda yine GGT ve CRP düzeylerinin yüksek bulunabileceği ngrld.

Ayrıca hastalarda ALP ile lökosit sayısı ( $r=0.277$ ,  $p=0.037$ ), ALP ile nötrofil sayısı ( $r=0.385$ ,  $p=0.003$ ), ALP ile ALT ( $r=0.406$ ,  $p=0.002$ ), ALP ile GGT ( $r=0.552$ ,  $p<0.001$ ), ALP ile CRP ( $r=0.451$ ,  $p=0.002$ ), GGT ile ALT ( $r=0.634$ ,  $p<0.001$ ), GGT ile CRP ( $r=0.594$ ,  $p<0.001$ ) düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Böylece ALP düzeyleri arttığı koşulda hastalarda ölçülen lökosit ve nötrofil sayılarının, ALT, GGT ve CRP düzeylerinin de artabileceği düşünüldü. İlaveten GGT düzeyleri yüksek lldğu koşulda ALT ve CRP değerlerinin de yüksek olabileceği ngrld.

**Tablo 10:** Gruplara ait parametrelerin özgünlük ve duyarlılık dereceleri

Grup	Değişken	Area	p	Cut-off	Sensitivite	Spesivite
<b>Kontrol-Siroz</b>	LÖKOSİT	0.259	<b>0.001</b>	<7765	%80	%60
	NÖTROFİL	0.324	<b>0.019</b>	<3645	%50	%77
	LENFOSİT	0.182	<b>&lt;0.001</b>	<1350	%40	%93
	NLR	0.643	0.057	-	-	-
	CRP	0.524	0.793	-	-	-
	RESOLVIN D1	0.271	<b>0.002</b>	<2.64	%67	%93
	AFP	0.766	<b>&lt;0.001</b>	>2.91	%80	%70
	ALT	0.608	0.152	-	-	-
	GGT	0.658	0.226	-	-	-
	TBİL	0.750	<b>0.042</b>	>0.87	%50	%86
	ALP	0.585	0.426	-	-	-
<b>Kontrol-HCC</b>	LÖKOSİT	0.476	0.782	-	-	-
	NÖTROFİL	0.495	0.958	-	-	-
	LENFOSİT	0.264	<b>0.007</b>	<1840	%72	%77
	NLR	0.697	<b>0.023</b>	>2.43	%72	%63
	CRP	0.603	0.337	-	-	-
	RESOLVIN D1	0.078	<b>&lt;0.001</b>	<2.46	%74	%96
	AFP	0.921	<b>&lt;0.001</b>	>4.31	%83	%83
	ALT	0.818	<b>&lt;0.001</b>	>22.50	%72	%73
	GGT	0.838	<b>0.016</b>	>60	%65	%83
	TBİL	0.800	<b>0.015</b>	>0.62	%83	%73
	ALP	0.682	0.120	-	-	-
<b>Siroz-HCC</b>	LÖKOSİT	0.694	<b>0.025</b>	>5925	%83	%64
	NÖTROFİL	0.689	<b>0.030</b>	>3820	%72	%64
	LENFOSİT	0.669	0.051	-	-	-
	NLR	0.524	0.782	-	-	-
	CRP	0.602	0.315	-	-	-
	RESOLVIN D1	0.282	<b>0.004</b>	< 3.41	%84	%60
	AFP	0.854	<b>&lt;0.001</b>	> 5.63	%80	%84
	ALT	0.686	<b>0.032</b>	>22.50	%72	%60
	GGT	0.716	<b>0.015</b>	>62.00	%65	%67
	TBİL	0.557	0.451	-	-	-
	ALP	0.607	0.228	-	-	-
	CHILD	0.567	0.375	-	-	-
	SINIFLAMASI					
	MELD	0.503	0.965	-	-	-
	ETİYOLOJİ	0.513	0.859	-	-	-
ASİT ŞEKLİ	0.573	0.329	-	-	-	

ROC Curve testi,  $p < 0.05$



*ROC-Curve* testi sonunda Resolvin D1 değeri  $<2.64$  (area=0.271,  $p=0.002$ , sensitivite %67, spesivite %93), AFP değeri  $>2.91$  (area=0.766,  $p<0.001$ , sensitivite %80, spesivite %70), l6kosit sayısı  $<7765$  (area=0.259,  $p=0.001$ , sensitivite %80, spesivite %60), n6trofil sayısı  $<3645$  (area=0.324,  $p=0.019$ , sensitivite %50, spesivite %77), lenfosit sayısı  $<1350$  (area=0.182,  $p<0.001$ , sensitivite %40, spesivite %93) ve/veya total bilirubin değeri  $>0.87$  (area=0.750,  $p=0.042$ , sensitivite %50, spesivite %86) olduğu koşulda bu parametrelerin siroz hastalarını kontrol grubundan ayırt edebileceği 6ng6r6ld6 (Tablo 10).

Ancak yapılan lojistik regresyon analizinde 2 step sonunda ( $B=-0.487$ , Wald=4.508,  $p=0.034$ ) ve ilave olarak Likelihood testi ( $X^2=8.370$ ,  $p=0.004$ ) sonunda resolvin D1 d6zeyinin siroz hastalarını kontrol grubundan ayırt etmede en iyi parametre olabileceği bulundu. İlaveten lojistik regresyon analizinde 2 step sonunda ( $B=1.230$ , Wald=5.434,  $p=0.020$ ) ve ilave olarak *Likelihood Ratio* testi ( $X^2=4.491$ ,  $p=0.034$ ) sonunda AFP d6zeyinin siroz hastalarını kontrol grubundan ayırt etmede en iyi parametre olabileceği bulundu (Tablo 11, 12 ve Şekil 15, 16).

**Tablo 11:** Gruplara ait parametrelerin tanısal değeri

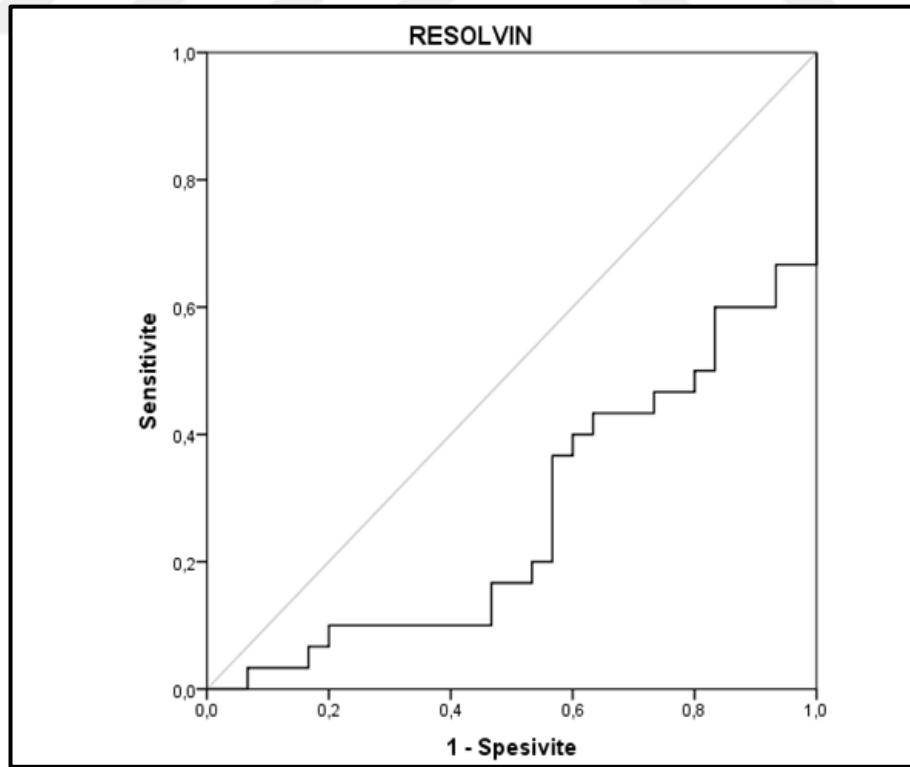
Grup	Step	Değişken	B	Wald	P	
<b>Kontrol-Siroz</b>	Step 1	RESOLVIN D1	-0.624	5.301	0.021	
		AFP	0.985	3.404	0.065	
		TBİL	1.010	1.285	0.257	
	Step 2	RESOLVIN D1	-0.487	4.508	<b>0.034</b>	
		AFP	1.230	5.434	<b>0.020</b>	
<b>Kontrol-HCC</b>	Step 1	RESOLVIN D1	-19.952	0.001	0.982	
		AFP	-0.087	0.000	0.987	
		ALT	-5.726	0.000	0.983	
		GGT	3.212	0.001	0.982	
		TBİL	-34.561	0.000	0.987	
	Step 2	RESOLVIN D1	-19.577	0.001	0.982	
		ALT	-5.671	0.001	0.982	
		GGT	3.155	0.001	0.981	
		TBİL	-33.951	0.000	0.986	
	Step 3	RESOLVIN D1	-68.343	0.002	0.965	
		ALT	-12.384	0.002	0.966	
		GGT	6.652	0.002	0.966	
	Step 4	RESOLVIN D1	-1.233	2.677	0.102	
		GGT	0.088	1.374	0.241	
	Step 5	RESOLVIN D1	-0.832	5.523	<b>0.019</b>	
	<b>Siroz-HCC</b>	Step 1	RESOLVIN D1	-0.276	1.690	0.194
			AFP	0.104	3.488	0.062
ALT			0.001	0.002	0.965	
GGT			0.002	0.465	0.495	
Step 2		RESOLVIN D1	-0.277	1.712	0.191	
		AFP	0.103	3.499	0.061	
		GGT	0.002	0.567	0.451	
Step 3		RESOLVIN D1	-0.285	1.737	0.187	
		AFP	0.118	4.027	0.045	
Step 4		AFP	0.141	4.770	<b>0.029</b>	

Logistic Regression testi,  $p < 0.05$

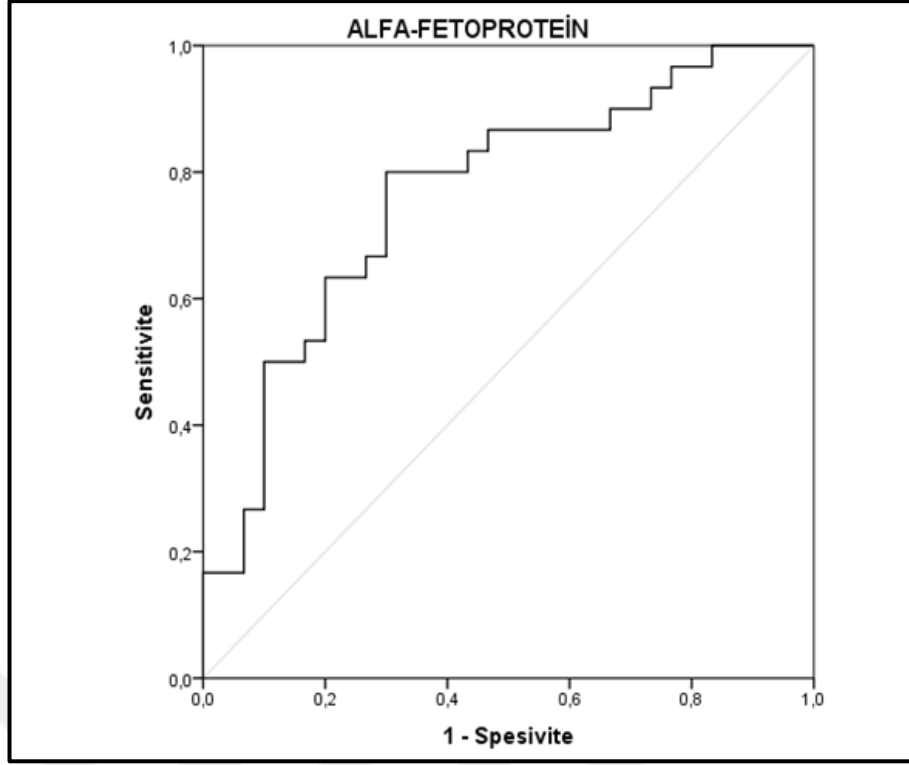
**Tablo 12:** Gruplara ait parametrelerin tanısal değer karşılaştırmaları

Grup	Değişken	-2 Log Likelihood of		
		Reduced Model	X <sup>2</sup>	p
Kontrol-Siroz	RESOLVIN D1	26.348	8.370	<b>0.004</b>
	AFP	22.468	4.491	<b>0.034</b>
	TBİL	19.906	1.929	0.165
Kontrol-HCC	RESOLVIN D1	7.710	7.710	<b>0.005</b>
	AFP	0.000	0.000	0.999
	GGT	0.000	0.000	0.999
	ALT	0.000	0.000	0.999
	TBİL	0.000	0.000	0.999
Siroz-HCC	RESOLVIN D1	39.724	2.250	0.134
	AFP	52.408	14.934	<b>&lt;0.001</b>
	ALT	37.476	0.002	0.965
	GGT	38.068	0.594	0.441

Likelihood Ratio testi,  $p < 0.05$

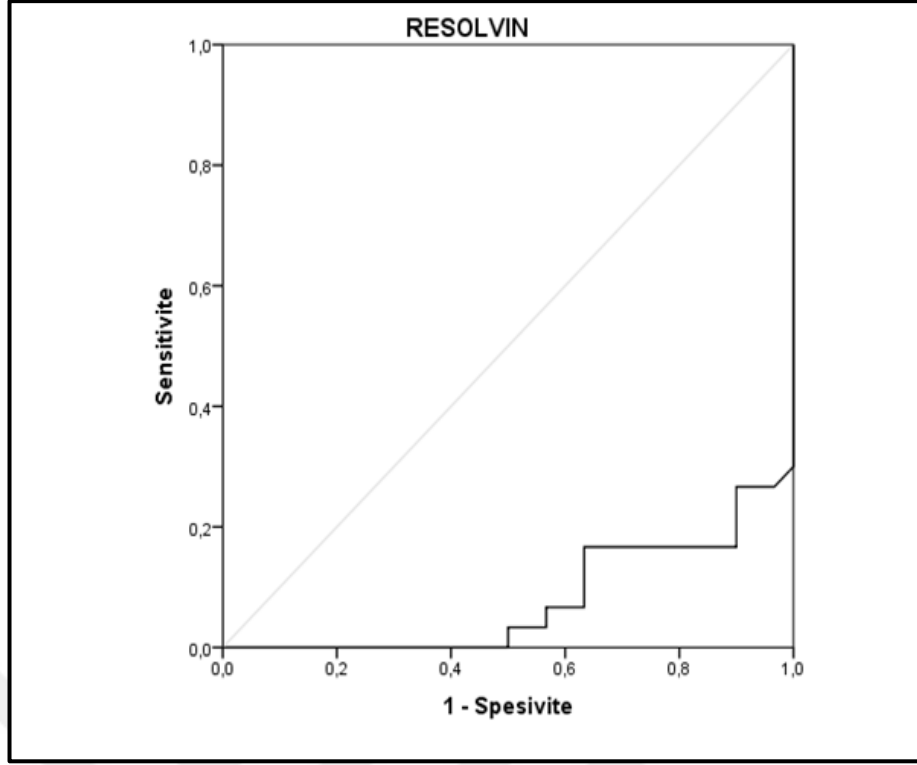


**Şekil 15:** Siroz hastalarını kontrol grubundan ayırt edebilen Resolvin D1 değişkenine ait ROC-Curve grafiği



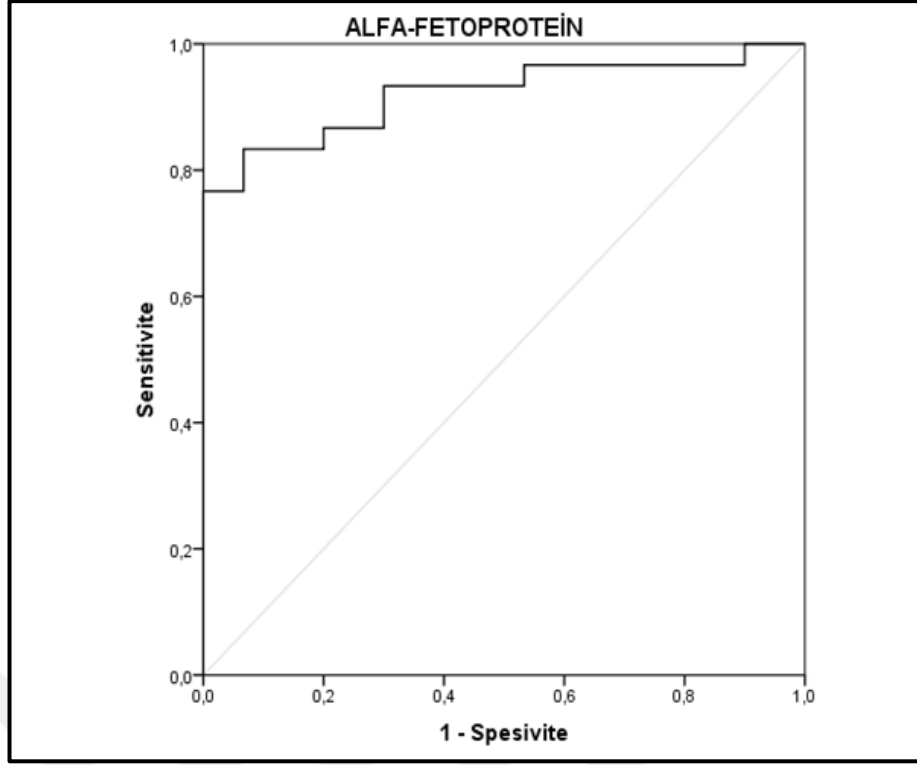
**Şekil 16:** Siroz hastalarını kontrol grubundan ayırt edebilen Alfa-fetoprotein değişkenine ait ROC-Curve grafiği

ROC-Curve testi sonunda resolvin D1 değeri  $<2.46$  (area=0.078,  $p<0.001$ , sensitivite %74, spesivite %96), AFP değeri  $>4.31$  (area=0.921,  $p<0.001$ , sensitivite %83, spesivite %83), lenfosit değeri  $<1840$  (area=0.264,  $p=0.007$ , sensitivite %72, spesivite %77), NLR değeri  $>2.46$  (area=0.697,  $p=0.023$ , sensitivite %72, spesivite %73), ALT değeri  $>22.50$  (area=0.818,  $p<0.001$ , sensitivite %72, spesivite %73), GGT değeri  $>60$  (area=0.838,  $p=0.016$ , sensitivite %65, spesivite %83) ve/veya total bilirubin değeri  $>0.62$  (area=0.800,  $p=0.015$ , sensitivite %83, spesivite %73) olduğu koşulda bu parametrelerin HCC hastalarını sağlıklı hastalardan ayırt edebileceği öngörüldü (Tablo 11). Ancak yapılan lojistik regresyon analizinde 5 step sonunda ( $B=-1.031$ , Wald=14.159,  $p<0.01$ ) ve ilave olarak *Likelihood Ratio* testi ( $X^2=7.710$ ,  $p=0.005$ ) sonunda sadece resolvin D1 düzeyinin HCC hastalarını sağlıklı hastalardan ayırt etmede en iyi parametre olabileceği bulundu (Tablo 11, Tablo 12, Şekil 17).



**Şekil 17:** HCC hastalarını sağlıklı kişilerden ayırt edebilen Resolvin D1 değişkenine ait ROC-Curve grafiği

*ROC-Curve* testi sonunda Resolvin D1 değeri  $<3.41$  (area=0.282,  $p=0.004$ , sensitivite %84, spesivite %60), AFP değeri  $>5.63$  (area=0.854,  $p<0.001$ , sensitivite %80, spesivite %84), lökosit sayısı  $>5925$  (area=0.694,  $p=0.025$ , sensitivite %83, spesivite %64), nötrofil sayısı  $>3820$  (area=0.689,  $p=0.030$ , sensitivite %72, spesivite %64), ALT değeri  $>22.50$  (area=0.686,  $p=0.032$ , sensitivite %72, spesivite %60) ve/veya GGT değeri  $>62$  (area=0.716,  $p=0.015$ , sensitivite %65, spesivite %67) olduğu koşulda bu parametrelerin HCC hastalarını siroz hastalarından ayırt edebileceği öngörüldü (Tablo 11). Ancak yapılan lojistik regresyon analizinde 4 step sonunda ( $B=0.141$ , Wald=4.770,  $p=0.029$ ) ve ilave olarak *Likelihood Ratio* testi ( $X^2=15.263$ ,  $p<0.001$ ) sonunda sadece AFP düzeyinin HCC hastalarını siroz hastalarından ayırt etmede en iyi parametre olabileceği bulundu (Tablo 11, Tablo 12, Şekil 18).



**Şekil 18:** HCC hastalarını siroz hastalarından ayırt edebilen Alfa-fetoprotein değişkenine ait ROC-Curve grafiği

## 5. TARTIŞMA

Hepatoselüler karsinom, karaciğerin en yaygın primer tümörüdür. Dünyada en sık görülen 5. kanser ve kansere bağlı ölümlerde 2. sıradadır. Hastaların çoğu tanı aldığı anda ileri evredir, tedavi yöntemleri ve tedavi şansı sınırlıdır. Beş yıllık sağkalımı %10'dan azdır.

Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar, kanserlerin yaklaşık %15'inin kronik enfeksiyon ve inflamasyonla ilişkili olduğunu göstermiştir (118). Hem enfeksiyöz hemde non-enfeksiyöz kronik inflamatuvar hastalıklar epidemiyolojik ve nedensel olarak tümörlerin gelişimi ile ilişkilidir. En iyi bilinen örnekleri, helicobacter pylori-gastrik kanser, human papilloma virus-serviks kanseri, hepatit C virüsü ya da oto-immün hepatit-hepatoselüler kanser, reflü özefajit-özefagus kanseri ve inflamatuvar barsak hastalıkları-kolon kanseri arasındaki ilişkidir (119).

Hepatoselüler karsinom sıklıkla kronik karaciğer hasarı, hepatik inflamasyon ve fibrozis zemininde gelişir (120). Karaciğer hasarına neden olan HBV, HCV, alkol kullanımı, oto-immünite ve non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı inflamasyonu uyarmaktadır. Oluşan inflamasyon 3 şekilde sonuçlanabilir; kronik inflamasyon, fibrozis ile iyileşme ve rezolüsyon. Kronik inflamasyon ve fibrozis, hasarlı dokuda fonksiyon kaybına neden olur. İnflamasyonun rezolüsyonla sonuçlanması idealdir ve doku homeostazisinin yeniden düzenlenmesini sağlar.

Hepatoselüler karsinom patogenezi aydınlatmaya yönelik çalışmalar son yıllarda karsinogenezde rol oynayan sinyal ileti yolları üzerinde yoğunlaşmıştır. Pro-inflamatuvar sitokinler tümör gelişiminde, invazyonunda ve metastazda önemli rol oynar. Hepatoselüler karsinogenezde fibrozis ile ilişkili hepatosit nekroz ve rejenerasyonunu içeren sürekli inflamatuvar hasarı kapsayan kompleks ve çok basamaklı yolların rol oynadığı düşünülmektedir. Sirotik karaciğerde artan pro-inflamatuvar sitokinler olan IL-6 ve TNF- $\alpha$ / NF- $\kappa$ B yolağı ile hepatokarsinogenez başlatılmaktadır. Bu yollar ile, tümör süpresör genlerin baskılanması ve onkogenlerin aktivasyonuna yol açan mutasyonlar sonucunda anormal hücre proliferasyonu olmaktadır (41).

Rezolüsyonda görevli resolvin D1, nötrofil göçünü azaltıp, makrofaj eferositozunu artırarak akut inflamasyonun homeostazisini sağlar. Resolvin D1, iltihaplanma süresini ve büyüklüğünü kontrol eden güçlü stereoselektif agonisttir. Bu bileşikler ayrıca nöral sistemde, karaciğerde, akciğerde ve gözde güçlü koruyucu roller de sergilerler (110). Resolvin D1, makrofajlarda TNF- $\alpha$  salınmasını azaltır. 5-LOX ve

COX-2 baskılanmasını sağlar. Hepatositlerde DNA hasarını ve oksidatif radikalleri azaltarak, nekroinflamatuvar karaciğer hasarını azaltmaktadır (121). İnflamasyonun rezolüsyonunda görevli lipid mediyatörlerinin inflamasyon bölgesinde azalması pro-inflamatuar kaskadı tetikleyerek kronik inflamasyon ile sonuçlanmasına neden olur. Resolvin D1'in azalması, hem kronik inflamasyonu hemde pro-inflamatuar sitokinler aracılığı ile hepatokarsinogenez oluşumunu tetikler.

Çalışmamızda hepatoselüler karsinom geliştiren sirotik hastalarda, geliştirmeyen hastalara ve normal popülasyona göre, resolvin D1'in hepatoselüler karsinomun patogeneziindeki rolünü ortaya koymayı ve AFP belirteci ile karşılaştırmayı amaçladık.

Çalışmamızdaki hepatoselüler karsinomlu tüm hastalar sirotik karaciğere sahiptir ve hepatoselüler karsinom ve sirotik hastaların etiyojisinde en sık kronik HBV enfeksiyonu, sonra NASH ve kronik HCV enfeksiyonu bulunmuştur. Akinyemiju ve ark. (1) HCC etiyojisinin yaklaşık %54'ü HBV enfeksiyonuna, %31'i HCV enfeksiyonuna ve %15'i diğer nedenlere bağlı olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda en sık sebep kronik HBV enfeksiyonudur ve sonuçlar Afrika ve Doğu Asya'ya benzer bulunmuştur. Batı ülkelerinde ise en sık sebep HCV enfeksiyonudur (1).

Kronik inflamatuvar hastalıklarda ve tümör mikro-çevresinde pro-inflamatuar sitokinlerin arttığı, rezolüsyonla ilgili mediyatörlerin azaldığı bilinmektedir (110). Navarini ve ark. 30 sistemik lupus eritematozuslu (SLE) hastanın sağlıklı gruba göre resolvin D1 düzeyini daha düşük bulmuştur (122). Fedirko ve ark. (123) 200 hastada yaptığı ilk insan çalışmasında ise, kolon adenomu olan hastalarda resolvin D1 ile ilişki olmadığını göstermiştir. Morshedzadeh ve ark. (124) 60 hastada yaptığı bir çalışmada, polikistik over sendromunda sağlıklı gruba göre resolvin D1'in daha düşük olduğunu ve buna bağlı olarak subklinik inflamasyon geliştiği bildirmiştir. Zhuang ve ark. (125) kolon kanserli ve sağlıklı kişileri karşılaştırdıkları çalışmada, 50 kolon kanserli hastada, inflamatuvar sitokinlerin arttığını, resolvin D1'in ise azaldığını bulmuştur ve kanserin evresi arttıkça resolvin D1 düzeyinin düştüğünü bildirmiştir. Benzer şekilde metastatik karaciğer kanseri olan hastalarda, rezeksiyondan sonra erken dönemde resolvin D1 düzeyinin düşük olduğu, geç dönemde ise arttığı saptanmıştır (126). Çalışmamızda resolvin D1 düzeyi, HCC ile kontrol grubu, siroz ile kontrol grubu ve HCC ile siroz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulunmuştur. HCC'li grubun sirozlu gruba göre, sirozlu grubun kontrol grubuna göre resolvin D1



düzeyi daha düşüktür. İnflamasyonun derecesi ile resolvin D1 düzeyi negatif koreledir. Çalışmamız, inflamasyonun ilerlemesi ve karsinogenez gelişimi ile resolvin D1 düzeyinin giderek azaldığını göstermiştir.

Resolvin D1 ile ilgili yapılan birçok deneysel çalışma mevcuttur. Kuang ve ark. (127) farelerde yaptığı çalışmada, konkanavalinin indüklediği karaciğer kanserinde resolvin D1'in inflamatuvar sitokinleri (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-1 $\beta$  ve IL-6) ve NF- $\kappa$ B sinyalizasyonunu azalttığını göstermiştir. Sulciner ve ark. (128) akciğer kanserinde verilen sitotoksik kemoterapinin yol açtığı hücre debrisinin, resolvin D1 ile klirensinin arttığını ve sitotoksik kemoterapiye ilave olarak tedavide kullanılabileceğini bildirmiştir. Kang ve ark. (129) resolvin D1'in iskemik karaciğer hasarında pro-inflamatuvar sitokinleri azalttığını ve makrofaj polarizasyonunu M1 yolağından, M2 yolağına değiştirdiğini bulmuştur. Lee ve ark. (130) akciğer kanserinde resolvin D1'in ALX/FPR2 ve GPR32 reseptörleri aracılığı ile TGF- $\beta$ 1'i inhibe ettiğini ve metastazı azalttığını göstermiştir. Deyama ve ark. (131) resolvin D1'in lipopolisakkarit ile indüklenen depresyon modellerinde anti-depresan etkilerini bulmuştur. Bütün bu deneysel çalışmalar ve çalışmamız birlikte değerlendirildiğinde hepatoselüler karsinom patogeneğinde, rezolüsyonda görevli olan resolvin D1'in rol ve önemi daha iyi anlaşılmaktadır.

Sirotik süreç hepatosellüler kanser gelişiminde önemli bir predispozan faktördür. Sirozlu hastaların HCC gelişimi açısından yakın takibi ve erken evrede HCC gelişiminin saptanması idealdir. Yapılan çalışmalarda AFP ile hepatoselüler karsinom prognozu arasında negatif korelasyon bulunmuştur (132, 133). Yan ve ark. (134) 24 HCC ve 62 HBV ilişkili karaciğer sirozlu hastada yaptıkları çalışmada, AFP düzeyi ile HCC gelişimi ve tümör evresi arasında pozitif korelasyon bulmuşlardır. Bu nedenle hepatoselüler karsinomun, sirotik ve sağlıklı popülasyondan ayrımında tanısal anlamda AFP proteini değerlidir. Çalışmamızın sonuçlarına göre AFP ölçümleri hem HCC ile siroz grubu hem HCC ile kontrol grubu hem de siroz ile kontrol grupları arasında ayırımı yapabilmektedir ( $p < 0.001$ ). Ayrıca çalışmamızda tümör evresi ve AFP düzeyi ile resolvin D1 düzeyinin negatif korelasyon gösterdiği bulundu. Bu da bize resolvin D1 düzeyindeki düşüklüğün hepatoselüler karsinom tanısında ve progresyonunda önemli bir parametre olabileceğini düşündürdü.

Çalışmamızda sirotik hasta grubunun ve HCC'li hasta grubunun Child Pugh skorları arasında anlamlı farklılık bulunmamasına rağmen HCC'li hastalarda resolvin D1 düzeyi sirotik hastalara göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum resolvin D1'in karsinogenezdeki rolünü desteklemektedir.

Çalışmamızda kontrol grubuna göre HCC grubunda AFP proteininin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %83-%83 bulundu. Resolvin D1'in duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %74-%96 bulundu. Siroz grubu ve HCC grubu değerlendirildiğinde AFP proteininin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %80-%84, resolvin D1'in duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %84-%60 bulundu. Çalışmamızda sağlıklı ve HCC grubunun ayırımında en iyi parametre resolvin D1 olmasına rağmen, siroz-HCC, sağlıklı-siroz gruplarının ayırımında AFP daha iyi bir parametre olarak bulunmuştur. Çalışmamız hepatoselüler karsinom ve rezolüsyon yolakları arasındaki ilişkiyi gösteren ilk klinik çalışmadır. Resolvin D1'in HCC patogenezindeki rolünü belirleyecek daha çok sayıda hastanın dahil edildiği klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Rezolüsyonda görevli lipoksin, resolvin, maresin ve protektinleri içeren lipid mediyatörlerinin temel kaynağı diyet ile alımdır. Bu mediyatörlerin diyet ile alımındaki eksiklik ya da rezolüsyon sürecinde yer alan yolaklarında oluşan bozulmalar kronik hastalıkların patogenezinde önemli rol oynar (90). Diyet ile omega-3 alımı rezolüsyonda görevli lipid mediyatörlerinin sentezini artırmakta ve kronik inflamatuvar hastalıkları önlemektedir. Mas ve ark. (135). 8 haftalık omega-3 desteği verilen 85 kronik böbrek hastasında (KBH), hastalık progresyonunun yavaşladığını bulmuştur. İnflamasyonun bulunduğu KBH hastalarında diyet ile resolvin D1 düzeyinin arttığı saptanmıştır. Wang ve ark. (136). 174 hastada yaptığı bir çalışmada ise, 6 ay boyunca omega-3 PUFA verilen Alzheimer hastalarının verilmeyen gruba göre resolvin D1 düzeyleri daha yüksek çıkmıştır. Diyet desteği verilmeyen grupta kognitif fonksiyonların daha hızlı bozulduğu ve hastalığın daha hızlı ilerlediği bulunmuştur. Böylece diyetle verilen omega-3 ile resolvin D1 düzeyinin arttığı ve inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir. Wang ve ark. (137) yaptığı bir çalışmada, mide ve kolon kanseri olan 64 hastaya ameliyattan sonra 5 gün boyunca omega-3'den zengin diyet uygulamıştır ve plazmada anti-inflamatuvar olan LTB5'in arttığını, inflamasyonda görevli IL-6, TNF-a ve NF-κB'nin ise azaldığını bulmuştur. Omega-3 besin desteği verilen başka bir çalışmada, IgA nefropatisinde serum AA metabolitlerinin ve proteinürinin azaldığı saptanmıştır (138). Omega-3 PUFA'dan

zengin beslenen hastaların 4 yıllık kohort çalışmasında zeytin yağı ile beslenenlere göre bilişsel işlev bozulmasında gecikme olduğu bildirilmiştir. Omega-3'den zengin diyetin yaşlanmada bilişsel fonksiyon bozulmasını yavaşlatacağı gösterilmiştir (139). Kemoterapi alan kolorektal kanserli hastalarda, 0,6 g/gün omega-3 diyeti ile 9 hafta sonra ölçülen CRP seviyelerinin azaldığı ve daha az sistemik inflamasyon olduğu bulunmuştur (140). Lu ve ark. (104) hepatoselüler karsinom ve hepatoblastom hücre kültürlerinde, LPS ile artan pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6), resolvin D1 uygulaması ile baskılandığını göstermiştir. Günümüzde herhangi bir nedenle oluşan hepatitlerin sirotik sürece ilerlemesi, sirotik sürecin hepatoselüler karsinoma ilerlemesi güncel tedavi yöntemleri ile engellenememektedir. Ayrıca ileri evre hepatoselüler karsinomun tedavisi günümüzde küratif değildir. Çalışmamıza göre resolvin D1 düzeyi sirotik hastalarda ve sirotik hastalara oranla hepatoselüler karsinomu olan hastalarda düşük düzeyde bulunmuştur. Bu durum bize diyet ile rezolüsyonda görevli SPM'lerin ilerleyen süreçte hastalık progresyonunu engelleyebileceğini, siroz ve hepatoselüler karsinom tedavisinde önemli yere sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu düşüncüyü destekleyen klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda 3 grup arasında lenfosit, ALT, GGT değerleri arasında anlamlı farklılık mevcuttu ve literatür ile uyumlu bulundu.

Hasta sayımızın az olması çalışmamızın kısıtlılıklarındandır. Daha çok sayıda kişi ile yapılmış çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ

Çalışmamızda resolvin D1'in hepatoselüler karsinom patogenezindeki rolünü değerlendirdik ve AFP ile karşılaştırdık. Çalışmamız hepatoselüler karsinom ve rezolüsyon mediyatörü olan resolvin D1 arasındaki ilişkiyi gösteren ilk klinik çalışmadır.

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

1. Resolvin D1, HCC grubunda sirozlu gruba göre, sirozlu grupta sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.
2. AFP proteini ölçümleri HCC, siroz ve kontrol gruplarının birbirinden ayrımını yapabilmektedir.
3. Resolvin D1 ölçümleri HCC, siroz ve kontrol gruplarının birbirinden ayrımını yapabilmektedir.
4. Resolvin D1 HCC hastalarını sağlıklı kişilerden ayırt etmede en iyi parametredir.
5. Resolvin D1, AFP düzeyi ve tümör evresi ile negatif korelasyon göstermiştir.

Çalışmamıza göre resolvin D1, sirotik hastaların HCC'ye progresyonunu öngörmeye klinik pratikte önemli tanısal katkı sağlayacaktır. Daha fazla hastanın dahil olduğu ve uzun takip süreli prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Akinyemiju T, Abera S, Ahmed M, Alam N, Alemayohu MA, Allen C, et al. The Burden of Primary Liver Cancer and Underlying Etiologies From 1990 to 2015 at the Global, Regional, and National Level: Results From the Global Burden of Disease Study 2015. *JAMA oncology*. 2017;3(12):1683-91.
2. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2018;69(1):182-236.
3. White DL, Thrift AP, Kanwal F, Davila J, El-Serag HB. Incidence of Hepatocellular Carcinoma in All 50 United States, From 2000 Through 2012. *Gastroenterology*. 2017;152(4):812-20.e5.
4. Galle PR, Forner A, Llovet JM, Mazzaferro V, Piscaglia F, Raoul J-L, et al. EASL clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*. 2018;69(1):182-236.
5. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2007;132(7):2557-76.
6. Uzunalimoglu O, Yurdaydin C, Cetinkaya H, Bozkaya H, Sahin T, Colakoglu S, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in Turkey. *Digestive diseases and sciences*. 2001;46(5):1022-8.
7. Sangiovanni A, Prati GM, Fasani P, Ronchi G, Romeo R, Manini M, et al. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: A 17-year cohort study of 214 patients. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2006;43(6):1303-10.
8. Kim MN, Kim SU, Kim BK, Park JY, Kim DY, Ahn SH, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B patients with transient elastography-defined subclinical cirrhosis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2015;61(6):1851-9.
9. Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Yoshida H, Sato S, Kato N, et al. Risk assessment of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients by transient elastography. *Journal of clinical gastroenterology*. 2008;42(7):839-43.
10. Ripoll C, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace N, Burroughs A, et al. Hepatic venous pressure gradient predicts development of hepatocellular carcinoma independently of severity of cirrhosis. *J Hepatol*. 2009;50(5):923-8.
11. Yang H-I, Lu S-N, Liaw Y-F, You S-L, Sun C-A, Wang L-Y, et al. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2002;347(3):168-74.
12. Chen C-J, Yang H-I, Su J, Jen C-L, You S-L, Lu S-N, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *Jama*. 2006;295(1):65-73.
13. Yu M-W, Yeh S-H, Chen P-J, Liaw Y-F, Lin C-L, Liu C-J, et al. Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men. *Journal of the National Cancer Institute*. 2005;97(4):265-72.
14. Tseng TC, Liu CJ, Yang HC, Su TH, Wang CC, Chen CL, et al. High levels of hepatitis B surface antigen increase risk of hepatocellular carcinoma in patients with low HBV load. *Gastroenterology*. 2012;142(5):1140-9.e3; quiz e13-4.
15. Tong MJ, Blatt LM, Kao JH, Cheng JT, Corey WG. Basal core promoter T1762/A1764 and precore A1896 gene mutations in hepatitis B surface antigen-positive hepatocellular carcinoma: a comparison with chronic carriers. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2007;27(10):1356-63.
16. Chen CF, Lee WC, Yang HI, Chang HC, Jen CL, Iloeje UH, et al. Changes in serum levels of HBV DNA and alanine aminotransferase determine risk for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2011;141(4):1240-8, 8.e1-2.

17. Singal AK, Salameh H, Kuo YF, Fontana RJ. Meta-analysis: the impact of oral anti-viral agents on the incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2013;38(2):98-106.
18. Niederau C, Heintges T, Lange S, Goldmann G, Niederau CM, Mohr L, et al. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *New England Journal of Medicine*. 1996;334(22):1422-7.
19. Varbobitis I, Papatheodoridis GV. The assessment of hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B under antiviral therapy. *Clinical and molecular hepatology*. 2016;22(3):319.
20. Chang MH, You SL, Chen CJ, Liu CJ, Lai MW, Wu TC, et al. Long-term Effects of Hepatitis B Immunization of Infants in Preventing Liver Cancer. *Gastroenterology*. 2016;151(3):472-80.e1.
21. Chang MH, You SL, Chen CJ, Liu CJ, Lee CM, Lin SM, et al. Decreased incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis B vaccinees: a 20-year follow-up study. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(19):1348-55.
22. Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, McGlynn KA, El-Serag HB. Hepatitis C infection and the increasing incidence of hepatocellular carcinoma: a population-based study. *Gastroenterology*. 2004;127(5):1372-80.
23. Hoshida Y, Villanueva A, Sangiovanni A, Sole M, Hur C, Andersson KL, et al. Prognostic gene expression signature for patients with hepatitis C-related early-stage cirrhosis. *Gastroenterology*. 2013;144(5):1024-30.
24. Raimondi S, Bruno S, Mondelli MU, Maisonneuve P. Hepatitis C virus genotype 1b as a risk factor for hepatocellular carcinoma development: a meta-analysis. *J Hepatol*. 2009;50(6):1142-54.
25. Hsu IC, Metcalf RA, Sun T, Welsh JA, Wang NJ, Harris CC. Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature*. 1991;350(6317):427-8.
26. Deugnier YM, Guyader D, Crantock L, Lopez J-M, Turlin B, Yaouanq J, et al. Primary liver cancer in genetic hemochromatosis: a clinical, pathological, and pathogenetic study of 54 cases. *Gastroenterology*. 1993;104(1):228-34.
27. Andant C, Puy H, Bogard C, Faivre J, Soulé J-C, Nordmann Y, et al. Hepatocellular carcinoma in patients with acute hepatic porphyria: frequency of occurrence and related factors. *Journal of hepatology*. 2000;32(6):933-9.
28. Fracanzani AL, Taioli E, Sampietro M, Fatta E, Bertelli C, Fiorelli G, et al. Liver cancer risk is increased in patients with porphyria cutanea tarda in comparison to matched control patients with chronic liver disease. *Journal of hepatology*. 2001;35(4):498-503.
29. Perlmutter DH. Pathogenesis of chronic liver injury and hepatocellular carcinoma in alpha-1-antitrypsin deficiency. *Pediatric research*. 2006;60(2):233.
30. Tsilidis KK, Kasimis JC, Lopez DS, Ntzani EE, Ioannidis JP. Type 2 diabetes and cancer: umbrella review of meta-analyses of observational studies. *Bmj*. 2015;350:g7607.
31. Fuxe J, Karlsson MC, editors. TGF- $\beta$ -induced epithelial-mesenchymal transition: a link between cancer and inflammation. *Seminars in cancer biology*; 2012: Elsevier.
32. Kawai H, Suda T, Aoyagi Y, Isokawa O, Mita Y, Waguri N, et al. Quantitative evaluation of genomic instability as a possible predictor for development of hepatocellular carcinoma: comparison of loss of heterozygosity and replication error. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2000;31(6):1246-50.
33. Bollrath J, Greten FR. IKK/NF- $\kappa$ B and STAT3 pathways: central signalling hubs in inflammation-mediated tumour promotion and metastasis. *EMBO reports*. 2009;10(12):1314-9.

34. Crispe IN. Liver antigen-presenting cells. *Journal of hepatology*. 2011;54(2):357-65.
35. Makarova-Rusher OV, Medina-Echeverez J, Duffy AG, Greten TF. The yin and yang of evasion and immune activation in HCC. *Journal of hepatology*. 2015;62(6):1420-9.
36. Prieto J, Melero I, Sangro B. Immunological landscape and immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2015;12(12):681.
37. Knolle PA, Wöhlleber D. Immunological functions of liver sinusoidal endothelial cells. *Cellular & molecular immunology*. 2016;13(3):347.
38. Fu S, Zhang N, Yopp AC, Chen D, Mao M, Chen D, et al. TGF- $\beta$  induces Foxp3+ T-regulatory cells from CD4+ CD25- precursors. *American Journal of Transplantation*. 2004;4(10):1614-27.
39. Roth GS, Decaens T. Liver immunotolerance and hepatocellular carcinoma: Patho-physiological mechanisms and therapeutic perspectives. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2017;87:101-12.
40. Mishra L, Banker T, Murray J, Byers S, Thenappan A, He AR, et al. Liver stem cells and hepatocellular carcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2009;49(1):318-29.
41. Jin K, Li T, Sanchez-Duffhues G, Zhou F, Zhang L. Involvement of inflammation and its related microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 2017;8(13):22145-65.
42. Luedde T, Beraza N, Kotsikoris V, van Loo G, Nenci A, De Vos R, et al. Deletion of NEMO/IKK $\gamma$  in liver parenchymal cells causes steatohepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer cell*. 2007;11(2):119-32.
43. Ozer Etik D, Suna N, Boyacioglu AS. Management of Hepatocellular Carcinoma: Prevention, Surveillance, Diagnosis, and Staging. *Experimental and clinical transplantation : official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation*. 2017;15(Suppl 2):31-5.
44. Zhang B-H, Yang B-H, Tang Z-Y. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2004;130(7):417-22.
45. Wu JT. Serum alpha-fetoprotein and its lectin reactivity in liver diseases: a review. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 1990;20(2):98-105.
46. Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, Sirlin CB, Abecassis MM, Roberts LR, et al. AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2018;67(1):358-80.
47. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. *European Association for the Study of the Liver. J Hepatol*. 2001;35(3):421-30.
48. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2005;42(5):1208-36.
49. Matsui O, Kobayashi S, Sanada J, Kouda W, Ryu Y, Kozaka K, et al. Hepatocellular nodules in liver cirrhosis: hemodynamic evaluation (angiography-assisted CT) with special reference to multi-step hepatocarcinogenesis. *Abdominal imaging*. 2011;36(3):264-72.
50. Sangiovanni A, Manini MA, Iavarone M, Romeo R, Forzenigo LV, Fraquelli M, et al. The diagnostic and economic impact of contrast imaging techniques in the diagnosis of small hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Gut*. 2010;59(5):638-44.

51. Khalili K, Kim TK, Jang HJ, Haider MA, Khan L, Guindi M, et al. Optimization of imaging diagnosis of 1-2 cm hepatocellular carcinoma: an analysis of diagnostic performance and resource utilization. *J Hepatol.* 2011;54(4):723-8.
52. Hanna RF, Miloushev VZ, Tang A, Finklestone LA, Brejt SZ, Sandhu RS, et al. Comparative 13-year meta-analysis of the sensitivity and positive predictive value of ultrasound, CT, and MRI for detecting hepatocellular carcinoma. *Abdominal Radiology.* 2016;41(1):71-90.
53. Chou R, Cuevas C, Fu R, Devine B, Wasson N, Ginsburg A, et al. Imaging techniques for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Annals of internal medicine.* 2015;162(10):697-711.
54. Lee YJ, Lee JM, Lee JS, Lee HY, Park BH, Kim YH, et al. Hepatocellular carcinoma: diagnostic performance of multidetector CT and MR imaging—a systematic review and meta-analysis. *Radiology.* 2015;275(1):97-109.
55. Rimola J, Forner A, Tremosini S, Reig M, Vilana R, Bianchi L, et al. Non-invasive diagnosis of hepatocellular carcinoma  $\leq$  2 cm in cirrhosis. Diagnostic accuracy assessing fat, capsule and signal intensity at dynamic MRI. *J Hepatol.* 2012;56(6):1317-23.
56. Joo I, Lee JM, Lee DH, Jeon JH, Han JK, Choi BI. Noninvasive diagnosis of hepatocellular carcinoma on gadoteric acid-enhanced MRI: can hypointensity on the hepatobiliary phase be used as an alternative to washout? *European radiology.* 2015;25(10):2859-68.
57. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system: World Health Organization; 2010.
58. Neoplasia ICGfH. Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. *Hepatology (Baltimore, Md).* 2009;49(2):658-64.
59. Calderaro J, Couchy G, Imbeaud S, Amaddeo G, Letouzé E, Blanc J-F, et al. Histological subtypes of hepatocellular carcinoma are related to gene mutations and molecular tumour classification. *Journal of hepatology.* 2017;67(4):727-38.
60. Roskams T, Kojiro M, editors. Pathology of early hepatocellular carcinoma: conventional and molecular diagnosis. *Seminars in liver disease; 2010: © Thieme Medical Publishers.*
61. Silva MA, Hegab B, Hyde C, Guo B, Buckels JA, Mirza DF. Needle track seeding following biopsy of liver lesions in the diagnosis of hepatocellular cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gut.* 2008;57(11):1592-6.
62. Abrams T, Ben-Josef E, Bloomston P, Botha J, Clary B, Covey A, et al. NCCN clinical practice guidelines in oncology: hepatobiliary cancers. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN.* 2009;7(4):350-91.
63. Vitale A, Morales RR, Zanusi G, Farinati F, Burra P, Angeli P, et al. Barcelona Clinic Liver Cancer staging and transplant survival benefit for patients with hepatocellular carcinoma: a multicentre, cohort study. *The lancet oncology.* 2011;12(7):654-62.
64. Marrero JA, Kulik LM, Sirlin CB, Zhu AX, Finn RS, Abecassis MM, et al. Diagnosis, staging, and management of hepatocellular carcinoma: 2018 practice guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology (Baltimore, Md).* 2018;68(2):723-50.
65. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *The New England journal of medicine.* 1996;334(11):693-9.



66. Tabrizian P, Jibara G, Shrager B, Schwartz M, Roayaie S. Recurrence of hepatocellular cancer after resection: patterns, treatments, and prognosis. *Annals of surgery*. 2015;261(5):947-55.
67. Patel SS, Arrington AK, McKenzie S, Mailey B, Ding M, Lee W, et al. Milan Criteria and UCSF Criteria: A Preliminary Comparative Study of Liver Transplantation Outcomes in the United States. *International journal of hepatology*. 2012;2012:253517.
68. Boutros C, Somasundar P, Garrean S, Saied A, Espat N. Microwave coagulation therapy for hepatic tumors: review of the literature and critical analysis. *Surgical oncology*. 2010;19(1):e22-e32.
69. Attwa MH, El-Etreby SA. Guide for diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *World journal of hepatology*. 2015;7(12):1632.
70. Kim S, Lim H, Lee W, Cho J, Jang H-J. Needle-tract implantation in hepatocellular carcinoma: frequency and CT findings after biopsy with a 19.5-gauge automated biopsy gun. *Abdominal imaging*. 2000;25(3):246-50.
71. Zhu AX, Park JO, Ryoo BY, Yen CJ, Poon R, Pastorelli D, et al. Ramucirumab versus placebo as second-line treatment in patients with advanced hepatocellular carcinoma following first-line therapy with sorafenib (REACH): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2015;16(7):859-70.
72. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *The New England journal of medicine*. 2008;359(4):378-90.
73. Cheng AL, Kang YK, Chen Z, Tsao CJ, Qin S, Kim JS, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet Oncology*. 2009;10(1):25-34.
74. Bruix J, Takayama T, Mazzaferro V, Chau G-Y, Yang J, Kudo M, et al. STORM: A phase III randomized, double-blind, placebo-controlled trial of adjuvant sorafenib after resection or ablation to prevent recurrence of hepatocellular carcinoma (HCC). *American Society of Clinical Oncology*; 2014.
75. Cheng AL, Kang YK, Lin DY, Park JW, Kudo M, Qin S, et al. Sunitinib versus sorafenib in advanced hepatocellular cancer: results of a randomized phase III trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31(32):4067-75.
76. Cainap C, Qin S, Huang WT, Chung IJ, Pan H, Cheng Y, et al. Linifanib versus Sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: results of a randomized phase III trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2015;33(2):172-9.
77. Zhu AX, Rosmorduc O, Evans TR, Ross PJ, Santoro A, Carrilho FJ, et al. SEARCH: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of sorafenib plus erlotinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2015;33(6):559-66.
78. Johnson PJ, Qin S, Park JW, Poon RT, Raoul JL, Philip PA, et al. Brivanib versus sorafenib as first-line therapy in patients with unresectable, advanced hepatocellular carcinoma: results from the randomized phase III BRISK-FL study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31(28):3517-24.
79. Llovet JM, Decaens T, Raoul JL, Boucher E, Kudo M, Chang C, et al. Brivanib in patients with advanced hepatocellular carcinoma who were intolerant to sorafenib or

- for whom sorafenib failed: results from the randomized phase III BRISK-PS study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31(28):3509-16.
80. Zhu AX, Kudo M, Assenat E, Cattani S, Kang YK, Lim HY, et al. Effect of everolimus on survival in advanced hepatocellular carcinoma after failure of sorafenib: the EVOLVE-1 randomized clinical trial. *Jama*. 2014;312(1):57-67.
81. Grandhi MS, Kim AK, Ronnekleiv-Kelly SM, Kamel IR, Ghasebeh MA, Pawlik TM. Hepatocellular carcinoma: From diagnosis to treatment. *Surg Oncol*. 2016;25(2):74-85.
82. Burdge GC, Calder PC. Conversion of  $\alpha$ -linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reproduction Nutrition Development*. 2005;45(5):581-97.
83. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *The American journal of clinical nutrition*. 2006;83(6):1467S-76S.
84. Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2002;56(8):365-79.
85. Hibbeln JR, Nieminen LR, Blasbalg TL, Riggs JA, Lands WE. Healthy intakes of n-3 and n-6 fatty acids: estimations considering worldwide diversity. *The American journal of clinical nutrition*. 2006;83(6):1483S-93S.
86. Weylandt KH, Kang JX. Rethinking lipid mediators. *The Lancet*. 2005;366(9486):618-20.
87. Janakiram NB, Mohammed A, Rao CV. Role of lipoxins, resolvins, and other bioactive lipids in colon and pancreatic cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2011;30(3-4):507-23.
88. Recchiuti A. Resolvin D1 and its GPCRs in resolution circuits of inflammation. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2013;107:64-76.
89. Serhan CN. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*. 2014;510(7503):92-101.
90. Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell*. 2010;140(6):871-82.
91. Serhan CN, Chiang N, Dalli J, Levy BD. Lipid mediators in the resolution of inflammation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2014;7(2):a016311.
92. Serhan CN. Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annual review of immunology*. 2007;25:101-37.
93. Romano M. Lipoxin and aspirin-triggered lipoxins. *TheScientificWorldJournal*. 2010;10:1048-64.
94. Arita M, Bianchini F, Aliberti J, Sher A, Chiang N, Hong S, et al. Stereochemical assignment, antiinflammatory properties, and receptor for the omega-3 lipid mediator resolvin E1. *The Journal of experimental medicine*. 2005;201(5):713-22.
95. Arita M, Yoshida M, Hong S, Tjonahen E, Glickman JN, Petasis NA, et al. Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(21):7671-6.
96. Krishnamoorthy S, Recchiuti A, Chiang N, Yacoubian S, Lee CH, Yang R, et al. Resolvin D1 binds human phagocytes with evidence for proresolving receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(4):1660-5.

97. Norling LV, Dalli J, Flower RJ, Serhan CN, Perretti M. Resolvin D1 limits polymorphonuclear leukocyte recruitment to inflammatory loci: receptor-dependent actions. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2012;32(8):1970-8.
98. Krishnamoorthy S, Recchiuti A, Chiang N, Fredman G, Serhan CN. Resolvin D1 receptor stereoselectivity and regulation of inflammation and proresolving microRNAs. *The American journal of pathology*. 2012;180(5):2018-27.
99. Serhan CN, Petasis NA. Resolvins and protectins in inflammation resolution. *Chemical reviews*. 2011;111(10):5922-43.
100. Romano M, Recchia I, Recchiuti A. Lipoxin receptors. *TheScientificWorldJournal*. 2007;7:1393-412.
101. Dufton N, Hannon R, Brancialeone V, Dalli J, Patel HB, Gray M, et al. Anti-inflammatory role of the murine formyl-peptide receptor 2: ligand-specific effects on leukocyte responses and experimental inflammation. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2010;184(5):2611-9.
102. Qu Q, Xuan W, Fan GH. Roles of resolvins in the resolution of acute inflammation. *Cell biology international*. 2015;39(1):3-22.
103. Serhan CN, Levy BD. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *J Clin Invest*. 2018;128(7):2657-69.
104. Lu Y, Xu Q, Yin G, Xu W, Jiang H. Resolvin D1 inhibits the proliferation of lipopolysaccharide-treated HepG2 hepatoblastoma and PLC/PRF/5 hepatocellular carcinoma cells by targeting the MAPK pathway. *Experimental and therapeutic medicine*. 2018;16(4):3603-10.
105. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008;454(7203):428-35.
106. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003;112(12):1796-808.
107. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*. 2003;112(12):1821-30.
108. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annual review of immunology*. 2011;29:415-45.
109. Hellmann J, Tang Y, Kosuri M, Bhatnagar A, Spite M. Resolvin D1 decreases adipose tissue macrophage accumulation and improves insulin sensitivity in obese-diabetic mice. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2011;25(7):2399-407.
110. Recchiuti A. Resolvin D1 and its GPCRs in resolution circuits of inflammation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2013;107:64-76.
111. Stein C, Clark JD, Oh U, Vasko MR, Wilcox GL, Overland AC, et al. Peripheral mechanisms of pain and analgesia. *Brain research reviews*. 2009;60(1):90-113.
112. Xu ZZ, Zhang L, Liu T, Park JY, Berta T, Yang R, et al. Resolvins RvE1 and RvD1 attenuate inflammatory pain via central and peripheral actions. *Nat Med*. 2010;16(5):592-7, 1p following 7.
113. Alam MM, O'Neill LA. MicroRNAs and the resolution phase of inflammation in macrophages. *European journal of immunology*. 2011;41(9):2482-5.
114. Sheedy FJ, Palsson-McDermott E, Hennessy EJ, Martin C, O'Leary JJ, Ruan Q, et al. Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21. *Nat Immunol*. 2010;11(2):141-7.
115. Lawrence T, Gilroy DW, Colville-Nash PR, Willoughby DA. Possible new role for NF-kappaB in the resolution of inflammation. *Nat Med*. 2001;7(12):1291-7.

116. Recchiuti A, Krishnamoorthy S, Fredman G, Chiang N, Serhan CN. MicroRNAs in resolution of acute inflammation: identification of novel resolvin D1-miRNA circuits. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2011;25(2):544-60.
117. Fredman G, Li Y, Dalli J, Chiang N, Serhan CN. Self-limited versus delayed resolution of acute inflammation: temporal regulation of pro-resolving mediators and microRNA. *Scientific reports*. 2012;2:639.
118. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420(6917):860.
119. Meng H, Shen Y, Shen J, Zhou F, Shen S, Das UN. Effect of n-3 and n-6 unsaturated fatty acids on prostate cancer (PC-3) and prostate epithelial (RWPE-1) cells in vitro. *Lipids in health and disease*. 2013;12(1):160.
120. Baglieri J, Brenner DA, Kisseleva T. The Role of Fibrosis and Liver-Associated Fibroblasts in the Pathogenesis of Hepatocellular Carcinoma. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(7).
121. Serhan CN. Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:101-37.
122. Navarini L, Bisogno T, Margiotta DPE, Piccoli A, Angeletti S, Laudisio A, et al. Role of the Specialized Proresolving Mediator Resolvin D1 in Systemic Lupus Erythematosus: Preliminary Results. *Journal of immunology research*. 2018;2018.
123. Fedirko V, McKeown-Eyssen G, Serhan CN, Barry EL, Sandler RS, Figueiredo JC, et al. Plasma lipoxin A4 and resolvin D1 are not associated with reduced adenoma risk in a randomized trial of aspirin to prevent colon adenomas. *Molecular carcinogenesis*. 2017;56(8):1977-83.
124. Morshedzadeh N, Saedisomeolia A, Djalali M, Eshraghian MR, Hantoushzadeh S, Mahmoudi M. Resolvin D1 impacts on insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome and healthy women. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2019;13(1):660-4.
125. Zhuang Q, Meng Q, Xi Q, Wu G. Association of serum inflammatory cytokines and Resolvin D1 concentration with pathological stage of colon cancer. *Zhonghua wei chang wai ke za zhi= Chinese journal of gastrointestinal surgery*. 2018;21(11):1285-90.
126. Cata JP, Velasquez JF, Ramirez MF, Vauthey J-N, Gottumukkala V, Conrad C, et al. Inflammation and pro-resolution inflammation after hepatobiliary surgery. *World journal of surgical oncology*. 2017;15(1):152.
127. Kuang H, Hua X, Zhou J, Yang R. Resolvin D1 and E1 alleviate the progress of hepatitis toward liver cancer in long-term concanavalin A-induced mice through inhibition of NF-kappaB activity. *Oncology reports*. 2016;35(1):307-17.
128. Sulciner ML, Serhan CN, Gilligan MM, Mudge DK, Chang J, Gartung A, et al. Resolvins suppress tumor growth and enhance cancer therapy. *The Journal of experimental medicine*. 2018;215(1):115-40.
129. Kang JW, Lee SM. Resolvin D1 protects the liver from ischemia/reperfusion injury by enhancing M2 macrophage polarization and efferocytosis. *Biochimica et biophysica acta*. 2016;1861(9 Pt A):1025-35.
130. Lee HJ, Park MK, Lee EJ, Lee CH. Resolvin D1 inhibits TGF-beta1-induced epithelial mesenchymal transition of A549 lung cancer cells via lipoxin A4 receptor/formyl peptide receptor 2 and GPR32. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2013;45(12):2801-7.
131. Deyama S, Ishikawa Y, Yoshikawa K, Shimoda K, Ide S, Satoh M, et al. Resolvin D1 and D2 Reverse Lipopolysaccharide-Induced Depression-Like

- Behaviors Through the mTORC1 Signaling Pathway. *The international journal of neuropsychopharmacology*. 2017;20(7):575-84.
- 132.Kirchner G, Kirovski G, Hebestreit A, Schölmerich J, Schlitt HJ, Stoeltzing O, et al. Epidemiology and survival of patients with hepatocellular carcinoma in Southern Germany. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2010;3(2):169.
- 133.Saito H, Masuda T, Tada S, Ebinuma H, Yamagishi Y, Ojiro K, et al. Hepatocellular Carcinoma in Keio Affiliated Hospitals—Diagnosis, Treatment, and Prognosis of this Disease—. *The Keio journal of medicine*. 2009;58(3):161-75.
- 134.Yan L, Chen Y, Zhou J, Zhao H, Zhang H, Wang G. Diagnostic value of circulating cell-free DNA levels for hepatocellular carcinoma. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2018;67:92-7.
- 135.Mas E, Barden A, Burke V, Beilin LJ, Watts GF, Huang R-C, et al. A randomized controlled trial of the effects of n-3 fatty acids on resolvins in chronic kidney disease. *Clinical nutrition*. 2016;35(2):331-6.
- 136.Wang X, Hjorth E, Vedin I, Eriksdotter M, Freund-Levi Y, Wahlund L-O, et al. Effects of n-3 FA supplementation on the release of proresolving lipid mediators by blood mononuclear cells: the OmegAD study. *Journal of lipid research*. 2015;56(3):674-81.
- 137.Wang J, Yu JC, Kang WM, Ma ZQ. Superiority of a fish oil-enriched emulsion to medium-chain triacylglycerols/long-chain triacylglycerols in gastrointestinal surgery patients: a randomized clinical trial. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*. 2012;28(6):623-9.
- 138.Zivkovic AM, Yang J, Georgi K, Hegedus C, Nording ML, O'Sullivan A, et al. Serum oxylipin profiles in IgA nephropathy patients reflect kidney functional alterations. *Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society*. 2012;8(6):1102-13.
- 139.Hashimoto M, Yamashita K, Kato S, Tamai T, Tanabe Y, Mitarai M, et al. Beneficial effects of daily dietary omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on age-related cognitive decline in elderly Japanese with very mild dementia: a 2-year randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Aging Res Clin Practice*. 2012;1:193-201.
- 140.Mocellin MC, Camargo CQ, Nunes EA, Fiates GM, Trindade EB. A systematic review and meta-analysis of the n-3 polyunsaturated fatty acids effects on inflammatory markers in colorectal cancer. *Clinical nutrition*. 2016;35(2):359-69.

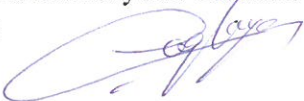
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Hepatoselüler karsinom ile resolvin D1 arasındaki ilişki,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	Yenişehir Mahallesi Tahsin Duru Caddesi No:14 YAHŞİHAN/KIRIKKALE
	TELEFON	0 318 333 50 10/5733
	FAKS	0 318 224 07 86
	E-POSTA	ketik@kku.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Özlem Gül UTKU			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	İç Hastalıkları			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
		Gözlemsel ilaç çalışması	<input type="checkbox"/>		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	<input type="checkbox"/>		
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Osman ÇAĞLAYAN  
İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Hepatoselüler karsinom ile resolvin D1 arasındaki ilişki,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mart 2019	02	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mart 2019	02	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	Mart 2019	02	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BAŞVURU FORMU	Mart 2019	02	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
DİĞER:	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	<b>Karar No:06/03</b>	<b>Tarih: 19.03.2019</b>				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	<b>Prof. Dr. Osman ÇAĞLAYAN</b>

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Osman ÇAĞLAYAN	Tıbbi Biyokimya	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Meral SAYGUN	Halk Sağlığı	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. H. Ebru OLGUN	Periodontoloji	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Orhan Murat KOÇAK	Psikiyatri	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Gülten KARACA	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Gökçe ŞİMŞEK	KBB	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Özkan ÖZGÜL	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doktor Öğretim Üyesi Faruk Metin ÇOMU	Fizyoloji	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doktor Öğretim Üyesi Faruk PEHLİVANLI	Genel Cerrahi	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Osman ÇAĞLAYAN  
İmza:

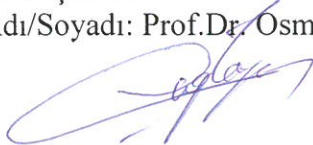
Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	<b>Hepatoselüler karsinom ile resolvin D1 arasındaki ilişki,</b>
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Doktor Öğretim Üyesi Mehmet Kürşat DERİCİ	Tıbbi Farmakoloji	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Garets
Öğretim Görevlisi Hakan YAPICI	Hareket ve Antrenman	Kırıkkale Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Burhan BİRİCİ	Serbest Eczacı	Kırıkkale- Merkez	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. Halil MUTLU	Hukuk	Kırıkkale-Merkez	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Osman ÇAĞLAYAN  
İmza:



*Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.*