

BİR KOYUNDA HEPATOSELLÜLER KARSİNOM

Zabid Yener¹@

Hüdaverdi Erer²

Hepatocellular Carcinoma in a Sheep

Summary: Hepatocellular carcinoma, detected in a 4-years-old sheep, was described in the present study. Grossly, grayish-white coloured, 1.7x1.5x1cm in dimensions and well circumscribed, a solitary tumor mass were seen in the diaphragmatic aspect of the right lobe of liver. Microscopically, the neoplastic cells were arranged in solid pattern. Tumor was diagnosed as solid, poorly differentiated hepatocellular carcinoma. Immunohistochemically, some tumour markers, such as carcinoembryonic antigen (CEA), alpha-fetoprotein (AFP), of the intermediate filament proteins, cytokeratin, and superficial antigens of hepatitis B virus was investigated, and alpha-fetoprotein (AFP) was founded to be positive.

Key words: Carcinoma, hepatocellular carcinoma, immunohistochemistry, liver, sheep.

Özet: Bu raporda, 4 yaşındaki bir koyunda belirlenen HSK' olgusu tanımlandı. Makroskopik olarak, karaciğerin sağ lobunda grimsi beyaz renkte, 1,7x1,5x1cm boyutlarında ve sınırlı soliter tümoral bir kitle görüldü. Mikroskopik olarak, tümör hücreleri genellikle solid yapılar, kimi bölgelerde de hepatik kordonlar oluşturmuştu. Tümör, az diferensiyeli solid HSK' olarak teşhis edildi. İmmunohistokimyasal olarak, tümör markerlerinden alpha-fetoprotein (AFP), karsinoembriyonik antijen (CEA), sitokeratin ve hepatit B virusu yüzey antijeni (HbsAg) araştırıldı. Bunlardan AFP tümör hücrelerinde, CEA ve sitokeratin ise sadece safra kapıllarında pozitif bulundu.

Anahtar kelimeler: Hepatosellüler karsinom, immunohistokimya, karaciğer, koyun.

Giriş

Hepatosellüler karsinom (HSK), pek çok hayvan türünde ve insanlarda görülen, hepatositlerden köken alan malign bir tümördür (Popp, 1990).

Mezbahada kesilen koyunlarda HSK'un insidensini Anderson ve Sandison (1969) milyonda 5.1, Monlux ve ark. (1956) milyonda 7.2; sığırlarda ise Wettimuny (1969) %0.9 olarak saptamışlardır. Ayrıca koyunlarda HSK'un kolangiosellüler karsinomdan daha sık görüldüğü kaydedilmiştir (Anderson ve Sandison, 1968). Hamir (1985) yaptığı mezbaha çalışmasında koyunlarda intestinal adenokarsinom ve lenfosarkomdan sonra en yaygın görülen tümörün HSK olduğunu bildirmiştir. Köpeklerde tümörün 4 ve daha ileri yaşlarda görülebildiği (Patnaik ve ark., 1980), fakat koyunlarda 1 yaşından küçüklerde de saptandığı rapor edilmiştir (Monlux ve ark., 1956; Anderson ve Sandison, 1969). Ayrıca evcil hayvanlarda bu tümör için ırk predispozisyonunun bulunmadığı bildirilmiştir (Popp, 1990).

Tümörün birkaç cm çapında yuvarlak-oval ve soliter kitleler veya daha büyük çapta diffuz ya da

multinodüler şekilde geliştiği (Monlux ve ark., 1956; Patnaik ve ark., 1980), insanlarda multinodüler tipin sirozlu karaciğerlerde görüldüğü bildirilmiştir (Donald ve ark., 1994). HSK'un neoplastik hücre kümeleriyle bitişik karaciğer dokusuna sürekli olarak invazyon yaptığı, bu invazyonun tümörün periferinde uniform olarak değil yer yer birkaç bölgeden meydana geldiği kaydedilmiştir (Popp, 1990).

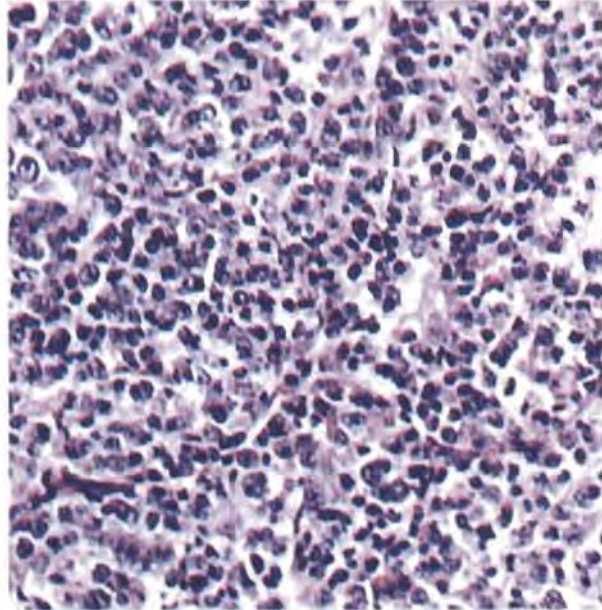
Tümörün metastaz oranının köpeklerde yüksek (Patnaik ve ark., 1980), sığırlarda düşük olduğu (Bettini ve Marcato, 1992) kaydedilmiştir. Yapılan bir çalışmada (Bettini ve Marcato, 1992) HSK saptanan 40 sığırdan sadece 4'ünde metastazlar belirlenmiştir. Tümörün hematojen yolla en sık olarak akciğer ve karaciğer lenf düğümlerine, seyrek olarak da kalp, dalak, böbrek, bağırsak, beyin ve ovariuma metastaz yaptığı (Ponomarkov ve Mackey, 1976; Patnaik ve ark., 1981), ayrıca direkt invazyon ile de omentum ve peritona yayıldığı (Trigo ve ark., 1982) belirtilmiştir. İnsanlarda ilerlemiş olgularda sıklıkla portal ven trombozunun bulunduğu bildirilmiştir (Donald ve ark., 1994).

Evcil hayvanlarda spontan olarak oluşan hepatosellüler tümörlerin etiyolojisinin genellikle bilinmediği (Popp, 1990), ancak yapılan çalışmalarda viral hepatitislerin (Roth ve ark., 1985; Cullen ve ark., 1989; Une ve ark., 1996), aflatoksin (Shalkop ve Armbricht, 1974; Chauhan ve ark., 1984), aflatoksin-hepatitis B virus etkileşimi (Rajagopalan ve ark., 1986) ve nitrozamin (Popp, 1990) gibi bazı kimyasal maddelerin HSK'a neden olabildiği kaydedilmiştir. Yang ve ark. (1992) primer karaciğer tümörü bulunan 34 ördeğin 27'sinde DNA hibridizasyon yöntemiyle hepatit B virusu saptadıklarını kaydetmişlerdir. Ayrıca Miyasato (1984) yaptığı deneysel çalışmada, farelerde *Schistosoma japonicum* enfestasyonu ile HSK oluşturmuştur. Vitovec (1974) sığırlarda fasciolosis sonucu oluşan bilier sirozun HSK ile sonuçlandığını ileri sürmüştür. Bu araştırmacı sığırlarda fasciolosis'in daha çok sol lobda lezyon oluşturduğu ve bu lobda aynı zamanda HSK'un da sık olarak saptandığını kaydetmiştir.

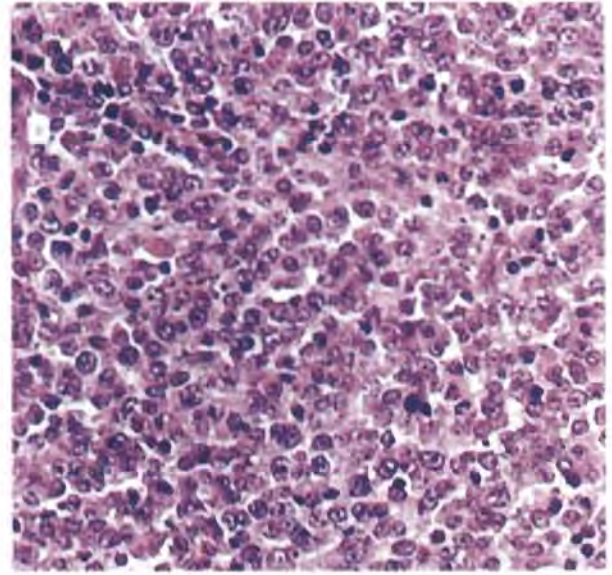
Evcil hayvanlarda primer karaciğer tümörlerinin seyrek olması ve incelenen literatürlerde ülkemiz koyunlarında HSK ile ilgili rapor bulunmaması nedeniyle olgunun tanımlanması amaçlanmıştır.

Olgunun Tanımı

Olgunun materyali, Y. Y. Ü. Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na ölü olarak getirilen 4 yaşındaki bir koyundan alındı. Yapılan sistemik nekropside, karaciğerde sağ lobun diyaframatik yü-



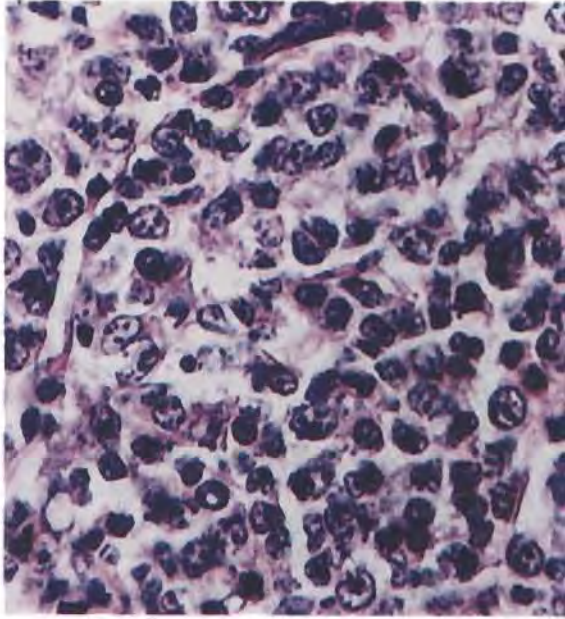
Şekil 1. Hepatosellüler karsinom. Sinüzoidal vasküler bir stroma ile çevrili solid yapıda neoplastik hücreler. H.Ex200.



Şekil 2. Tümör hücrelerinin yer yer oluşturduğu hepatik kordonlar H.Ex200.

zünde, kapsülada belirgin kabarıklık oluşturan 1,7x1,5x1cm boyutlarında, grimsi beyaz renkte tümör bir kitle saptandı. Kesit yüzünde tümörün homojen ve sınırlı olduğu, periferinde ise kapsül bulunmadığı gözlemlendi. Portal lenf düğümlerinde ve diğer organlarda metastaz saptanamadı. Karaciğer hafif şişkin ve gevrek kıvamdaydı. Ayrıca akciğerin apikal ve kardiyak lobları ile diyaframatik loblardan kranial kısımlarında şiddetli pnömoni belirlendi.

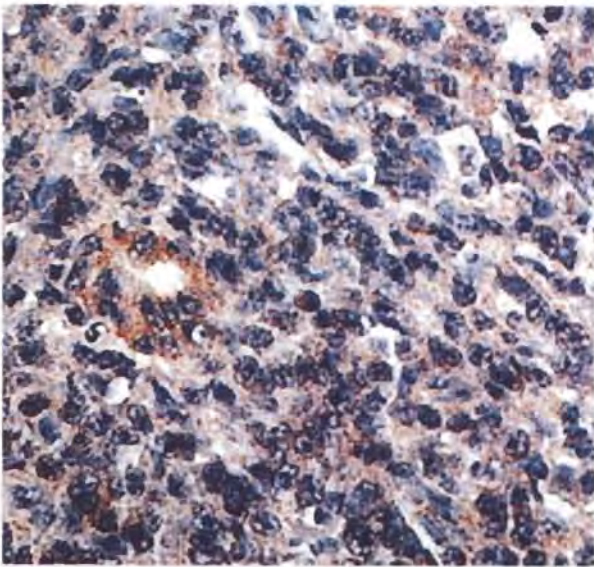
Mikroskopik incelemede, belirgin bir fibröz stroma gözlenemedi. Çoğu bölgelerde geniş tümör hücre alanları, yer yer ince sinüzoidal-vasküler bir damar ağı ile ayrılmıştı (Şekil 1). Kimi sahalarda ise tümör hücreleri sinüzoidler çevresinde, genellikle tek sıralı, hepatik kordonları anımsatan bir yapı oluşturmuştu (Şekil 2). Seyrek olarak da asiner oluşumlar gözlemlendi. Neoplastik hücreler kübik veya poligon, sitoplazmaları az ve ince granüllü, çekirdekleri oval, yuvarlak, hiperkromatik veya vezikülerdi. Çekirdekçikleri ise genellikle belirgin olup, sayıları 1-4 arasında değişmekteydi (Şekil 3). Tümör hücrelerinde anizositosis ve anizonekleozis ile birlikte, çok sayıda mitotik figürlere de rastlandı. 10x büyütmede 15'in üzerinde mitotik figür belirlendi. Kimi hücrelerde intranükleer eozinofilik küçük psödoinklüzyonlar, bazı hücrelerde de intrasitoplazmik safra pigmenti belirlendi. Ayrıca bazı bölgelerde tümör hücreleri arasında safra kapilları dikkati çekti. Tümör kitlesinin periferinde neoplastik hücreler yer yer bitişik karaciğer parankimine infiltrat olmuş ve bazı bölgelerde de kompresyone hepatositler tarafından çevrilmişti. Karaciğer parankiminin kimi böl-



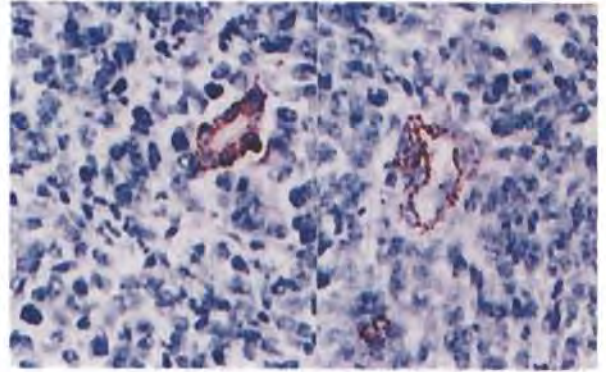
Şekil 3. Tümör hücrelerinin daha büyük büyütmede görünümü. H.EX400.

gelerinde hepatositlerde bulanık şişkinlik ve fokal dissemine koagülasyon nekrozu dikkati çekti. Ayrıca özellikle portal bölgelerde belirgin olan, yer yer de parankime doğru yayılan lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu ve bağ doku artışı gözlemlendi. Bazı safra kanallarında da parazitler (*Dicrocoelium ssp*), perikolangitis ve epitelyal hiperplazi saptandı.

Immunohistokimyasal olarak tümör markerlerinden alpha-fetoprotein (AFP), kar-



Şekil 4. Tümör hücrelerinin stoplazmasında AFP. Immunoperoksidaz-HematoksilenX320.



Şekil 5. Tümör hücreleri arasında sitokeratin pozitif reaksiyon gösteren safra kapilları Immunoperoksidaz-HematoksilenX200.

sinoembriyonik antijen (CEA), sitokeratin ve hepatit B virüs yüzey antijeni (HbsAg) araştırıldı. AFP tümör hücrelerinin sitoplazmasında granüller şeklinde lokalize olmuştu (Şekil 4). CEA ve sitokeratin tümör hücreleri için negatif, ancak tümör hücreleri arasında seyrek olarak bulunan safra kapilları için pozitif olarak saptandı (Şekil 5).

Tartışma ve Sonuç

Primer karaciğer tümörlerinin evcil hayvanlarda seyrek görüldüğü kaydedilmiştir (Ponomarkov ve Mackey, 1976; Patnaik ve ark., 1981; Trigo ve ark., 1982). Bu tümörler histolojik olarak; hepatosellüler (liver cell), kolangiosellüler (bile duct) ve hepatokolangiosellüler (mixed) şeklinde sınıflandırılarak incelenmiştir (Ponomarkov ve Mackey, 1976; Patnaik ve ark., 1981; Trigo ve ark., 1982; Izquierdo ve Bosch, 1987). Ülkemizde primer karaciğer tümörü olarak, Çiftçi ve ark. (1998) kedide, Sönmez ve Özbilgin (1997) köpekte kolangiosellüler karsinom, Gürel ve ark. (1994) ise bir köpekte HSK bildirmişlerdir. Ayrıca Aydın ve ark. (1991) da 36 kanatlı hayvanda HSK'a rastladıklarını belirtmişlerdir. Ancak koyunlarda HSK ile ilgili bir rapora rastlanamamıştır.

Koyunlarda HSK genellikle mezbahada kesilen hayvanlarda tümörlerle ilgili insidens çalışmalarında bildirilmiş (Anderson ve Sandison, 1969; Monlux ve ark., 1956; Bastianello, 1982; Hamir, 1985), ancak tümörün ayrıntılı patolojik-anatomik özelliklerini inceleyen çalışmaların oldukça az sayıda (Krishna ve ark., 1973; Bundza ve ark., 1984) olduğu dikkati çekmiştir.

Mezbahada kesilen koyunlarda HSK'un insidensi farklı oranlarda kaydedilmiştir (Monlux ve ark., 1956; Anderson ve Sandison, 1969; Bas-

tianello, 1982). Bu karsinomun sığırlarda koyunlardan daha fazla oranda saptandığı (Anderson ve Sandison, 1969) ve ırk predispozisyonunun da bulunmadığı belirtilmiştir (Popp, 1990). Bu farklılığın, kesime gönderilen hayvanların yaşı ve ekonomik değeri nedeni ile kesim için hastalıklı sığırların daha çok mezbahaya gönderilmesiyle ilgili olabileceği ileri sürülmüştür (Anderson ve Sandison, 1968).

Sığırlarda primer karaciğer tümörlerinin soliter veya multinodüler olduğu ve çoğunlukla da karaciğerin sağ lobunda yerleştiği (Wettimuny, 1969; Bettini ve Marcato, 1992), benzer bir lokalizasyonun insanlarda da bulunduğu kaydedilmiştir (Ashley, 1990, Donald ve ark., 1994). İncelenen kayıtlarda bu tümörün koyunlardaki lokalizasyonu hakkında fazla bilgi bulunmadığı, ancak Krishna ve ark. (1973) inceledikleri bir olguda, tümöre sağ lobda rastladıklarını belirtmişlerdir. Sunulan olgumuzda da tümörün soliter ve karaciğerin sağ lobunun diyaframatik yüzünde lokalize olduğu dikkati çekmiştir. Wettimuny (1969) tümörün bu yerleşiminde; sağ lobun nispeten daha büyük hacimde olmasının ve ince barsak kanını sağ loba taşıyan portal vendeki kan akışının muhtemel bir etkisinin olabileceğini ileri sürmüştür.

Hepatosellüler karsinom, neoplastik hücrelerin belirgin histolojik düzeni ve morfolojisine göre; kordon, trabekül ve asiner (Wettimuny, 1969) veya trabekül, solid, psödoglandüler, pleomorfik, fibrolamellar ve skiröz (Bettini ve Marcato, 1992) şeklinde sınıflandırılarak incelenmiştir. Bu araştırmacılar aynı zamanda, bu morfolojik tiplerin aynı tümörde miiks olarak da bulunabileceğini kaydetmişlerdir. İnsanlarda da benzer morfolojik yapıların bulunduğu belirtilmiştir (Ashley, 1990; Donald, 1994). Ayrıca evcil hayvanlarda en sık saptanan gelişme şeklinin trabeküler olduğu kaydedilmiştir (Popp, 1990). Sunulan olguda neoplastik hücreler kimi bölgelerde yer yer kordon ve asiner yapılar oluşturmakla birlikte, genelde solid yapıda olduğu saptanmıştır.

Tümör hücrelerinde; sitoplazmik invaginasyonla oluşturduğu düşünülen intranükleer psödoinklüzyonların ve safra pigmentinin saptanması, sinüzoidal bir damar ağının tümör hücrelerini sarması, tümör hücreleri arasında safra kapıllarının belirlenmesi ve immunohistokimyasal olarak da AFP'nin tespit edilmesinin HSK'un tanısında önemli diagnostik kriterler olduğu rapor edilmiştir (Donald, 1990). Ayrıca HSK'da stromanın çok az olmasının HSK'un kolangiosellüler karsinomdan diferensiyel diaagnozunda en önemli kriter olduğu

bildirilmiştir (Ashley, 1990; Donald, 1994). Sunulan olguda stromanın oldukça az olduğu dikkati çekmiş, diğer diagnostik kriterlerin de tümü belirlenmiştir. Ancak bazı araştırmacılar (Wettimuny, 1969; Roth ve ark., 1985; Ashley, 1990) tarafından HSK'da bildirilen çok çekirdekli dev hücreleri, ekstramedullar hemotopoiezis odakları ve nekroz bu olguda saptanmamıştır.

İnsanlarda hepatosellüler tümörlerin tanısında yaygın olarak kullanılan bazı tümör markerleri hayvanlarda da araştırılmıştır (Martin ve ark., 1995, Shiga ve ark., 1996). Shiga ve ark. (1996) köpeklerin HSK'unda sinüzoidal endotel hücrelerinde faktör VIII, desmin ve actin antijenlerini, Martin ve ark. (1995) da köpeklerin primer karaciğer tümörlerinde AFP, CEA, vimentin ve sitokeratin markerlerini araştırmıştır. Martin ve ark. (1995) HSK dışındaki diğer primer karaciğer tümörlerinin AFP negatif, CEA için sadece kolangiosellüler karsinom ve hepatokolangiosellüler karsinomun pozitif, sitokeratinin ise iyi ve orta derece diferensiyel HSK'larda pozitif, az diferensiyel HSK'larda negatif olduğunu kaydetmişlerdir. Brumm ve ark. (1989) bu markerlerin primer karaciğer tümörlerinin diferensiyel tanısında kullanılabileceğini belirtmişlerdir. İncelenen literatürlerde koyun HSK'unda immunohistokimyasal çalışma saptanamamıştır. Sunulan olguda tümör markerlerinden AFP, CEA ve sitokeratin immunohistokimyasal olarak araştırılmış, AFP pozitif, CEA ve sitokeratin ise sadece safra kapılları için pozitif, tümör hücrelerinde negatif bulunmuştur. Bu sonuçların, Martin ve ark. (1995)'nin az diferensiyel HSK'larda saptadıkları sonuçlar ile benzer olduğu dikkati çekmiştir.

Hepatosellüler tümörlerde invazyon ve metastaz bulunmadığında ve iyi diferensiyel olduklarında hepatosellüler adenom ile HSK'un diferensiyel tanısının zor olacağı belirtilmiştir (Anderson ve Sandison, 1968; Ponomarkov ve Mackey, 1976; Popp, 1990; Kelly, 1985). Ayrıca metastazların da sık görülmediği, 79 hepatosellüler tümörden sadece 13'ünde (karaciğer lenf düğümleri, akciğer ve bronkmediastinal lenf düğümlerinde) metastazın saptanabildiği bildirilmiştir (Anderson ve Sandison, 1969; Monlux ve ark., 1956; Wettimuny, 1969; Gupta, 1982; Vitovec, 1983; Bundza ve ark., 1984). Sunulan olguda, tümörün bazı bölgelerinde neoplastik hücre kümelerinin bitişik karaciğer dokusuna invazyon yapması, özellikle az diferensiyel HSK'lar da pozitif olduğu bildirilen AFP'nin tespit edilmesi, ayrıca iyi diferensiyel HSK'larda nadir görüldüğü kaydedilen (Popp, 1990) mitotik figürlerin de oldukça fazla sa-

yıda saptanması, tümörün az diferensiyeli HSK olduğunu düşündürmüştür.

Metastazın genellikle geç olduğu, primer tümör büyük bir kitle olduğunda ancak küçük metastazların görülebildiği ve hayvanın genel durumunun bozulmasında metastazların değil, primer tümörün etkili olduğu kaydedilmiştir (Popp, 1990). Sunulan olguda primer tümör kitlesinin 1,7x1,5x1cm boyutlarında olması ve metastazların da görülmemesi bu kanıyı desteklemektedir. Ayrıca bu olgudaki hayvanın ölüm sebebinin pnömoni olabileceği, saptanan tümörün rastlantısal olduğu kanısındayız.

Hepatosellüler karsinom ile hepatit arasında daima bir ilişkinin bulunduğu (Popp, 1990), özellikle insanlarda (Izquierdo ve Bosch, 1987) ve ördeklerde (Roth ve ark., 1985, Cullen ve ark., 1989, Yang ve ark., 1992) bu karsinomda hepatit B virüsü enfeksiyonunun önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca Vitovec (1974) fascioliasis, Miyasato (1984) schistosomiasis, Ward ve ark. (1994) ise *Helicobacter ssp* ile bu tümör arasında patojenik bir ilişki bulunduğunu ileri sürmüşlerdir. İnsanlarda virüs, bakteri ve bazı parazitlerin oluşturduğu kronik enfeksiyonların HSK için risk faktörü olduğu, bu kronik enfeksiyon bölgelerindeki yangı hücrelerinin ortaya çıkardığı kimyasal olarak reaktif, potansiyel olarak genotoksik olabilen düşük molekül ağırlıklı maddelerin (nitrik oksit ve aktif oksijen gibi) karsinogenezisi başlatılabileceği rapor edilmiştir (Ohshima ve Bartsch, 1994). Sunulan olguda multifokal hepatosellüler nekroz ile karakterize akut hepatit, portal bölgelerde lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu ve bağdoku artışı ile karakterize kronik hepatit ve paraziter perikolangitis tablosu dikkati çekmiş, yapılan immunohistokimyasal boyamada da HbsAg negatif olarak saptanmıştır. Ancak, Wogan (1989)'nın da belirttiği gibi HSK'un etiyolojisinin multifaktöryel olduğu; virüs, bakteri, parazit ve kimyasal maddelerin tek veya kombine etkileşiminin söz konusu olabileceği, fakat bu konuda daha kapsamlı çalışmaların gerektiği kanısındayız.

Sonuç olarak, makroskobik, mikroskobik ve immunohistokimyasal özellikleri ile az diferensiyeli solid HSK tanısı konulan bu olgu, ülkemizdeki koyunlarda primer hepatosellüler tümörlerin ilki olması bakımından önemli bulunmuştur.

Kaynaklar

Anderson, L. J., Sandison, A. T., Jarrett, W. F. H. (1969). A British abattoir survey of tumours in cattle, sheep and pigs. *Vet. Rec.*, 84, 547-551.

Ashley, J. B. (1990). *Evan's histological appearances of tumours*. Fourth. Ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, London.

Aydin, Y., Atasever, A., Köküslü, C. (1991). 1974-1991 yıllarında incelenen kanatlı hayvan hastalıkları ve tümörleri. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 38, 3, 352-358.

Bastianello, S. S. (1982). A survey on neoplasia in domestic species over a 40-year period from 1935 to 1974 in the republic of South Africa. II. Tumours occurring in sheep. *Onderstepoort. J. Vet. Res.*, 49, 205-209.

Bettini, G., Marcato, P. S. (1992). Primary hepatic tumours in cattle. A classification of 66 cases. *J. Comp. Path.*, 107, 19-34.

Brumm, C., Schulze, C., Charels, K., Morohoshi, T., Klöppel, G. (1989). The significance of alpha-fetoprotein and other tumour markers in differential immunocytochemistry of primary liver tumours. *Histopath.*, 14, 503-513.

Bundza, A., Greig, A. S., Dukes, T. W. (1984). Primary hepatocellular carcinoma tumors in animals killed at meat packing plants: Report of 11 cases. *Can. Vet. J.*, 25, 82-85.

Chauhan, H. V. S., Jha, G. J., Singh, P. N., Singh, K. K. (1984). Hepatocellular carcinoma associated with aflatoxicosis in pigs. *Ind. Vet. J.*, 61, 1009-1014.

Cullen, J. M., Marion, P. L., Newbold, J. E. (1989). A sequential histologic and immunohistochemical study of duck hepatitis B virus infection in pekin ducks. *Vet. Path.*, 26, 164-172.

Çiftçi, M. K., Ortatlı, M., Avkı, S. (1998). Bir kedide kolangiosellüler karsinom olgusu. *Vet. Bil. Derg.*, 14, 1, 91-96.

Donald, A., Stacey, B., Milk, D. C. And Harold, A. O. (1994). 'Diagnostic Surgical Pathology' Ed, Stephen S. Sternberg. Vol. 2, Second Ed., 899-911.

Gupta, P. P. (1982). Liver cell carcinoma in abullock. *Ind. Vet. J.*, 59, 570-571.

Gürel, A., Yeşildere, T., Fırat, İ. (1994). Bir köpekte hepatocellüler carcinoma olgusu. *İ. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 20, 1, 142-150.

Hamir, A. N. (1985). An abattoir survey of neoplasm's. *Aust. Vet. J.*, 62, 12, 423.

Izquierdo, A. F., Bosch, A. L. (1987). Immunohistochemical characterization of 130 cases of primary hepatic carcinomas. *Path. Res. Pract.*, 182, 783-791.

Kelly, W.R. (1985). The liver and Biliary System. In: "Pathology of Domestic Animals", Eds. K.V.F. Jubb, P. C. Kennedy and N. Palmers. Vol. 2, 4. rd Ed., pp. 239-340, Academic press, London.

Krishna, L; Chattopadhyay, S. K; Iyer, P. K. R., Sharma, R. M. (1973). A pathological study on hepatocellular carcinoma in sheep. *Ind. J. Anim. Sci.*, 1973, 43, 1, 34-37.

- Martin, M. J., Gomez, J. C., Perez, J., Mozos, E. (1995). Immunohistochemical evaluation of canine primary liver carcinoma: distribution of alpha-fetoprotein, carcinoembryonic antigen, cytokeratins and vimentin. *Res. Vet. Sci.*, 59, 124-127.
- Miyasato, M. (1984). Experimental study of the influence of *Schistosoma japonicum* infection on carcinogenesis of mice liver treated with N-2-fluorenylacetylamide (2-FAA). *Japan. J. Parasitol.*, 33, 1, 41-48.
- Monlux, A. W., Anderson, W. A., Davis, C. L. (1956). A survey of tumours occurring in cattle, sheep, and swine. *Am. J. Vet. Res.*, 17, 646-677.
- Ohshima, H., Bartsch, H. (1994). Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat Res.*, 305, 253-64.
- Patnaik, A. K., Hurvitz, A. I., Lieberman, P. H. (1980). Canine hepatic neoplasms: a clinicopathologic study. *Vet. Path.*, 17, 5, 553-564.
- Patnaik, A. K., Hurvitz, A. I., Lieberman, P. H., Johnson, G. F. (1981). Canine hepatocellular carcinoma. *Vet. Path.*, 18, 4, 427-438.
- Ponomarev, V., Mackey, L. J. (1976). XIII. Tumours of the liver and biliary system. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 53, 187-194.
- Popp, J. A. (1990). Tumours of the liver, gall bladder, and pancreas. In: "Tumours in Domestic Animals", ed. Moulton, J. E, pp. 436-446. University of California Press, Berkeley, CA.
- Rajagopalan, M. S., Michael, P., Hubert, E., Girish, N. (1986). Interaction of aflatoxin and hepatitis B virus in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Life Sci.*, 39, 1287-1290.
- Roth, L., King, J. M., Hornbuckle, W. E. Harvey, H. J., Tennant, B. C. (1985). Chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma associated with persistent woodchuck hepatitis virus infection. *Vet. Path.*, 22, 338-343.
- Shalkop, W. T., Ambrecht, B. H. (1974). Carcinogenic response of brood sows fed aflatoxin for 28 to 30 months. *Amer. J. Vet. Res.*, 35, 623-627.
- Shiga, A., Shirota, K., Nomura, Y. (1996). Immunohistochemical and ultrastructural studies on the sinusoidal lining cells of canine hepatocellular carcinoma. *J. Vet. Med. Sci.*, 58, 509-914.
- Sönmez, G., Özbilgin, S. (1997). Bir köpekte kolangiosellüler karsinom. *Vet. Bil. Derg.*, 13, 1, 139-145.
- Trigo, F. J., Thompson, H., Breeze, R. G., Nash, A. S. (1982). The pathology liver tumours in the dog. *J. Comp. Path.*, 92, 21-39.
- Une, Y., Tataru, S., Nomura, Y., Takahashi, R., Saito, Y. (1996). Hepatitis and hepatocellular carcinoma in two prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*) *J. Vet. med. Sci.*, 58, 933-935.
- Vitovec, J. (1974). Hepatocellular carcinomas in cattle and their relation to biliary cirrhosis associated with fascioliasis. *Vet. Path.*, 11, 6, 548-557.
- Ward, J. M., Fox, J. G., Anver, M. R., Haines, D. C., George, C. V., Collins, M. J. (1994). Chronic active hepatitis and associated liver tumors in mice caused by a persistent bacterial infection with a novel *Helicobacter* species. *J. Natl. Cancer Inst.*, 86, 1222-7.
- Wettimuny, S. (1969). Primary liver tumours of cattle in ceylon. *J. Comp. Path.*, 79, 355-365.
- Wogan, G. N. (1989). Dietary risk factors for primary hepatocellular carcinoma. *Detection-and-Prevention*, 14, 2, 209-213.
- Yang, G. X., Wang, Q. Y., Jin, Y. N., Chi, B. R., Li, J. M., Ye, W. F. (1992). Duck hepatitis B virus infection and duck hepatocellular carcinoma. *Chin. Med. J.*, 105, 3, 217-226.