

# Malignidad primaria del hígado

Antonio Chgdid

El tumor maligno del hígado más común en los Estados Unidos y en gran parte del hemisferio occidental es de carácter metastásico. Los tumores malignos

---

Dr. Antonio Chgdid: Departamento de Patología, Chicago Medical School, North Chicago, IL, USA.

primarios del hígado pueden provenir de los hepatocitos (carcinoma hepatocelular), de las células epiteliales del ducto biliar (colangiocarcinoma) y de las células de Kupfer (hemangiosarcoma). Entre los tumores malignos más comunes se encuentra el carcinoma hepatocelular (CHC); es además el tumor más frecuente a nivel

mundial. Esto se debe a la muy alta incidencia de la hepatocarcinoma en muchas áreas del África y del Asia, aunque es relativamente raro en el hemisferio occidental. Sin embargo, en Estados Unidos el carcinoma hepatocelular no es muy escaso puesto que se ven anualmente casi 9000 nuevos casos: una incidencia similar a la de la enfermedad de Hodgkin. En la mayoría de los países del Tercer Mundo el carcinoma hepatocelular aparece en los hombres jóvenes (tercera o cuarta década de vida) y se disocia clásicamente de la cirrosis. Lo mismo sucede en África Oriental. No obstante en Zaire, cerca del 50% de los casos de CHC se asocian con la cirrosis. En los Estados Unidos, cuatro de cada cinco CHC se presentan en los hígados cirróticos. En el mundo entero, los factores etiológicos más comunes parecen ser la hepatitis B, la hepatitis C y la ingestión de aflatoxina B1. En estas áreas en donde la hepatitis tipo B es muy frecuente, los antígenos virales se expresan a la vez en los hepatocitos neoplásicos y no-neoplásicos. Se ha postulado que quizás exista una relación causal entre el CHC y las hepatitis virales tipo B y C. En África, China y Japón en donde hay una gran frecuencia de las hepatitis B y C, la incidencia del CHC es igualmente alta. En los Estados Unidos la hepatitis B no es muy frecuente, la incidencia del CHC es inferior pero puede ser que esta situación este cambiando. Un amplio estudio de los pacientes que fallecieron de CHC en el área de California entre 1918 y 1953 mostró sólo 75 casos mientras que entre 1954 y 1973 fueron 79 y entre 1964 y 1973 fueron 135. Parece de ese modo que la incidencia ha aumentado. En California fueron disponibles tejidos seriados en 168 casos para coloraciones del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). El 21% de estos hígados tenían un HBsAg teñible. Había un aumento importante en el número total de CHC y en los porcentajes que eran HBsAg positivos a principio de los años 70. También han aumentado los casos de CHC en hígados no-cirróticos. De 1969 a 1974 setenta y tres por ciento de los CHC en hígados cirróticos no-alcohólicos tenían un HBsAg positivo. Datos provenientes de California, España y Japón han mostrado la presencia de los marcadores para la hepatitis C en más del 50% de los casos de CHC. Por otra parte, además de los productos virales encontrados en el CHC a partir del trabajo inicial de Abelev sobre la alfa-fetoproteína (AFP), se han informado varios marcadores antigénicos oncofetales en estudios realizados en los Estados Unidos y China, en los cuales se han demostrado antígenos en los hígados de pacientes portadores de CHC y en líneas celulares derivadas de CHC.

### **CHC y los factores de riesgo**

Los factores de riesgo para el CHC incluyen el estado

portador de HBsAg, la evidencia de la infección por hepatitis C, la cirrosis, enfermedad hepática alcohólica, la exposición a la aflatoxina B1, traumatismo (dióxido de torio), los pesticidas, tratamientos largos con esteroides anabólicos y la hemocromatosis. De éstos, las infecciones virales (B y C) y la ingestión de aflatoxina B1, parecen ser los factores principales. El nódulo regenerativo puede considerarse como una lesión preneoplásica. El papel de la displasia celular del hígado como condición premaligna no se ha confirmado aún (7). Estudios realizados en pacientes ugandeses con hígados cirróticos y con CHC han mostrado una frecuencia creciente de la displasia celular hepática en cerca de 65% de los pacientes con cirrosis y CHC primario. La condición era más frecuente en los hombres y en la forma macronodular o de nodularidad mixta de cirrosis. Se ha concluido que existe una fuerte relación entre la displasia y la infección por hepatitis B.

Como se ha mencionado anteriormente, los estudios realizados en Zaire han mostrado que el CHC se presenta en el 50% de los hígados cirróticos, preferentemente, en el tipo macronodular (67%). El CHC era escaso en niños menores de 14 años, se presentó en el 79% de los pacientes entre 14 y 55 años y en el 19% de los mayores de 55 años. En los pacientes menores de 14 años, la mayoría de los CHC se presentaba sin cirrosis. Su número total es, sin embargo, bajo (8%). El número de CHC sin cirrosis aumentó hasta un 70% entre los 15 y 55 años y era del 12% en los mayores de 55. El CHC se encontraba en el 80% de los casos en hígados cirróticos en los hombres con una proporción de cuatro a uno. En los Estados Unidos la mayoría de estos carcinomas se presentan en la cirrosis macronodular, un número inferior en la micronodular y menos aún en los hígados normales.

### **CHC y los marcadores tumorales**

La naturaleza de los marcadores del CHC presentes en los hígados humanos fue objeto de investigación en poblaciones de varios países. Estudios realizados en Taiwan y Hong Kong mostraron el HBsAg en un gran número de pacientes. En la población china de Hong Kong, el HBsAg se encontró en el 58% de los hepatocitos no-neoplásicos en pacientes que estaban muriendo por CHC. El HBsAg se demostró en células tumorales sólo en un caso. Además se ha observado una disminución en la incidencia del antígeno demostrable en los hepatocitos con el incremento de la edad de los pacientes con CHC. Estos resultados contrastan de manera notable con un estudio extenso hecho en Taiwan en el cual el 12% de las células malignas en los casos de CHC presentaban el HBsAg en su citoplasma. Además, el HBsAg se había detectado en el parénquima de hígados no tumorales en el 86% de

las series completas, en 91% de los casos cirróticos y en el 84% de los casos no cirróticos. La diferencia entre éstos dos estriba que en el estudio de Hong Kong se había utilizado el colorante de Shikata mientras que en el estudio de Taiwan se había utilizado la inmunoperoxidasa. No se había investigado el HBcAg ni el antígeno Delta. Hace cerca de una década que Thung et al habían investigado en los Estados Unidos la distribución de varios marcadores de antígenos en sus casos de CHC. Encontraron una extraordinaria incidencia de antitripsina alfa 1 (73%), una incidencia menor de alfafetoproteína (35%) y en el 20% HBsAg. Nuestros estudios llevados a cabo más recientemente mostraron una positividad para el AAT en el 40% de los casos y para el AFP en 43%, para los cuerpos de Mallory en el 46% de los pacientes y para el HBsAg en el 18%. No se encontraron el HBcAg ni tampoco el antígeno Delta. Trece pacientes con CHC presentaron los tres antígenos de manera simultánea y en dos se demostró la presencia de cuatro marcadores. En un estudio realizado en el Japón se han encontrado el HBsAg y el HBcAg en hígados no tumorales y displásicos y en el CHC. La incidencia de los marcadores virales era del 50% en hígados no malignos y del 12% en células de CHC. La discrepancia entre los diferentes informes en cuanto a la manifestación de varios marcadores puede ser el resultado de factores geográficos o ambientales tales como la frecuencia de la infección por hepatitis B, la cantidad de alcohol ingerida y el tipo de dieta, v. g. el contenido en proteínas o grasas o aun contaminación de la comida por alfafetoproteína B1. Aunque los cuerpos de Mallory representan una alteración del citoesqueleto que se sabe ocurre en diferentes entidades, su presencia ha sido tradicionalmente considerada como característica del daño hepático por alcohol. De esta manera la alta incidencia de los cuerpos de Mallory en nuestras series en Estados Unidos puede explicarse por la naturaleza de la población de pacientes cuyo consumo de alcohol se presume es alto y su dieta es baja en proteínas.

### Comportamiento de los marcadores tumorales en el suero

El único "marcador tumoral" que ha sido aceptado de manera general por su carácter diagnóstico y verificador de la progresión de la enfermedad en el CHC es la alfafetoproteína (AFP). Esta es una gamaglobulina presente normalmente en el suero durante la vida intrauterina que desaparece cerca de un mes después del nacimiento. En el útero, la AFP parece tener un papel semejante al de la albúmina sérica en el adulto. A partir de su descubrimiento inicial por Abelev en el suero de ratón adulto con CHC inducido químicamente, se ha encontrado que la AFP aparece en el suero de

humanos bajo muchas circunstancias o en enfermedades extrahepáticas con notables variaciones geográficas, siendo más comúnmente frecuentes en el Sahara surafricano y en Indonesia, con un grado inferior de positividad en los países europeos y del hemisferio occidental. Por lo tanto, su uso como marcador del CHC no ha probado ser de importancia desde el punto de vista clínico. Sin embargo, se ha utilizado como verificador de la progresión de la enfermedad. Además la AFP se ha detectado en el suero de muchos pacientes que comúnmente presentan daño y regeneración de las células hepáticas, así como tumores de origen endodérmico, carcinomas embrionales de las gónadas en niños, en aflicciones fetales y anomalías congénitas del tubo neural. El comportamiento de los niveles séricos de la antitripsina alfa 1 (AAT) en pacientes con CHC fue investigado y se ha encontrado que es elevado hasta en el 70% en los CHC y en cerca del 25% en los casos de cirrosis. No se ha generalizado su uso como marcador tumoral. Ningún otro marcador inmunológico ha sido aceptado como instrumento para verificar el comportamiento biológico de malignidad de la célula hepática.

### Estructuras de expresión de los marcadores antigénicos

En términos generales, los marcadores genéticos se manifiestan morfológicamente bajo dos aspectos esenciales tanto en los hepatocitos malignos como benignos y tienen las siguientes características:

1. De tipo granulofibrilar ocupando la mayor parte del citoplasma de las células.
2. De tipo granular finamente difuso, que se encuentra más a menudo en los hepatocitos malignos. Estas características se aplican también a los cuerpos de Mallory (CM), AAT, AFT u HBsAg en el citoplasma de las células. El antígeno de la hepatitis D y el HBcAg se encuentran en los núcleos. El método de inmunoperoxidasa revela una expresión gruesa del antígeno granular en un hígado regenerado más frecuentemente que en células tumorales: esto es cierto para el AFP, AAT y HBsAg.

### Morfología del CHC

Este tumor es generalmente multicéntrico cuando se presenta en hígados cirróticos o unicéntrico cuando se presenta en hígados normales. Tiene una notoria tendencia a invadir el sistema venoso y en términos generales puede aparecer como: a) **nodular**: grandes nodulos múltiples, b) **masivo**: una masa única grande o c) **difuso**: compuesto de muchos pequeños tumores que no se pueden distinguir a primera vista de los nodulos cirróticos.

Desde el punto de vista histológico, el patrón de

crecimiento más común se señala como trabecular-pseudoglandular puesto que las células malignas, habitualmente muy bien diferenciadas, se disponen en cordones largos y cuando forman masas sólidas, muestran una tendencia hacia una necrosis central, apareciendo en cierto modo glandular. El citoplasma es granular y eosinofílico, con un núcleo grande, unos nucléolos prominentes y una membrana nuclear gruesa permiten reconocer fácilmente los tipos diferenciados.

En los tipos anaplásicos, el diagnóstico podría ser más difícil a causa de un alto grado de no diferenciación. Las células del hígado neoplásico pueden desempeñarse hasta cierto punto como hepatocitos normales. Se sabe que realizan la secreción biliar, y el almacenamiento de grasas no es infrecuente. También se ven comúnmente las inclusiones citoplasmáticas de hialina. En algunos casos se percata la presencia de la "hialina alcohólica". Se han descrito numerosos tipos histológicos que figuran en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Clasificación de la OMS del carcinoma hepatocelular.

- Trabecular
- Pseudoglandular
- Compacto
- Escirroso
- Plgomórfico
- Célula clara
- CJC con inclusiones intranucleares
- CJC con hialina de Mallory
- Colangiocarcinoma
- Mixto (coco binado)
- Hepatoblastoma
- Jg manguiosarcoma

Tabla 2. Clasificación del carcinoma hepatocelular (Peters, R.).

i. - Microtrabecular
ii. /"O acrotrabecular
iii. -Pseudoglandular
iv. - Adenoide
v. - Esclerosante
- Hepatocelular
- Colangiolar
vi. /"Fibrolamelar
vii. /"Pelioide
viii. - Célula gigante
ix. /"Célula clara
x. - Colangiocelular
xi. -Combinado

La mayoría de las formas de CHC histológicamente diferentes tienen un muy pobre pronóstico. Es preciso mencionar de manera especial dos formas de CHC que parecen tener mejores resultados: 1. El tipo de células nítidas del CHC parece tener mayor supervivencia según lo informado desde Taiwan. No parece ser lo mismo en los casos que se han presentado en el hemisferio occidental. 2) El carcinoma fibrolamelar es una forma de malignidad hepática que se presenta en adolescentes y en los jóvenes adultos con características clínico-patológicas distintivas: i) larga supervivencia, ii) alto índice de operabilidad, iii) hepatocitos poligonales amplios con citoplasma eosinofílico abundante frecuentemente con glóbulos de hialina intracitoplasmática o cuerpos pálidos, iv) fibrosis en forma de láminas alrededor de los hepatocitos neoplásicos.

### Biología del CHC

Esta neoplasia se conoce por su tendencia para secretar productos anormales, siendo la causa por lo tanto de numerosos síndromes paraneoplásicos, entre los cuales los más comunes son la hipoglicemia, la hipercalcemia, la eritrocitosis y el síndrome carcinoide.

### La infección por hepatitis B y el CHC

La mayoría de los carcinomas hepatocelulares en las regiones subdesarrolladas de alta frecuencia en el mundo, parece tener una etiología viral que está bien documentada en el caso de infección por hepatitis B • menos bien documentada en la infección por hepatitis C. En los Estados Unidos y en los países desarrollados del mundo occidental, esta situación es mucho menos frecuente. Parece como si existiera una relación entre la infección por el HBV y el CHC derivada de una evidencia epidemiológica así como de estudios virológicos. La aproximación más común para el estudio de esta relación consiste en investigar la estructura y función del HBV DNA integrados en los tumores hepáticos. Sin embargo, de los estudios de varios casos no se ha destacado ningún patrón común de integración y cada caso de CHC con HBV DNA parece ser diferente: la integración se presenta como un evento aleatorio que ocurre durante la réplica viral cuando el HBV DNA existe en una forma única filamentosa.

De manera más común se ha encontrado la integración sobre los cromosomas 15, 18 y 11, mientras que la traslocación del cromosoma 17 al 18 también se ha hallado asociada con la integración del HBV DNA. Además se descubrió que algunos oncogenes se transcriben activamente en el tejido del CHC, v. g. el c-myc, así como la proteína p21 del oncogene ras se ha detectado en las células del CHC, pero no en las circundantes del hígado no tumoral. Si bien se ha elucidado la estructura del virus de la hepatitis C, no se

dispone aún de ningún dato en cuanto a su mecanismo y rol en la inducción del CHC.

### La proteína p53 y el CHC

Se cree que la proteína p53 normal es un producto de un gen supresor del tumor que controla el ciclo de la célula en la fase S. Las mutaciones en la fosfoproteína p53 del núcleo han surgido recientemente como el cambio genético más común en el cáncer humano. Las mutaciones en la p53 se han encontrado en más de la mitad de los cánceres de mama, pulmones, colon y bazo. Estas mutaciones están agrupadas en cuatro regiones del cromosoma 17p altamente conservadas entre los vertebrados, con compromiso de los exones 5-10. Además, las mutaciones de la p53 para cada tipo de cáncer parecen agruparse en el mismo codón. Estudios realizados recientemente por dos grupos con pacientes de China y Suráfrica han encontrado que casi en cada paciente con un gen p53 mutante, la mutación ocurre en el codón 249 en la posición de la tercera barra. Las mutaciones en el p53 se han encontrado en más de 30 diferentes codones en muchas formas de cáncer humano, pero de los 21 hepatomas estudiados, el 50% mostraban sustituciones de bases en el codón 249 de G a C o a T. Estos cambios de base debido a las mutaciones del gen p53 en el CHC podrían relacionarse con una infección previamente adquirida o a exposición a ciertos carcinógenos, incluyendo la aflatoxina la cual podría ser en parte la responsable del cáncer hepático en China y Suráfrica. Las mutaciones en el p53 pueden ser marcadores para otros carcinógenos tales como el benzopireno, un carcinógeno que se encuentra en el humo del cigarrillo.

Sin embargo, un trabajo reciente sobre el CHC muestra por primera vez que una alta frecuencia mutacional de "hot-spot" o punto caliente efectivamente existe. Lo anterior implica que existe una ventaja selectiva para la mutación específica, lo que permite especular que el virus de la hepatitis B también implicado en el desarrollo del CHC podría interactuar a través de una proteína codificada viralmente con un p53 específicamente mutante, dando una ventaja creciente en el CHC. Esto permite especular que la existencia de un "hot-spot" mutacional de alta frecuencia puede ser una indicación de que ha habido una ganancia adicional en materia de función para las células tumorales.

### Colangiocarcinoma

Este tumor se deriva del epitelio del ducto biliar. Es esencialmente un adenocarcinoma con producción de bilis y mucina. Ocurren combinaciones de colangiocarcinoma y CHC. El dióxido de torio, sustancia radiactiva, presente en un medio de contraste (torotrasto), muy utilizado entre 1930 y los principios

de la década de los 50, es responsable de por lo menos una tercera parte de los casos. Cerca del 20% de los tumores inducidos por el torotrasto son CHC, el 33% son angiosarcomas, el 32% colangiocarcinoma y el 15% son combinaciones de lo anterior.

### Hemangiosarcoma

Se origina en la célula de Kupffer y es muy probable que esté relacionado con el uso de un compuesto, el cloruro de vinilo, un hidrocarbón alifático halogenado, que principalmente se utilizaba en la industria del caucho. Sin embargo, a este compuesto se le ha responsabilizado también de la inducción del CHC en individuos expuestos.

Desde 1973 se sabe que los anticonceptivos orales son causa de tumores hepáticos y con el transcurrir de los años se les ha incriminado no sólo en la producción de adenomas hepáticos benignos, sino más recientemente su uso ha sido vinculado al desarrollo de los CHC, colangiocarcinomas, hepatoblastomas y carcinomas fibrolamelares. Además, los andrógenos tales como la oximetelona, metandrostenolona y oxandrolona se les ha responsabilizado de la inducción de los tumores hepáticos (adenoma, CHC, angiosarcoma y colangiocarcinoma). Sin embargo, la contribución general de los andrógenos y estrógenos en el desarrollo del cáncer hepático es más bien limitada.

La mayoría de las autoridades en el tema reconocen a las infecciones virales, el alcoholismo y a la aflatoxina B1 como los principales factores responsables del desarrollo del CHC.

### ABSTRACT

The most common liver tumor in USA and most of the western world is metastasis Primary hepatic tumors can derive from hepatocytes (hepatocarcinoma), biliary ducts (cholangiocarcinoma) and Kupffer's cells (hemangiosarcoma). The most common primary liver tumor in the world is the hepatocarcinoma, this is due to the high prevalence of the lesion in many areas of Africa and Asia, although it is unusual in the western hemisphere.

Risk factors for hepatocarcinoma include: HBsAg carrier state, hepatitis C infection, cirrhosis of the liver, alcoholic liver disease, aflatoxin exposure, thorium dioxide, pesticides, anabolic steroids and hemochromatosis. The regenerative nodule can be considered as a preneoplastic lesion. Several tumoral markers have been found helpful in the diagnosis of this tumor: the classic one AFP is present only in 43% of the cases, HBsAg in studies in Taiwan in 58% of non neoplastic hepatocytes, AAT in 70% of the patients. These markers are expressed in the liver cell in several forms: granulofibrillar occupying most of the cytoplasm

and diffuse granular mainly in malignant hepatocytes. Immunoperoxidase stain shows a thick expression of the granular antigen in regenerating cells: this is true for AFP, AAT and HBsAg. The morphology of the tumor is multicentric in cirrhotic livers or focal in normal ones. Characteristically has a notorious tendency to invade the venous system and generally can appear as: a) nodular, b) massive, c) diffuse. The most common histologic pattern is the trabecular-pseudoglandular. The OMS classification of this lesion described 12 different types. In general the prognosis is very poor with the exception of the fibrolamellar type seen in young people that frequently can be resected. Protein p53 is the product of a tumor suppressor gene that have been found in many human cancers such as breast, lungs, colon and liver, its role in the etiology of hepatocarcinoma is unclear but factors such as viral infections, cigarette smoking and aflatoxin could initiate a mutation leading to the tumor. Cholangiocarcinoma is a tumor originated in the biliary epithelium that makes bile and mucin, exposure to thorium dioxide can be a risk factor. Hemangiosarcoma is a tumor originated in the Kupffer's cells and is clearly related to exposure to PVC. Finally oral contraceptives and androgens have been related with the formation of the following tumors: adenomas, hepatocarcinomas, cholangiosarcomas, hepatoblastomas and fibrolamellar carcinomas.

#### BIBLIOGRAFIA

1. **Abelev GI.** Production of Embryonal Serum-Globulin by Hepatomas: Review of Experimental and Clinical Data. *Cancer Res* 1968; **28**: 1344-1350.
  2. **Anthony PP, Vogel CL, Barker LF.** Liver Cell Dysplasia: A Premalignant Condition. *J Clin Path* 1973; **26**: 217-223.
  3. **Berman MM, Libbey P, Foster JH.** Hepatocellular Carcinoma - Polygonal Cell Type with Fibrous Stroma - An Atypical Variant with a Favorable Prognosis. *Cancer* 1980; **46**: 1448-1455.
  4. **Bisceglie AM.** Hepatocellular Carcinoma - Molecular Biology of its Growth and Relationship to Hepatitis B Virus Infection. *Med Clin N Amer* 1989; **73**: 985-997.
  5. **Bressac B, Kew M, Wands J, et al.** Selective G to T Mutations of p53 Gene in Hepatocellular Carcinoma from Southern Africa. *Nature* 1991; **350**: 429-431.
  6. **Cairns J.** The Origin of Human Cancers. *Nature* 1981; **289**: 353-357.
  7. **Chedid A, Chjfec G, Eichorst M, et al.** Antigenic Markers of Hepatocellular Carcinoma. *Cancer* 1990; **65**: 84-87.
  8. **Craig JR, Peters RL, Edmondson HA, et al.** Fibrolamellar Carcinoma of the Liver: A Tumor of Adolescents and Young Adults with Distinctive Clinico-Pathologic Features. *Cancer* 1980; **46**: 372-379.
  9. **Farhi DC, Shikes RH, Murari PJ, et al.** Hepatocellular Carcinoma in Young People. *Cancer* 1983; **52**: 1510-1515.
  10. **Harris AL.** Telling Change of Base. *Nature* 1991; **350**: 377-378.
  11. **Hirohashi S, Shimosato Y, Ino Y, et al.** Distribution of Hepatitis B Surface and Core Antigens in Human Liver Cell Carcinoma and Surrounding Nontumorous Liver. *J Natl Cancer Inst* 1982; **69**: 565-568.
  12. **Hsu HC, Lin WSJ, Tsai MJ.** Hepatitis-B Surface Antigen and Hepatocellular Carcinoma in Taiwan. *Cancer* 1983; **52**: 1825-1832.
  13. **Hsu IC, Metcalf RA, Sun T, et al.** Mutational Hotspot in the p53 Gene in Human Hepatocellular Carcinomas. *Nature* 1991; **350**: 427-428.
  14. **Hu CP, Han SH, Lui WY, et al.** Monoclonal Antibodies Against Antigens Expressed on Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Hepatology* 1986; **6**: 1396-1402.
  15. **Kashala LO, Conne B, Kalengayi MR, et al.** Histopathologic Features of Hepatocellular Carcinoma in Zaire. *Cancer* 1990; **65**: 130-134.
  16. **Kew M.** Alpha-Fetoprotein in Primary Liver Cancer and Others Diseases. *J Brit Soc of Gastro* 1974; **15**: 814-821.
  17. **Kohn J, Weaver P.** Serum-Alpha 1-Fetoprotein in Hepatocellular Carcinoma. *Lancet* 1974; 334-336.
  18. **Lack EE, Neave C, Vawter GF.** Hepatocellular Carcinoma - Review of 32 Cases in Childhood and Adolescence. *Cancer* 1983; **52**: 1510-1515.
  19. **Peters RL, Afroudakis AP, Tatter D.** The Changing Incidence of Association of Hepatitis B with Hepatocellular Carcinoma in California. *Am J Clin Path* 1977; **68**: 1-7.
  20. **Takamizawa A, Mori C, Fuke I, et al.** Structure and Organization of the Hepatitis C Virus Genome Isolated from Human Carriers. *J Virology* 1991; **65**: 1105-1113.
  21. **Thung SN, Gerber MA, Sarno E, et al.** Distribution of Five Antigens in Hepatocellular Carcinoma. *Lab Invest* 1979; **41**: 101-105.
  22. **Visfeldt J, Poulsen H.** On the Histopathology of Liver and Liver Tumours in Thorium-Dioxide Patients. *Acta Path Microbiol Scand* 1972; **80**: 97-108.
  23. **Wu PC, Lam KC.** Cytoplasmic Hepatitis B Surface Antigen and the Ground-Glass Appearance in Hepatocellular Carcinoma. *Am J Clin Path* 1978; **71**: 229-234.
  24. **Yu MC, Tong MJ, Coursaget P, et al.** Prevalence of Hepatitis B and C Viral Markers in Black and White Patients with Hepatocellular Carcinoma in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1990; **82**: 1038-1041.
-