

Aspek Klinik, Molekuler, dan Histopatologi Adenoma Hepatoseluler

Fresia Juwitasari Wongkar
Puspita Eka Wuyung
Marini Stephanie

Departemen Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia
Jakarta

ABSTRAK

Adenoma hepatoseluler (*Hepatocellular Adenoma/HCA*) merupakan tumor jinak hepatoseluler yang jarang, umumnya terjadi pada wanita usia reproduktif yang mengkonsumsi kontrasepsi oral. Pada tahun 2006, HCA diklasifikasikan berdasarkan karakteristik genotip dan fenotip menjadi 4 sub tipe, yaitu *hepatocellular adenomas with mutations in the HNF1 α gene* (H-HCA) dengan frekuensi 30-35% kasus, *hepatocellular adenoma with mutations of the β -catenin gene* (B-HCA) dengan frekuensi 10-15% kasus, *inflammatory/teleangiectatic hepatocellular adenoma* (I-HCA) dengan frekuensi 50-60% kasus, dan *unclassified HCA* (U-HCA) dengan frekuensi 10% kasus. Berbagai sub tipe tersebut memiliki aspek klinis, histopatologi, dan molekuler yang berbeda. Pemeriksaan imunohistokimia terhadap jaringan hasil reseksi atau biopsi dapat membantu diagnosis HCA berdasarkan sub tipe. Klasifikasi ini penting untuk menentukan prognosis dan pemilihan terapi pada pasien HCA.

Kata kunci: adenoma hepatoseluler, *hepatocellular adenomas with mutations in the HNF1 α gene* (H-HCA), *hepatocellular adenoma with mutations of the β -catenin gene* (B-HCA), *inflammatory/teleangiectatic hepatocellular adenoma* (I-HCA)

PENDAHULUAN

Adenoma hepatoseluler (*hepatocellular adenoma/HCA*) merupakan tumor jinak hati yang tersusun atas hepatosit.¹ Tumor ini jarang, hanya 2% dari seluruh tumor di hati dengan insiden 3-4 kasus per 100.000 pengguna kontrasepsi oral jangka panjang (>2 tahun).^{2,3} Berdasarkan data arsip Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo, terdapat 4 kasus HCA selama tahun 2011-2016. Keempat kasus terjadi pada wanita dengan rentang usia 30-50 tahun.

Umumnya HCA terjadi pada wanita yang mengkonsumsi kontrasepsi oral. Oleh sebab itu, sering ditemukan pada wanita usia reproduktif dengan usia 15-45 tahun. Jarang ditemukan pada pria atau anak-anak.³⁻⁵

Dalam beberapa tahun terakhir, insidens HCA semakin meningkat. Hal ini disebabkan semakin bertambahnya jumlah penderita obesitas dan ditemukannya lesi ini pada wanita dengan usia yang lebih tua (40-50 tahun), wanita yang tidak menggunakan kontrasepsi oral, dan pria. Berbagai faktor risiko yang dapat mencetuskan terjadinya HCA antara lain steroid androgenik anabolik, obesitas, dan gangguan metabolik.^{3,4,6}

Berdasarkan penelitian mengenai HCA yang dilakukan oleh Bioulac-Sage *et al*^{7,8} tahun 2006, HCA diklasifikasikan berdasarkan karakteristik genotip dan fenotipnya menjadi 4 sub tipe, yaitu: (1) *Hepatocellular adenomas with mutations in the HNF1 α gene* (H-HCA), (2) *Hepatocellular adenoma with mutations of the*

β-catenin gene (B-HCA), (3) *Inflammatory/teleangiectatic hepato-cellular adenoma* (I-HCA), dan (4) *Unclassified HCA* (U-HCA) (Tabel 1). Ketiga subtipe pertama mengekspresikan mutasi gen yang spesifik dengan gambaran morfologi yang khas.

Subtipe B-HCA memiliki risiko keganasan lebih tinggi daripada subtipe lain sehingga diagnosis HCA berdasarkan subtipe menjadi sangat penting untuk menentukan prognosis dan pemilihan terapi pada pasien HCA.^{7,9} Tujuan penulisan tinjauan pustaka ini adalah mempelajari aspek klinik, molekuler, dan histopatologi dari HCA dengan subtipenya.

HCA

HCA adalah tumor jinak hati yang jarang, tersusun atas hepatosit.¹ Sebagian besar HCA asimtomatik, namun dapat pula menimbulkan gejala seperti nyeri perut dan perdarahan intraperitoneal. Perdarahan dapat timbul pada 20-25% kasus, terutama jika ukuran tumor lebih dari 5 cm.^{1,4} Selain itu, dapat timbul ikterus akibat efek desakan tumor terhadap sistem bilier intrahepatik. Pada beberapa pasien dapat ditemukan peningkatan enzim *gamma glutamyl transferase* (GGT) dan *alkaline phosphatase* (ALP). Peningkatan *alpha-fetoprotein* (AFP) di serum perlu dicurigai adanya transformasi ke

arah ganas.^{2,4} Transformasi ganas dapat terjadi pada 7% kasus HCA.¹

Pemeriksaan radiologi, yaitu *computerized tomography (CT) scan abdomen* dengan kontras 3 fase (fase arteri hepatis, fase vena porta, dan fase *delayed*) dapat membantu menegakkan diagnosis HCA. Pada fase arteri hepatis, didapatkan penyangatan kontras sehingga lesi tampak hiperdens. Pada fase vena porta dan fase *delayed* akan terjadi *wash-out* sehingga HCA akan tampak isodens (Gambar 1).¹⁰

Makroskopis tampak nodul soliter (70-80%) dengan ukuran dapat mencapai 20 cm, berwarna kuning sampai kecoklatan, berbatas tegas, dan biasanya tidak berkapsul. Nodul multipel, lebih dari 10 nodul di hati disebut *liver adenomatosis*. Pada pembelahan ditemukan area nekrosis, perdarahan, dan fibrosis (Gambar 2).^{1,3}

Mikroskopik menunjukkan sel-sel yang tersusun sinusoidal dengan tebal 1-2 sel per lempeng, yang menyerupai hepatosit normal. Atipia inti dan mitosis jarang ditemukan. Setempat-setempat dapat ditemukan struktur pseudoglandular. Sel tumor bisa mengandung perlemakan. Diantara sel tumor dapat ditemukan "unpaired artery" (arteri yang tidak berpasangan dengan duktus biliaris).¹

Tabel 1. Klasifikasi HCA berdasarkan karakteristik genotip dan fenotip.^{6,12,13}

Subtipe	%	Perubahan genetik	Klinis	Mikroskopik	IHK
H-HCA	30-35%	HNF1α	<i>Liver adenomatosis dan MODY3</i> (Mutasi germinal)	Steatosis	Eksresi LFABP1 berkurang
B-HCA	10-15%	β-katenin	Laki-laki Konsumsi steroid androgenik anabolik Risiko transformasi menjadi ganas	Struktur pseudoglandular Atipia sel	Overekspresi <i>glutamin synthetase</i> (GS) Eksresi β-katenin pada inti dan sitoplasma
I-HCA	50-60%	IL6ST (>60%) STAT3 (12%) GNAS (5%)	Obesitas (IMT>25) Konsumsi alkohol berlebihan <i>Inflammatory syndrome</i>	Infiltrat sel radang Dilatasi sinusoid Penebalan dinding arteri	Overekspresi SAA dan CRP
Unclassified	10%			Tidak diketahui	

10% I-HCA terjadi mutasi β-katenin

Subtipe HCA berdasarkan Klasifikasi Genotip dan Fenotip.

1. *Hepatocellular Adenomas with Mutations in the HNF1α Gene* (H-HCA)

H-HCA terjadi pada 30-35% kasus HCA. Subtipe ini terjadi mutasi bialel pada gen *hepatocyte nuclear factor 1 α* (HNF1α). Mutasi akan menyebabkan inaktivasi dari gen tersebut.^{6,7}

HNF1A

Gen HNF1α terletak pada kromosom 12q24.31, terdiri dari 9 ekson, merupakan gen supresor tumor pada manusia yang berperan dalam tumorigenesis hati. Selain itu gen ini juga menjadi protein HNF1α.¹⁴ Protein HNF1α terdiri atas 631 asam amino dengan berat molekul 68 kDa. Protein ini berfungsi sebagai faktor transkripsi untuk diferensiasi hepatosit dan meregu-

lasi ekspresi dari beberapa gen di hati yang berperan dalam metabolisme glukosa, lemak, dan detoksifikasi.¹⁵

HNF1 α adalah protein yang memiliki 3 domain, antara lain *N-terminal dimerization domain* (asam amino 1-32), *DNA-binding domain* (91-280), dan *C-terminal transactivation domain* (281-631) (Gambar 3). *DNA-binding domain* terdiri dari homeodomain POU-S (91-181) dan domain POU-H (203-280). *N-terminal dimerization domain* dan *DNA-binding domain* dihubungkan oleh *flexible linker regio*. *DNA-binding domain* berfungsi mengikat DNA dan regulasi transkripsi. Bentuk fungsional dari HNF1 α berupa struktur dimer, baik dalam bentuk homodimer ataupun heterodimer dengan HNF1 β .^{15,16}

Mutasi gen HNF1A

Bluteau *et al*¹⁴ menemukan adanya perubahan bialel gen HNF1 α pada 10 dari 16 kasus HCA yang ditelitinya. Satu dari 10 kasus yang diteliti, terjadi mutasi germinal pada alel pertama dan mutasi somatik pada alel kedua. Sembilan kasus lainnya terjadi mutasi somatik pada kedua alel. Mutasi bialel pada gen HNF1 α mendasari terjadinya tumorigenesis di hepar, hal ini sesuai dengan *two hit hypothesis* yang dikemukakan oleh Dr. Knudson (Gambar 4).¹⁷

Jenis mutasi dapat berupa *frameshift mutation*, *missense substitution*, delesi, *Loss of Heterozygosity* (LOH), dan insersi (Tabel 2).^{14,16,18} Mutasi menyebabkan terbentuknya kodon terminasi prematur, sehingga menghasilkan protein yang lebih pendek dari normal. Protein yang pendek ini akan membentuk struktur dimer yang tidak fungsional sehingga mengganggu fungsi normal dari HNF1 α .¹⁶

Tabel 2. Tipe mutasi gen HNF1 α pada adenoma hepatoseluler.¹⁴

Alel 1	Alel 2
685C→T, Arg229X	LOH
617G→T, Trp206Leu	872del13, Pro291fsX342
617G→T, Trp206Leu	730A→G, Arg244Gly
710A→G, Asn237Ser	LOH
436delC, Gln146fsX154	LOH
82C→T, Gln28X	LOH
817A→G, Lys273Glu	LOH
spIVS2+1G→A, Trp165X	618G→T, Trp206Cys
18del19bpinsT, del7-12	27del7bp, Gln9fsX21
872insC, Pro291fsX316	803T→G, Phe268Cys

del, deletion; ins, insertion ;fsX, frameshift ;LOH, *loss of heterozygosity*.

Berdasarkan penelitian Yamagata *et al*¹⁶ mengenai mutasi germinal pada gen HNF1 α ,

ditemukan bahwa gen ini penyebab terjadinya *maturity-onset diabetes of the young type 3* (MODY3). MODY3 adalah subtype dari *non-insulin dependent diabetes melitus* yang diturunkan, umumnya terjadi pada usia kurang dari 25 tahun. Satu alel dari gen HNF1 terinaktivasi dan menyebabkan disfungsi dari sel beta pankreas sehingga terjadi diabetes. MODY3 mempunyai predisposisi untuk berkembang menjadi *familial liver adenomatosis*, dimana dalam perkembangannya tidak dipengaruhi oleh konsumsi kontrasepsi oral, dengan insiden sebanding antara pria dan wanita. Pasien dengan MODY3 perlu dilakukan *monitoring* secara rutin untuk mendeteksi lebih awal terjadinya tumor, begitu juga pasien dengan *liver adenomatosis* terutama mereka yang mempunyai riwayat keluarga dengan penyakit yang sama, perlu dilakukan pemeriksaan untuk mendeteksi ada tidaknya diabetes.^{8,14}

Pada HCA dengan mutasi HNF1 α , terdapat empat gen, yaitu *fructose-biphosphatase* (FBP1), *glucose-6-phosphate transporter* (G6PT1), *phosphoenolpyruvate carboxykinase 1* (PCK1) dan PCK2 yang ekspresinya berkurang. Hal ini menyebabkan penurunan glukoneogenesis. Sebaliknya, ekspresi dari *glucokinase* (GCK), gen yang menyandi enzim glukokinase (GK) meningkat. GK berfungsi memfosforilasi glukosa menjadi glukosa 6 fosfat (G6P), yang kemudian akan mengaktifkan glikolisis (Gambar 5).¹⁹

Selain glikolisis, lipogenesis juga meningkat. Peningkatan glikolisis mengakibatkan produksi piruvat yang berlebihan. Piruvat diperlukan untuk sintesis asetil-KoA di mitokondria. *Citrate shuttle system* yang memindahkan sitrat ke sitoplasma juga meningkat. Selain itu terjadi peningkatan ekspresi gen *ACLY*, yang berperan menyandi enzim *ATP-citrate lyase* (ACL), sehingga terjadi peningkatan jumlah asetil-KoA di sitoplasma. Asetil-KoA yang berada di sitoplasma digunakan untuk mensintesis asam lemak dengan bantuan enzim *acetylCoA carboxylase transcript* (ACACA) dan *fatty acid synthase* (FASN). Kedua enzim ini juga meningkat pada H-HCA, akibatnya terjadi akumulasi asam lemak bebas pada sitoplasma (Gambar 5).^{17,19}

Pasien H-HCA memperlihatkan adanya penurunan glukoneogenesis, peningkatan glikolisis, sehingga menyebabkan peningkatan lipogenesis. Hal ini akan menyebabkan akumulasi asam lemak pada sitoplasma sel tumor,

sehingga pada gambaran mikroskopis tampak steatosis yang difus.^{17,19}

Pelletier *et al*²⁰ melaporkan peningkatan dari *Erb-B2 receptor tyrosine kinase2* (ERBB2) yang akan mengaktifkan jalur sinyal *Mechanistic Target of Rapamycin* (mTOR). Selanjutnya terjadi peningkatan sintesis protein yang diperlukan untuk pertumbuhan sel dan *cell survival*. Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor Subunit A* (PDGFA) dan PDGFB juga meningkat sehingga menyebabkan neovaskularisasi. Selain itu, ekspresi *Cyclin D1* (CCND1) yang meningkat menyebabkan terjadi pembelahan sel yang tidak terkontrol. Sementara itu, ekspresi dari CYP1A1, CYP1A2, dan CYP3A4 berkurang. Gen ini menyandi enzim sitokrom P-450 yang berperan dalam detoksifikasi estradiol, akibatnya akan terjadi akumulasi dari 17- β estradiol, estrogen poten yang *long acting*. Akumulasi estradiol menyebabkan proliferasi dari sel hepatosit meningkat (Gambar 5).^{5,17}

Gambaran Klinis dan Histopatologi H-HCA

Zucman-Rossi *et al*¹⁸ melaporkan 96 kasus HCA di Perancis dari tahun 1992-2004 dengan 44 kasus adalah H-HCA. Mutasi somatik bialel terjadi pada 37 kasus H-HCA, sebagian besar terjadi pada wanita dengan rata-rata usia 40 tahun, dan mempunyai riwayat mengkonsumsi kontrasepsi oral. Makroskopis tampak sebagai nodul soliter, berbatas tegas, dan berwarna kekuningan akibat steatosis yang difus (Gambar 6). Sementara itu, pada 7 kasus terjadi mutasi germinal dengan rata-rata usia 23 tahun. Umumnya pasien dengan mutasi germinal memiliki usia yang lebih muda dibandingkan pasien dengan mutasi somatik, mempunyai riwayat keluarga dengan *liver adenomatosis* dan MODY3. Makroskopis umumnya tampak sebagai nodul multipel. Subtipe ini berisiko rendah untuk transformasi menjadi ganas.^{4,18}

Mikroskopis menunjukkan gambaran steatosis yang difus. Tidak ditemukan atipia sel dan infiltrasi sel radang (Gambar 7).^{6,18} Gambaran steatosis saja tidak cukup untuk mendiagnosis H-HCA karena gambaran ini juga dapat ditemukan pada I-HCA.²²

Liver specific fatty acid binding protein (L-FABP) dapat membantu mendiagnosis H-HCA. Protein ini diekspresikan oleh jaringan hati normal tetapi pada H-HCA ekspresinya berkurang. Hal ini disebabkan ekspresi gen FABP1 yang menyandi protein L-FABP berkurang.^{8,18,22} Pemeriksaan imunohistokimia menunjukkan L-

FABP tampak negatif di area tumor, tetapi positif di area non-tumor (Gambar 8).^{7,18,20}

2. Hepatocellular Adenomas with Mutations of the β -Catenin Gene (B-HCA)

B-HCA terjadi pada 10-15% kasus HCA. Subtipe ini terjadi mutasi pada gen β -katenin. Mutasi pada gen ini akan menyebabkan aktivasi dari jalur sinyal Wnt/ β -katenin.^{6,7}

β -katenin

β -katenin yang dikenal juga dengan CTNNB1 adalah gen yang menyandi protein β -katenin. Gen β -katenin terletak di kromosom 3p22.1 dan terdiri dari 16 ekson.²³

Protein β -katenin terdiri dari 781 asam amino, berat 92 kDa, dan berfungsi sebagai *signal transducer* jalur Wnt/ β -katenin. Jalur ini berperan dalam regenerasi hati dan interaksi antara sel. Protein ini memiliki 3 domain, antara lain *N-terminal domain*, *Armadillo repeat domain* (ARM), dan *C-terminal domain* (Gambar 9). *N-terminal domain* dapat terfosforilasi dan mengikat protein *E3-ubiquitin ligase protein b-TrCP* sehingga menyebabkan degradasi dari β -katenin. Helix C, bagian dari *C-terminal domain* berfungsi seperti *cap* dari domain ARM. Domain ARM adalah tempat pengikatan β -katenin dengan kaderin, *adenomatous polyposis coli* (APC), axin, dan faktor transkripsi *T cell factor* (TCF). Sementara itu, *C-terminal domain* berfungsi untuk mengikat aktivator dan inhibitor proses transkripsi.^{24,25}

β -katenin bersama dengan e-kaderin akan membentuk kompleks β -katenin/e-kaderin yang berfungsi mempertahankan interaksi antara sel. Jika kompleks ini hilang akan menyebabkan terjadinya invasi tumor dan metastasis.²⁴ β -katenin terikat dengan ujung e-kaderin yang berada di sitoplasma. E-kaderin adalah protein permukaan yang berfungsi mempertahankan adhesi antar sel. Ketika terjadi jejas, sel epitel akan saling terlepas sehingga menyebabkan ikatan β -katenin dan E-kaderin menjadi rusak. Keadaan ini akan menyebabkan akumulasi β -katenin yang bebas, akibatnya semakin banyak β -katenin yang translokasi dari sitoplasma ke inti, dan terjadi stimulasi dari gen yang berperan dalam proliferasi sel. Proses ini adalah respon normal ketika terjadi jejas (Gambar 10).¹¹

Selain itu, β -katenin juga berperan dalam transduksi sinyal jalur Wnt/ β -katenin. β -katenin akan terfosforilasi pada domain N-terminal oleh *β -katenin destruction complex*

ketika tidak terdapat sinyal Wnt. Kompleks terdiri atas *glycogen synthase kinase 3* (GSK-3), *casein kinase 1* (CK1), axin, dan APC. Kompleks ini oleh *E3-ubiquitin ligase protein bTrCP* dan *SCF (Skp1/cullin/F-box complex)* akan dipresentasikan ke proteosom dan menyebabkan degradasi dari β -katenin. Hal ini akan mencegah akumulasi β -katenin di sitoplasma (Gambar 11).²⁵

Adanya sinyal Wnt akan menghambat pembentukan *β -katenin destruction complex* sehingga β -katenin berada dalam bentuk yang stabil, dengan demikian β -katenin dapat translokasi dari sitoplasma ke nukleus. β -katenin dengan *DNA-bound TCF complex* di dalam inti sel akan membentuk *transcription activation complex*. Kompleks ini akan merangsang transkripsi dari gen target yang berperan dalam proliferasi sel (Gambar 10).¹¹

Mutasi β -katenin

Mutasi β -katenin pertama kali ditemukan oleh Chen *et al.*²⁶ pada tahun 2002. Mutasi berupa delesi ekson 3 dari gen β -katenin. Delesi akan menghasilkan protein β -katenin yang lebih pendek. Protein yang pendek ini bersifat mutan sehingga tidak dapat terdegradasi. Selanjutnya dapat translokasi dari sitoplasma ke inti sel dan menyebabkan proliferasi sel yang berlebihan. Selain itu, β -katenin yang mutan akan menyebabkan ikatannya dengan e-kaderin terganggu.^{17,18} Berbagai tipe mutasi β -katenin tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Tipe mutasi β -katenin pada adenoma hepatoseluler.¹⁸

Perubahan nukleotida	Perubahan asam amino
101G>A	G34E
98C>T	S33Y
IVS2+147_IVS3+62del	A5_A80del
100G>A	G34R
133T>C	S45P
134C>T	S45F
7_378del	T3_A126del
13_241del	A5_A80del
55_425del,insGGT	K19_Y142del,insV
60_446del	A20_L149del
104A>T	K335I
IVS2-49_426del	A5_Y142del

Pemeriksaan imunohistokimia didapatkan akumulasi β -katenin di sitoplasma dan inti sel.²⁶ Gen target dari β -katenin, yaitu GLUL, yang menyandi *Glutamin synthetase* (GS) diekspresikan secara berlebihan, yaitu 42 kali lipat dibandingkan jaringan non-tumor.¹⁸

Gambaran Klinis dan Histopatologi B-HCA

Zucman-Rossi *et al.*¹⁸ meneliti 96 kasus HCA di Perancis dari tahun 1992-2004 dengan 12 kasus adalah subtipe B-HCA. Proporsi laki-laki lebih banyak pada subtipe B-HCA dibandingkan subtipe yang lain, dengan usia antara 16-48 tahun. Faktor risiko dari B-HCA adalah konsumsi steroid androgenik anabolik (SAA), baik oral ataupun parenteral. Hubungan antara SAA dengan tumor hati pertama kali dilaporkan tahun 1960, pada pasien Anemia Fanconi yang mendapatkan terapi SAA. Jenis SAA yang sering dilaporkan menyebabkan HCA adalah Danazol.²⁷

Makroskopis, umumnya tampak sebagai nodul soliter, berwarna kuning sampai kecoklatan, dan berbatas tegas (Gambar 12). Mikroskopis dapat ditemukan atipia sel dan struktur pseudoglandular sehingga sulit untuk dibedakan dengan *well differentiated HCC*. Selain itu juga dapat ditemukan gambaran kolestasis, sedangkan steatosis jarang ditemukan (Gambar 13).^{4,6}

Pemeriksaan imunohistomikimia menunjukkan β -katenin terpulsa di inti sel dan sitoplasma. Sementara itu, *Glutamin synthetase* (GS) akan terekspresikan kuat dan difus pada area tumor. Pada area non tumor GS hanya terpulsa di area perivenular (Gambar 14).^{4,6}

Identifikasi HCA dengan mutasi β -katenin sangat penting, karena 46% subtipe ini dapat mengalami transformasi menjadi ganas.⁴ Semua HCA yang memperlihatkan mutasi pada β -katenin harus diterapi dengan reseksi untuk mencegah risiko transformasi menjadi ganas.^{12,18}

3. Inflammatory/teleangiectatic Hepatocellular Adenomas (I-HCA)

I-HCA adalah subtipe yang paling sering dengan frekuensi 50-60% dari seluruh tipe HCA. Subtipe ini terjadi mutasi gen IL6ST pada >60% kasus, mutasi gen STAT pada 12% kasus, dan mutasi gen GNAS pada 5% kasus. Mutasi dari ketiga gen ini akan mengaktifasi jalur JAK/STAT.^{6,7}

IL6ST

Gen Interleukin-6 Signal Transducer (IL6ST) terletak di kromosom 5q11.2, memiliki 19 ekson, merupakan gen penyandi protein Gp130. Gp130 terdiri dari 918 asam amino dan merupakan reseptor dari beberapa sitokin terutama Interleukin-6 (IL-6). IL-6 mempunyai 2 reseptor yaitu reseptor subunit α (IL-6R/Gp80) dan reseptor subunit β (Gp130).²⁸

Gp130 memiliki 6 domain, yaitu *N-terminal Ig-like domain* (D1), *cytokine binding domain* (D2-D3), dan *C-terminal fibronectin type III (FNIII) domain* (D4-D6). Domain D2-D3 berfungsi untuk mengikat sitokin IL-6 (Gambar 15).²⁸

STAT3

Gen *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT3) adalah gen yang menyandi protein STAT3. Protein STAT3 adalah 1 dari 7 anggota STAT *family*, terdiri dari 770 asam amino, dan dikenal juga dengan nama *Acute Phase Response factor* (APRF). Protein STAT3 adalah faktor transkripsi yang diaktivasi oleh Gp130 sebagai respon terhadap IL-6.^{30,31}

Protein ini terdiri dari 5 domain yaitu *N-terminal*, *4-helix bundle*, β -barrel connector, SH2 domain, dan *C-terminal domain* (Gambar 17).³⁰ Domain *N-terminal* berfungsi untuk mengikat DNA dan interaksi antara protein. STAT3 adalah protein multifungsi yang berperan dalam respon fase akut dan diferensiasi sel.^{30,31}

GNAS

GNAS (G protein α -subunit) terletak di kromosom 20q13, dan berperan menyandi subunit α dari protein G. Protein G terdiri atas subunit α dan β/γ . Protein ini berfungsi sebagai *signal transducer* dalam jalur *cyclic adenosine mono phosphate* (cAMP). Aktivasi sinyal diawali oleh ikatan molekul seperti hormon dengan reseptor permukaan sel. Selanjutnya akan terjadi kaskade aktivasi sinyal dimulai dari protein G. Protein ini akan mentransmisikan sinyal dari reseptor permukaan untuk mengaktifkan protein adenil siklase. Adenil siklase akan mengubah ATP menjadi cAMP, yang berperan sebagai *second messenger* intrasel.^{32,33}

Jalur Sinyal Gp130/JAK/STAT

Aktivasi jalur ini diawali ikatan IL-6 akan dengan reseptornya yaitu IL-6R (Gp80), kemudian kompleks ini akan berikatan dengan Gp130 menyebabkan dimerisasi dari Gp130, sehingga terbentuk kompleks IL-6/Gp80/Gp130 yang mempunyai struktur heksamer dengan afinitas yang tinggi (Gambar 16). Selanjutnya ikatan ini akan memicu fosforilasi dari Janus kinase 1 (JAK) dan JAK 2 sehingga menjadi aktif. Protein JAK kemudian memfosforilasi bagian ujung Gp130 yang berada di sitoplasma, bagian yang mengikat faktor transkripsi STAT1 dan STAT3 (di domain SH2). STAT1 dan STAT3 akan terfosforilasi pada Tyr 705 dan membentuk

dimer STAT. STAT akan translokasi ke inti sel dan berikatan dengan DNA, kemudian mengaktifkan transkripsi dari gen target yang menyebabkan respon inflamasi akut di hati (Gambar 18).^{17,29}

Mutasi IL6ST/STAT3/GNAS

Mutasi pada gen IL6ST berupa *in-frame deletion* dan delesi. Sebagian besar mutasi terjadi pada domain D2, tempat ikatan dengan IL-6. Mutasi akan menghasilkan protein gp130 yang mutan sehingga dapat menyebabkan dimerisasi dari protein ini walaupun tanpa adanya ikatan dengan IL-6. Selanjutnya akan mengaktifkan jalur JAK/STAT3 dan menyebabkan transkripsi dari gen target. Transkripsi gen target, salah satunya *C-reactive protein* (CRP) akan menyebabkan respon inflamasi akut di hati.^{17,34}

Mutasi STAT3 berupa substitusi asam amino pada domain SH2 dari STAT3. Auto-dimerisasi akan terjadi pada STAT3 yang mutan, dan mengaktifkan transkripsi dari gen target.⁴

Mutasi GNAS berupa substitusi asam amino pada kodon 201 dan 207. Mutasi akan mengaktifkan protein GNAS yang kemudian dapat mengaktifkan adenilat siklase secara terus menerus. Hal ini menyebabkan akumulasi cAMP di dalam sel.¹⁷ cAMP kemudian dapat mengaktifkan STAT3. Mutasi GNAS ini secara tidak langsung mengaktifkan jalur sinyal IL6/JAK/STAT melalui aktivasi STAT3.³⁵

Gambaran Klinis dan Histopatologi I-HCA

Bioulac-Sage *et al*³⁶ melaporkan 184 kasus HCA di Bordeaux, dengan 68 kasus adalah subtype I-HCA. Subtype ini sebagian besar ditemukan pada wanita dengan usia 25-59 tahun. Umumnya pasien I-HCA mengalami obesitas dengan IMT>25 dan mempunyai riwayat mengkonsumsi alkohol berlebihan. Beberapa pasien dapat memperlihatkan gejala *inflammatory syndrome* (demam, leukositosis, dan peningkatan CRP serum), dan akan berkurang jika lesi direseksi.^{1,7} Komplikasi perdarahan lebih sering terjadi pada teleangiectatic HCA.^{37,38}

Makroskopis dapat berupa nodul soliter atau multipel, berwarna merah terang selang-seling dengan warna merah gelap. Area yang gelap adalah zona dengan dilatasi sinusoid (Gambar 19).²¹

Mikroskopis ditemukan gambaran reaksi inflamasi fokal sampai difus, dilatasi sinusoid, kongesti dan peliosis.¹ Selain itu dapat ditemukan *portal tract-like structures* yang terdiri dari arteri besar berdinding tebal, yang dikelilingi

oleh reaksi duktular dan sel-sel radang (limfosit dan neutrofil) (Gambar 20).⁶ Pada I-HCA dapat ditemukan steatosis tetapi tidak seluas H-HCA.³⁷

Pada tipe ini ditemukan peningkatan ekspresi protein reaktan fase akut seperti *serum amyloid A* (SAA) dan *C-reactive protein* (CRP) di dalam massa tumor dan di serum. Pemeriksaan imunohistokimia menunjukkan SAA dan CRP tampak positif kuat dan difus pada hepatosit di dalam massa tumor, dan negatif pada area nontumor (Gambar 21 dan 22).^{4,6}

Sekitar 10% I-HCA memperlihatkan mutasi β -katenin yang memiliki kemampuan transformasi menjadi ganas. Subtipe ini dikenal dengan b-IHCA. Dengan pemeriksaan imunohistokimia, GS akan terekspresikan secara difus di area tumor.⁶

4. **Unclassified HCA (U-HCA)**

Unclassified HCA terdapat pada 10% kasus HCA. Pada U-HCA tidak terdapat mutasi pada gen HNF1 α ataupun β -katenin, tipe ini juga tidak mengekspresikan protein yang disandi oleh gen IL6ST, STAT3, dan GNAS yang mutan.⁴ U-HCA tidak memiliki gambaran morfologi dan pemeriksaan imunohistokimia yang spesifik. HCA yang tidak dapat diklasifikasikan akibat nekrosis dan perdarahan yang luas, juga dimasukkan ke dalam kelompok U-HCA.²¹

Diagnosis Banding

Gambaran morfologi dari HCA sering kali tumpang tindih dengan *focal nodular hyperplasia* dan *well differentiated* HCC sehingga sulit untuk menegakkan diagnosis HCA dari sediaan biopsi hati.⁹ Pemeriksaan imunohistokimia dapat membantu menegakkan diagnosis dan klasifikasi HCA berdasarkan subtipe (Tabel 4).³⁹

1. **Focal Nodular Hyperplasia (FNH)**

FNH umumnya ditemukan pada wanita, dengan usia 20-50 tahun. FNH adalah reaksi regenerasi yang hiperplastik dari hepatosit sebagai respon terhadap gangguan vaskular. Sebagian besar lesi asimtomatik, tetapi lesi dengan ukuran besar dapat menyebabkan nyeri perut dan pendasakan ke organ sekitarnya.^{1,3}

Pemeriksaan radiologi CT scan kontras 3 fase, pada fase arterial lesi akan tampak hiperdens, sedangkan *central stellate scar* tampak hipodens. Sementara pada fase vena porta dan *delayed*, lesi akan tampak isodens, tetapi pada area *central stellate scar* tampak hiperdens.¹⁰

Makroskopis, berupa lesi soliter, pada pembelahan tampak pucat, konsistensi padat, dan berbatas tegas. Lesi dapat berukuran beberapa milimeter sampai lebih dari 10 cm. Lesi terdiri dari nodul-nodul yang masing-masing berukuran 2-3 mm. Khas pada FNH ditemukan *central stellate scar* dengan *radiating fibrous scar* yang memisahkan nodul-nodul (Gambar 23).¹

Mikroskopis, nodul tersusun atas hepatosit yang tersusun sinusoidal dengan lebar ≤ 2 sel per lempeng. Steatosis dapat ditemukan. *Central scar* terdiri dari satu atau lebih *dystrophic vessel*. Pembuluh darah besar menunjukkan penebalan pada tunika intima. *Radiating fibrous scar* mengandung *portal tract-like structure* yang hanya terdiri dari arteri. Infiltrasi sel radang dan reaksi duktular seringkali ditemukan (Gambar 24).¹

Umumnya FNH sulit dibedakan dengan I-HCA. Pada FNH, pemeriksaan dengan GS akan memperlihatkan karakteristik *map like pattern*, pola ini sangat khas untuk FNH (Gambar 25).^{1,21,40}

2. **Well differentiated HCC (Wd-HCC)**

HCC adalah tumor ganas yang berasal dari hepatosit dan merupakan tipe yang tersering kanker hepar primer.⁴² Faktor risikonya antara lain hepatitis B, hepatitis C, aflatoksin, alkohol, merokok, sindrom metabolik, dan usia tua (>40 tahun). Gejalanya bervariasi seperti nyeri perut, malaise, berat badan turun, demam, ikterik, hepatosplenomegali, dan asites. Pada wd-HCC, umumnya AFP normal.^{4,42,43}

Pemeriksaan radiologi CT scan kontras 3 fase, wd-HCC akan memperlihatkan gambaran penyngatan yang atipikal. Pada fase arteri umumnya tidak tampak penyngatan pada lesi, sehingga lesi tampak isodens. Oleh karena itu, lesi ini lebih mudah diidentifikasi pada fase vena porta dan fase *delayed*, dimana terjadi *fast wash-out* sehingga lesi tampak hipodens.¹⁰

Makroskopis, lesi berupa nodul berukuran kecil <2cm, dengan batas yang tidak tegas. Lesi ini sering disebut dengan "*vaguely nodular small HCC*".⁴²

Mikroskopis, lesi terdiri dari sel yang menyerupai hepatosit dengan tebal >3 sel, atipia ringan, rasio N/C meningkat, tersusun dalam pola trabekular. Sering juga ditemukan struktur pseudoglandular, traktus portalis intratumor, *unpaired arteries*, dan *fatty change* (Gambar 26). Adanya invasi stroma merupakan tanda pasti HCC.^{3,4,42}

B-HCA memperlihatkan gambaran atipia sel dan struktur pseudoglandular, sehingga subtype ini sangat sulit dibedakan dengan wd-HCC.³⁷ Untuk mendiagnosis wd-HCC dapat menggunakan 3 marker yaitu, *glypican 3* (GPC3), *heat shock protein 70* (HSP70), dan *glutamine synthetase* (GS). Ekspresi GPC3, HSP7, dan GS pada wd-HCC meningkat

dibandingkan pada lesi jinak hati seperti HCA. Sensitivitas dan spesifisitas dari masing-masing marker ini adalah 59% dan 86% untuk GS, 69% dan 91% untuk GPC3, dan 78% dan 95% untuk HSP70. Diagnosis wd-HCC dapat ditegakkan jika paling sedikit 2 marker (+/+-) hasilnya positif, dengan sensitivitas 72% dan spesifisitas 100% (Gambar 27).⁴⁴

Tabel 4. HCA versus FNH versus wd-HCC.^{3,10,17,21,36,40,41,43}

	HCA	FNH	Wd-HCC
Klinis			
Usia	15-45 tahun	20-50 tahun	> 40 tahun
Faktor risiko	Kontrasepsi oral, obesitas, alkohol, SAA, MODY3	Gangguan vaskular	HBV, HCV, aflatoxin, alkohol, sindrom metabolik, usia >40 tahun
AFP	Normal	Normal	Normal
Radiologi			
CT Scan kontras 3 Fase			
Fase arteri hepatica	Hiperdens	Hiperdens (<i>central scar</i> hipodens)	Isodens
Fase vena porta	Isodens	Isodens (<i>central scar</i> hiperdens)	Isodens, hipodens
Fase <i>delayed</i>	Isodens	Isodens (<i>central scar</i> hiperdens)	Hipodens (<i>fast wash-out</i>)
Histologi			
Tebal lempeng	1-3 sel	1-2 sel	>3 sel
N:C ratio	Rendah	Rendah	Tinggi
Mitosis	Jarang	-	+
Invasi stroma	-	-	+
Traktus Portal	Portal like structure (I-HCA)	-	+
<i>Central scar</i>	-	+	-
Proliferasi duktulus	+ (I-HCA)	++	-
<i>Trabecular growth</i>	-	-	+
Pseudoglandular	+ (B-HCA)	-	+
Retikulin	Normal/berkurang pada H-HCA	Normal	Loss/intak dengan penebalan lempeng
Imunohistokimia			
LFABP	Negatif (H-HCA)	Positif	Positif
<i>Aberrant</i> β-katenin*	Positif (B-HCA dan b-IHCA)	Negatif	Positif/ negatif
GS	Positif (B-HCA dan b-IHCA)	Positif, "map-like" pattern	Positif/ negatif
SAA/CRP	Positif di sitoplasma (I-HCA)	Negatif	Negatif
<i>Glypican-3</i>	Negatif	Negatif	Positif
HSP 70	Negatif	Negatif	Positif

*Ekspresi β-katenin di inti dan/ sitoplasma

RINGKASAN

HCA merupakan tumor jinak hati yang jarang, tersusun atas hepatosit. Tumor ini dapat diklasifikasikan menjadi 4 subtype berdasarkan karakteristik genotip dan fenotip. Masing-masing subtype kecuali U-HCA mengekspresikan mutasi gen yang spesifik serta memiliki gambaran morfologis yang khas. Pemeriksaan imunohistokimia pada jaringan hasil reseksi atau biopsi, yaitu L-FABP, β-katenin, GS, SAA, dan CRP dapat membantu menegakkan diagnosis HCA

berdasarkan subtype. Klasifikasi subtype ini menjadi sangat penting untuk diterapkan dalam praktik sehari-hari, untuk menentukan prognosis dan pemilihan terapi pada pasien HCA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan untuk kedua pembimbing saya, Dr. Dra. Puspita Eka Wuyung, MS dan dr. Marini Stephanie, SpPA yang telah meluangkan waktu dan perhatiannya untuk membimbing saya hingga tinjauan

pustakaan ini selesai. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan untuk teman-teman PPDS Patologi Anatomik dan PPDS Radiologi atas masukan dan dukungannya selama pembuatan tinjauan pustaka ini. Semoga tinjauan pustaka ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bioulac-Sage P, Balabaud C, Wanless I. Focal nodular hyperplasia and hepatocellular adenoma. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban R, Theise ND, editors. *Tumors of the digestive tract*. World Health Organization. 2nd ed. Lyon: IARC; 2010. p.198-204.
2. Vijay A, Elaffandi A, Khalaf H. Hepatocellular adenoma: An update. *World J Hepatol*. 2015;7:2603-9.
3. Goodman ZD, Terracciano LM, Wee A. Tumor and tumour-like lesions of the liver. In: Burt AD, Ferrel LD, Portmann BC, editors. *MacSween's pathology of the liver*. 6th ed. London: Churchill Livingstone; 2012. p.763-6.
4. Ferrel LD. Benign and malignant tumors of the liver. In: Odze RD, Glodblum JR, editors. *Surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract and pancreas*. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. p.1541-6.
5. Paradis V. Hepatocellular adenoma WHO classification and immunohistochemical workup. *Surg Pathol*. 2013;6:311-31.
6. Bioulac-sage P, Cubel G, Balabaud C. Pathological diagnosis of hepatocellular adenoma in clinical practice. *Diagn Histopathol*. 2011;17:521-9.
7. Bioulac-sage P, Reboouissou S, Thomas C, Blanc JF, Saric J, Sa Cunha A, et al. Hepatocellular adenoma subtype classification using molecular markers and immunohistochemistry. *Hepatol*. 2007; 46: 740-8.
8. Bioulac-Sage P, Blanc JF, Rebouissou S, Balabaud C, Rossi JZ. Genotype phenotype classification of hepatocellular adenoma. *World J Gastroenterol*. 2007;13:2649-54.
9. Fiel MI, Dhir S. Update on the new classification of hepatic adenomas : clinical, molecular, and pathologic characteristics. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138:1090-7.
10. Zviniene K. Differential diagnosis of hepatocellular carcinoma on computed tomography. In: Lau JWY. *Hepatocellular carcinoma clinical research*. Croatia: Intech; 2012. p.105-37.
11. Theise, ND. Liver and gallbladder. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editors. *Robbins and cotran pathologic basis of disease*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. p.821-80.
12. Nault JC, Rossi JZ. Molecular classification of hepatocellular adenomas. *Int J Hepatol*. 2012.1;1-7.
13. Lo RC, Ng IO. Hepatocellular tumors: Immunohistochemical analyses for classification and prognostication. *Chin J Cancer Res*. 2011;23:245-53
14. Bluteau O, Jeannot E, Bioulac-Sage P, Marques JM, Blanc JF, Bui H, et al. Bi-allelic inactivation of TCF1 in hepatic adenomas. *Nat Genet*. 2002;32:312-5.
15. Jeannot E, Mellottee L, Bioulac-Sage P, Balabaud C, Scoazec JY, Nhieu JTV, et al. Spectrum of HNF1A somatic mutations in hepatocellular adenoma differ from that in patients with MODY3 and suggests genotoxic damage. *Diabetes*. 2010; 59:1836-44.
16. Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Furuta H, Vaxilaire M, et al. Mutation in the hepatocyte nuclear factor-1 α gene in maturity onset diabetes of the young (MODY3). *Nature*. 1996;384:455-8.
17. Raft MB, Jorgensen EN, Vainer B. Gene mutations in hepatocellular adenoma. *Histopathol*. 2015; 66: 910-21.
18. Zucman-Rossi J, Jeannot E, Nhieu JT, Scoazec JY, Guettier C, Rebouissou S, et al. Genotype-phenotype correlation in hepatocellular adenoma: new classification and relationship with HCC. *Hepatol*. 2006; 43: 515-24.
19. Reboissou S, Imbeaud S, Balabaud C, Boulanger V, Bertrand-Michel J, Terce F, et al. HNF1A inactivation promotes lipogenesis in human hepatocellular adenoma independently of SREBP-1 and carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) activation. *J Biol Chem*. 2007;282:14437-46.
20. Palletier L, Reboissou S, Paris A, Rathahao-Paris E, Perdu E, Bioulac-Sage P, et al. Loss of hepatocyte nuclear factor 1 function in human hepatocellular adenomas leads to aberrant activation of signaling pathways involved in tumorigenesis. *Hepatol*. 2010; 51: 557-66.
21. Bioulac-Sage P, Laumonier H, Balabaud CP. Benign hepatocellular tumours. In: Saxena R, editor. *Practical Hepatic*

- Pathology: A diagnostic approach. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011.p473-88.
22. Bioulac-Sage P, Sempoux C, Balabaud C. Hepatocellular adenoma: classification, variants and clinical relevance. *Semin Diagn Pathol.* 2017;34:112-25.
 23. Nollet F, Berx G, Molemans F, Roy FV. Genomic organization of the human b-Catenin gene (CTNNB1). *Genomics.* 1996; 32: 413-24.
 24. Xing Y, Takemaru KI, Liu J, Berndt JD, Zheng JJ, Moon RT, et al. Crystal structure of a full-length b-catenin. *Structure.* 2008;16:478-87.
 25. Stamos JL, Weis WI. The b-catenin destruction complex. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5:1-16.
 26. Chen YW, Jeng YM, Yeh SH, Chen PJ. p53 gene and Wnt signaling in benign neoplasms: b-catenin mutations in hepatic adenoma but not in focal nodular hyperplasia. *Hepatology.* 2002;36:927-35.
 27. Velazquez I, Alter BP. Androgens and liver tumors: Fanconi's anemia and non-fanconi's conditions. *Am J Hematol.* 2004;77:257-67.
 28. Xu Y, Kershaw NJ, Luo CS, Soo P, Pocock MJ, Czabotar PE, et al. Crystal structure of the entire ectodomain of gp130 : insight into the molecular assembly of the tall cytokine receptor complexes. *J Biol Chem.* 2010; 285: 21214-8.
 29. Heinrich PC, Behrmann I, Muller-Newen G, Schaper F, Graeve L. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. *Biochem J.* 1998; 334: 297-314.
 30. Becker S, Groner B, Muller CW. Three-dimensional structure of the Stat3b homodimer bound to DNA. *Nature.* 1998; 394: 145-51.
 31. Hu T, Yeh JE, Pinello L, Jacob J, Chakravarthy S, Yuan GC, et al. Impact of the N-terminal domain of STAT3 in STAT3 dependent transcriptional activity. *Mol Cell Biol.* 2015;35: 3284-300.
 32. Weinstein LS, Sakamoto A, Xie T, Chen M. Minireview : GNAS :normal and abnormal function. *Endocrinology.* 2004;145:5459-69.
 33. Nault JC, Bioulac-Sage P, Zucman-Rossi J. Hepatocellular benign tumors-from molecular classification to personalized clinical care. *Gastroenterology.* 2013;144:888-902.
 34. Poussin K, Pilati C, Couchy G, Calderaro J, Bioulac-Sage P, Bacq Y, et al. Biochemical and functional analyses of gp130 mutants unveil JAK1 as a novel therapeutic target in human inflammatory hepatocellular adenoma. *Oncol Immunol.* 2013; 2: 1-13.
 35. Nault JC, Fabre M, Couchy G, Pilati C, Jeannot E, Tran Van Nhieu J, et al. GNAS-activating mutations define a rare subgroup of inflammatory liver tumors characterized by STAT3 activation. *J Hepatol.* 2012; 56: 184-91.
 36. Bioulac-Sage P, Sempoux C, Possenti L, Frulio N, Laumonier H, Laurent C, et al. Pathological diagnosis of hepatocellular adenoma according to the clinical context. *Int J Hepatol.* 2013; 2013:1-13.
 37. Bioulac-sage P, Balabaud C, Rossi JZ. Subtype classification of hepatocellular adenoma. *Dig Surg.* 2010;27:39-45.
 38. Dokmak S, Paradis V, Vilgrain V, Sauvanet A, Farges O, Valla D, Bedossa P, Belghiti J. A single-center surgical experience of 122 patients with single and multiple hepatocellular adenomas. *Gastroenterol.* 2009; 137: 1698-705.
 39. Bioulac-sage P, Cubel G, Taouji Sm, Scoazec JY, Letteurtre E, Paradis V, et al. Immunohistochemical markers on needle biopsies are helpful for the diagnosis of focal nodular hyperplasia and hepatocellular adenoma subtypes. *Am J Surg Pathol.* 2012; 36:1691-9.
 40. Bioulac-Sage P, Cubel G, Balabaud C, Zucman-Rossi J. Revisiting the pathology of resected benign hepatocellular nodules using new immunohistochemical markers. *Semin Liver.* 2011;31:91-103.
 41. Torbeson MS. Benign and malignant hepatocellular tumours. In : Epstein JI, editors. *Biopsy interpretation of the liver.* 3rd ed. Philadelphia: Wolter's Kluwer Health. 2015. p.410-54.
 42. Theise ND, Curado MP, Franceschi S, Hytiroglou P, Kudo M, Park Y.N, et al. Hepatocellular carcinoma. In: Bosman F, Carneiro F, Hruban R, Theise ND, editors. *Tumors of the digestive tract.* World Health Organization. 2nd ed. Lyon: IARC; 2010. p.198-204.
 43. Omata M, Lesmana LA, Tateishi R, Chen PJ, Lin SH, Yoshida H, et al. Asian pacific association for the study of the liver consensus recommendations on hepatocellular carcinoma. *Hepatology Int.* 2010;4:439-74.

44. Tommaso LD, Franchi G, Park YN, Fiamengo B, Destro A, Morengi E, et al. Diagnostic value of HSP70, glypican 3, and

glutamine synthetase in hepatocellular nodules in cirrhosis. *Hepatol.* 2007;45:725-34.