

PREPORUKE ZA PRIMENU TUMORSKIH MARKERA KOD PRIMARNOG KARCINOMA JETRE

RECOMMENDATIONS FOR CLINICAL USE OF TUMOR MARKERS IN PRIMARY LIVER CANCER

Sanja Stanković

*Institute for Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia
and University School of Pharmacy, Belgrade, Serbia*

Kratak sadržaj: Hepatocelularni karcinom (HCC) je jedan od najrasprostranjenijih kancera širom sveta. Ukoliko se lečenje preduzme na vreme, rizik od razvoja bolesti može da se smanji. Ranija detekcija malih HCC, omogućila bi uspešnije lečenje ovih pacijenata primenom hirurške resekcije ili transplantacije. HCC je jedan od tumora kod koga tumorski markeri imaju veoma značajnu ulogu u dijagnozi i lečenju. Alfa-fetoprotein (AFP) je najznačajniji marker, te će u daljem tekstu biti razmatrana njegova biologija, kao i klinička korisnost merenja AFP zajedno sa drugim imidžing tehnikama. Takođe biće razmatrani i drugi tumorski markeri koji su bili ispitivani u ove svrhe. Dalji razvoj proteomike i molekularne genetike trebalo bi da omogući raniju detekciju i uspešnije lečenje pacijenata sa HCC.

Ključne reči: tumorski markeri, tumori jetre, hepatocelularni karcinom

Summary: Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common cancers worldwide. If treatment is instituted early enough, the risk of developing HCC can be decreased or abolished. In patients who have already developed HCC, surgical resection or transplantation with curative intent requires early detection of small sized malignancy. HCC is the one in which tumor markers play a major role in diagnosis and management. Alpha-fetoprotein (AFP) is the most important marker, so its biology is discussed in detail, as the clinical utility of AFP measurements with other imaging techniques. Also, other potential tumor markers that have been investigated are briefly described. Future developments in proteomic analysis and molecular genetics may lead to improved early detection and treatment of HCC patients.

Keywords: tumor markers, liver cancer, hepatocellular cancer

Tumori jetre

Tumori jetre mogu biti benigni i maligni. Patologija, epidemiologija, etiopatogeneza i terapija tumora jetre opisana je u mnogim publikacijama. Ova problematika zaokuplja pažnju ne samo zbog značajnog broja slučajeva karcinoma jetre i bilijarnog trakta, već i zbog činjenice da se karcinogeneza u jetri eksperimentalno intezivno istražuje i to sa značajnim rezultatima. Pored hepatocelularnog karcinoma (HCC), ne-

sumljivo najčešćeg tumora jetre, u jetri se mogu razviti i mnogi drugi maligni i benigni tumori. Histološka klasifikacija tumora jetre iz serije Internacionalne histološke klasifikacije tumora Svetske zdravstvene organizacije prikazana je u *Tabeli 1 (1)*.

Benigni tumori jetre

Osim kavernoznih hemangioma benigni tumori jetre su retki. Mogu biti kongenitalnog porekla ili stečeni. Patogeneza nije u potpunosti jasna ali se kao uzročnici navode dejstvo hormona i nekih toksičnih hemijskih agenasa. Obično su asimptomatski ili sa blagim simptomima. Simptomi mogu biti izraženi u slučaju pojave ozbiljnih komplikacija kao što su nekroza, ruptura, krvarenje i tromboza. Testovi funkcije jetre obično su u granicama normalnih vrednosti.

Address for correspondence:

Sanja Stanković
Institut za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije i Farmaceutski fakultet Univerziteta
u Beogradu, Beograd, Srbija
tel/fax: +381 11 361 56 31
e-mail: sanjast@EUnet.yu

Tabela I Histološka klasifikacija tumora jetre.

1. Epitelni tumori
 - Benigni
 - a. Hepatocelularni adenom (adenom jetrenih ćelija)
 - b. Adenom intrahepatičnih bilijarnih duktusa
 - c. Cistadenom intrahepatičnih bilijarnih duktusa
 - d. Bilijarna papilomatoza
 - Maligni
 - a. Hepatocelularni karcinom (karcinom jetrenih ćelija)
 - b. Intrahepatični holangiokarcinom (karcinom perifernih bilijarnih duktusa)
 - c. Cistadenokarcinom bilijarnih duktusa
 - d. Kombinovani hepatocelularni karcinom i holangiokarcinom
 - e. Hepatoblastom
 - f. Nediferentovani karcinom
2. Neepitelni tumori
 - Benigni
 - a. Angiomiolipom
 - b. Limfangiom i limfangiomatoza
 - c. Hemangiom
 - d. Infantilni hemangioendoteliom
 - Maligni
 - a. Epiteloidni hemangioendoteliom
 - b. Angiosarkom
 - c. Nediferentovani sarkom
 - d. Rabdiosarkom
 - e. Drugi
3. Razni tumori
 - Lokalizovan fibrozni tumor (lokalizovan fibrozni mezoteliom, fibrom)
 - Teratom
 - Yolk sac tumor (endodermal sinus tumor)
 - Karcinosarkom
 - Kaposi sarkom
 - Rabdoidni tumor
 - Drugi
4. Neklasifikovani tumori
5. Hematopezni i limfoidni tumori
6. Metastazni tumori
7. Epitelne abnormalnosti
 - Displazija hepatocita
 - Abnormalnosti bilijarnih duktusa
8. Tumorolike lezije
 - Hamartomi
 - a. Mezenhimski hamartomi
 - b. Bilijarni hamartom (mikrohamartom, *von Meyenburg complex*)
 - Kongenitalne bilijarne ciste
 - Fokalna nodularna hiperplazija
 - Kompezatorna lobarna hiperplazija
 - Pelioza jetre
 - Heterotopija
 - Nodulusna transformacija (nodulusna regenerativna hiperplazija)
 - Adenomatозна hiperplazija
 - Fokalna masna promena
 - Inflamatorni pseudotumor
 - Pankreasne pseudociste
 - Druge

Maligni tumori jetre

Prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji karcinomi u jetri se dele na: hepatocelularni karcinom, kombinovani hepatocelularni i holangiokarcinom, intrahepatični holangiokarcinom, cistadenokarcinom žučnih vodova i nediferentovani karcinom. Najčešći maligni tumor jetre je primarni hepatocelularni karcinom, a slede intrahepatični holangiokarcinom i sarkom.

Hepatocelularni karcinom

Uvod

Hepatocelularni karcinom (HCC) poznat i kao primarni karcinom jetre je peti po učestalosti kancer u svetu i treći najčešći uzrok smrtnosti od kancera (2) sa 500 000 novodijagnostikovanih slučajeva godišnje. Incidenca varira od 5,5/100 000 u SAD i Evropi do 14,9/100 000 u Aziji i Africi (3). U našoj zemlji incidenca HCC je 1,9 na 100 000 stanovnika godišnje i ona spada u grupu zajedno sa Velikom Britanijom, SAD, Čileom, Švedskom, Islandom, Jamajkom, Portorikom i Kolumbijom. Različiti stepeni relativne učestalosti delimično se tumače delovanjem različitih faktora rizika uključujući način života, infekcije virusima hepatitisa B i C, alkoholizam, hemijske hepatotoksine i ingestiju aflatoksina B1 iz kontaminirane hrane. U svim zemljama sveta konstantni faktori rizika su: muški pol, starost i ciroza jetre. Stariji pacijenti češće razvijaju HCC u odnosu na mlađe (4, 5), kao i pacijenti sa cirozom u odnosu na pacijente koji nemaju cirozu (2-6,6% (6) u odnosu na 0,4% (7)). Osim pomenutih faktora rizika u literaturi se navode i genetska predispozicija, kongenitalne anomalije, bolesti metabolizma, ishrana i mikotoksini, kancerogeni iz prirode, sintetski hemijski agensi, određene profesije, jatrogeeni agensi (lekovi i zračenje), alkohol, duvan i drugi kofaktori, virus hepatitisa D, hemohromatoza i prekancerozne promene u jetri.

Pacijenti u ranom stadijumu bolesti su često asimptomatski (8, 9), pa se HCC dijagnostikuje relativno kasno, što onemogućava dalje lečenje pacijenta (10). Na bolest treba posumnjati kod pacijenata sa cirozom jetre koji imaju ascit, encefalopatiju ili žuticu (11). Neki pacijenti inicijalno imaju bol u gornjem abdomenu, gube na težini, pojavljuje se palpabilna masa u gornjem abdomenu (9). Drugi simptomi uključuju obstruktivnu žuticu, dijareju, bol u kostima, dispneju, intraperitonealno krvarenje, paraneoplastični sindrom ((hipoglikemiju (12), eritocitozu (13), hiperkalcemiju (14, 15)), ozbiljnu dijareju (15), dermatomiozitis (16) itd.

Inicijalna ispitivanja u detekciji HCC obuhvataju »imidžing« tehnike-neinvazivne (ultrasonografija, kompjuterizovana tomografija, nuklearna magnetna rezonanca) i invazivne (selektivna angiografija, UZ angiografija, CT angiografija, CT tokom arterijalne

portografije), kao i laboratorijska ispitivanja (uključujući tumorske markere) i histološku potvrdu bolesti.

Stadijum bolesti i prognoza

Veoma retko se HCC dijagnostikuje rano u stadijumu karcinoma *in situ* (17) kada je funkcija jetre još uvek dobro očuvana i kada petogodišnje preživljavanje iznosi 89–93% nakon resekcije i 71% nakon perkutanog lečenja (18). Pacijenti u ranom stadijumu HCC imaju obično jedan tumorski nodus < 5 cm ili 2–3 nodusa od kojih je svaki < 3 cm. Prognoza zavisi od broja i veličine nodusa, funkcije jetre u vreme postavljanja dijagnoze i izbora terapije (19, 20). Veća heterogenost se javlja u uznapredovaloj fazi bolesti, što komplikuje izbor optimalnog tretmana i za posledicu ima značajne varijacije u stopi preživljavanja u različitim randomiziranim studijama (jednogodišnje preživljavanje 10–72%, dvogodišnje preživljavanje 8–50%) (21). Utvrđeno je da su prediktori ishoda kod ovih pacijenata vrednosti AFP, alkalne fosfataze, Child-Pugh skor i odsustvo ili prisustvo ascita (20, 22, 23). Prognoza za pacijente u terminalnom stadijumu HCC je loša: preživljavanje je manje od 6 meseci i nema benefita od primenjene terapije.

TNM sistem (24) i Okuda klasifikacija (25) se najčešće koriste za ispitivanje stadijuma bolesti. Prognostičke klasifikacije iz Japana (26), Francuske (22), Italije (23, 27), Španije (28, 29) i Kine (30) takođe su publikovane (31, 32), ali nijedna nije prihvaćena kao univerzalna. Većina njih uključuje kao glavni prognostički faktor ozbiljnost bolesti jetre, veličinu tumora u susednim strukturama i prisustvo metastaza (23, 25). Francuski sistem uključuje Karnofsky indeks, obstrukciju portalne vene, vrednosti serumskog bilirubina, alkalne fosfataze i AFP (cut-off 35 µg/L) (12). Prema dobijenom skor, pacijenti su klasifikovani kao oni sa niskim rizikom (A), umerenim (B) i visokim rizikom (C) sa jednogodišnjim preživljavanjem 72%, 34% i 7%. Druga klasifikacija koju je predložio *Cancer of the Liver Italian Program* (CLIP) (27) uključuje sledeće varijable: Child-Pugh stadijum, morfologiju, trombozu portalne vene i vrednosti serumskog AFP (cut-off 400 µg/L). Prema jednostavnom scoring sistemu pacijenti su podeljeni u sedam kategorija (0–6) sa srednjim preživljavanjem od 35,7; 22,1; 8,5; 6,9 i 3,2 meseci (kombinovane grupe 4–6) (23). Obe klasifikacije uključuju AFP kao indikator širenja tumora, ćelijske diferencijacije i agresivnog potencijala. *Barcelona Clinic Liver Cancer* (BCLC) klasifikaciji kombinuje invaziju i veličinu tumora sa parametrima funkcije jetre u prognozi i terapiji. Prema toj klasifikaciji postoji rani HCC (A) koji obuhvata solitarni tumor ili tri tumora manja od 3 cm pogodna za resekciju, intermedijarni HCC (B) koji obuhvata multinodularne tumore bez vaskularne invazije i ekstrahepatičnog širenja, uznapredovali HCC (C) i tzv. *end-stage* HCC stanje (D).

Dodatni prognostički faktori

Italijanska studija o prognostičkim faktorima kod 176 pacijenata sa HCC navodi niske vrednosti albumina, visoke vrednosti bilirubina i AFP, trombozu portalne vene kao nezavisne faktore rizika za skraćeno preživljavanje (33). Preživljavanje zavisi od stepena poremećaja funkcionalnog kapaciteta jetre, prisustva HBV infekcije, tipa dijagnoze i agresivnosti tumora. Novija japanska studija o prognostičkim faktorima koji utiču na preživljavanje nakon resekcije jetre kod pacijenata sa HCC potvrdila je poboljšanje ishoda i smanjenje stope operativnog mortaliteta tokom poslednje decenije. Godište, stepen oštećenja jetre, ekstrahepatične metastaze, invazija hepatične i portalne vene, hirurško lečenje bile su nezavisni prognostički faktori kod pacijenata sa HCC koji se podvrgavaju resekciji jetre (34).

Primarno lečenje

Terapijski tretman HCC zavisi od stadijuma bolesti, prisustva ili odsustva ciroze i stepena hepatične disfunkcije. Terapijske opcije za HCC su: hirurška resekcija, transplantacija jetre, transarterijska hemoembolizacija, kriohirurgija, hemioterapija, perkutana etanol injekciona terapija, mikrotalasna koagulaciona terapija, radioablativna terapija, radioterapija. Lečenju se podvrgava 30–40% pacijenata sa HCC u referentnim centrima u zapadnoj Evropi i 60–90% pacijenata u Japanu (2). Resekcija jetre je metoda izbora u lečenju pacijenata koji nemaju cirozu, sa petogodišnjim preživljavanjem od 70% u pažljivo izabranih pacijenata. Primenom transplantacije kod pacijenata sa cirozom koji su imali 1 nodus veličine < 5cm u prečniku ili do tri nodusa < 3 cm svaki, zabeležena je takođe visoka stopa preživljavanja.

Praćenje posle terapije

Prema vodiču *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) *practice guidelines for hepatobiliary cancer* (35), praćenje pacijenata sa HCC nakon lečenja sastoji se od imidžing procedura svakih 3–6 meseci u toku prve dve godine, a zatim jedanput godišnje i određivanja AFP svaka 3 meseca u toku 2 godine ukoliko je njegova koncentracija inicijalno bila povećana, a zatim svakih 6 meseci. U slučaju progresije bolesti, preporuke o inicijalnom ispitivanju treba da se revidiraju. Ispitivanja mogu da uključe i ultrazvuk, merenje koncentracije AFP, abdominalni CT sken, snimanje grudnog koša X-zracima i/ili MRI, a izbor tehnike i vreme zavise od vrste lečenja.

AFP

AFP jedan od prvih seroloških tumorskih markera korišćenih u kliničkoj praksi, ostao je i jedan od najznačajnijih. Gastroenterolozi koriste AFP kao deo skrininga na HCC u pacijenata sa cirozom.

Istorijski aspekti

Elektroforezom humane krvi iz pupčanika 1956. godine identifikovana je traka u blizini albumina (36), ali je povezanost iste sa HCC utvrđene tek 1963. godine kada je Abelev (37) detektovao AFP u plazmi miša sa transplantiranim HCC. Godinu dana kasnije Tatarinov (38) je potvrdio postojanje AFP u serumu pacijenata sa HCC što su potvrdili Stanislawski–Birenawajg (39) kod hemijski indukovanih tumora pacova i kod ljudi. Od tada su razvijeni mnogo osjetljiviji testovi uporedo sa povećanjem broja benignih i malignih stanja u kojima su utvrđene povećane koncentracije AFP.

Struktura gena i lokalizacija

Gen za AFP je član superfamilije gena koja obuhvata gene za serumski albumin, protein koji vezuje vitamin D i alfa albumin. Svi nabrojani proteini sintetišu se u jetri i sekretuju u serum. AFP je kodiran genom na dužem kraku 4. hromozoma (4q11-q13) (40).

Struktura i funkcija proteina

AFP je glikoprotein molekulske mase 70 kDa, koji se sastoji od 591 aminokiseline i 4% ugljenih hidrata. Ugljenohidratni ostaci izolovani iz ascita pacijenta sa HCC sastojali su se od jednog bianternarnog lanca koji je N-vezan za asparagin 232 proteinskog skeleta. Ova struktura je potvrđena masenom spektrometrijom AFP-a dobijenog iz hepatoblastoma ćelijske linije Hep G2 i papirnom elektroforezom i hromatografskom analizom pula humanog seruma dobijenog iz pupčanika u trudnoći. Izoelektričnim fokusiranjem i lektin elektroforetskim tehnikama utvrđena je mikroheterogenost AFP, tj. različit stepen terminalne sijalinizacije i fukozilacije šećera bočnih lanaca (41).

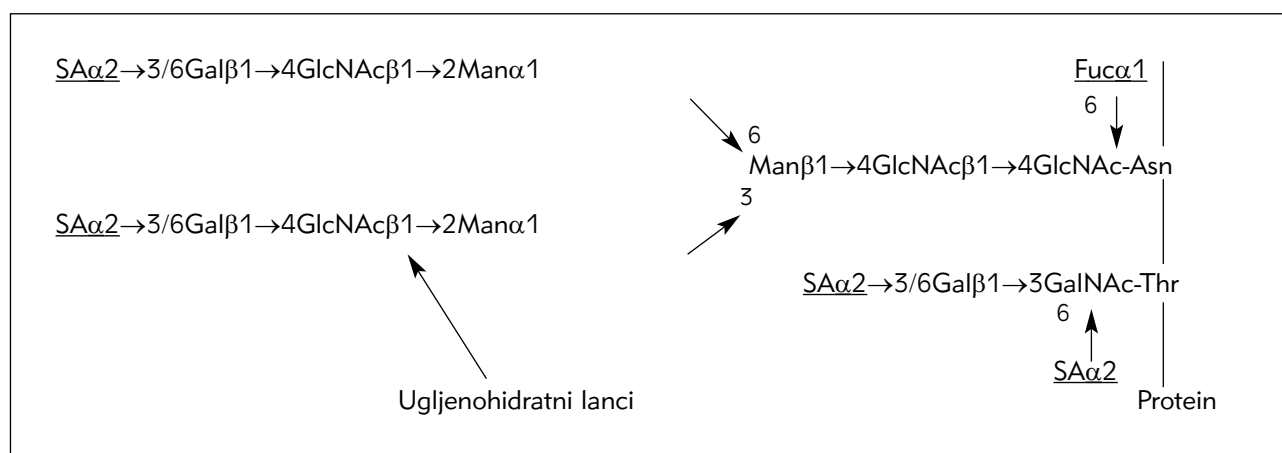
Mnogo osjetljivijim analitičkim tehnikama uključujući one sa fluorescentnim obeleživačem, sekvencijalnom egzoglikozidaznom digestijom, HPLC, masenom spektrometrijom utvrđeno je 11 različitih tipova ugljenohidratnih lanaca (glikani). Od toga je sedam N-vezanih i četiri O-vezana za proteinski skelet. Struktura N-vezanih glikana je bianternarni kompleks sa različitim stepenom sijalinizacije, fukozilacije i galaktozilacije. Tri O-vezana glikana su mucin O-GalNAc tipa sa različitim stepenom sijalinizacije. Ove različite izoforme AFP mogu biti specifične za različite bolesti i usled toga mogu poslužiti kao osnova za razvoj specifičnijih testova za detekciju HCC. Strukture N- i O- vezanih glikana u humanom AFP su prikazani na Slici 1.

AFP glikoforme mogu da se diferenciraju na osnovu njihovog afiniteta za vezivanje za lektin (42, 43, 44). Serumski AFP pacijenata sa HCC vezuje se jače za konkavalin A nego AFP iz tumora ne seminomatoznih germinativnih ćelija, a oba se za *Lens culinaris lektin* (LCA) vezuju čvršće nego AFP pacijenata sa benignim oboljenjem jetre. Afinitet za LCA je znatno veći za AFP kod HCC (AFP-L3) nego kod tumora ne seminomatoznih germinativnih ćelija (AFP-L2). Testovi kojima se specifično mere AFP-L3 i AFP-P4 glikoforme dostupni su na tržištu (42, 44).

Brojne publikacije iz Japana i drugih azijskih zemalja ukazuju da povećanje AFP-L3 frakcije serumskog AFP bolje korelira sa histološkim karakteristikama HCC (veća invazija vene porte, uznapredovali tumor bez obzira na veličinu) i bolje predviđa lošiji ishod u odnosu na konvencionalno određivanje AFP u serumu (45-49).

Dinamika AFP

Nakon uklanjanja tumora hirurškom resekcijom ili transplantacijom jetre, koncentracije AFP se sman-



Slika 1 Strukture N- i O-vezanih glikana u humanom AFP. Heterogenost u naelektrisanju zavisi od brojnih molekula sijalinske kiseline i nešto manje od molekula fukoze. Precizno mesto vezivanja O-glikana za treonin u proteinskom skeletu nije poznato. Izoforme povezane sa HCC su pretežno monosijalinizirane.

juju sa poluživotom od 3 do 6 dana. Do sličnih zaključaka se došlo kod pacijenata koji su podvrgnuti citotoksičnoj hemoterapiji u retkim slučajevima kada je to efikasno. Nije utvrđen nagli skok vrednosti AFP u cirkulaciji nakon procedura koje uzrokuju brzu nekrozu tumora, prevashodno zbog toga što se AFP ne skladišti u tumorskim ćelijama (49).

Metode određivanja AFP, standardizacija i referentne vrednosti

U ranijim studijama za određivanje AFP korišćeno je kvalitativno ili semikvantitativno određivanje imunodifuzijom. Kao pozitivan rezultat dobijen ovim AFP testom smatrana je vrednost 1–2 µg/mL ili veća. U studiji koja je uključivala nekoliko zemalja i veliki broj pacijenata, 60–75% HCC pacijenata bilo je pozitivno korišćenjem modifikovane Ouchterlony tehnike. Lažno pozitivni rezultati dobijeni su kod pacijenata u kontrolnoj grupi sa cirozom, drugim primarnim tumorima (stomak ili pankreas) i testikularnim teratocarcinomom.

AFP se danas određuje dvostranim imunometrijskim testovima koristeći monoklonska i ili poliklonska antitela, pri čemu se dobijaju rezultati koji su slični rezultatima određivanja AFP radioimnoodređivanjem koje se ranije koristilo za određivanje AFP. Većina komercijalnih testova je kalibrisana prema WHO internacionalnom standardu (IS) 72/225. Klinički rezultati su izraženi u masenim jedinicama (µg/L) ili u kU/L IS 72/225, gde 1 internacionalna jedinica (IU) AFP odgovara 1,21 ng. Gornja granica referentnog intervala koju koristi većina centara je 10–15 µg/L (8,3–12,4 kU/L). Koncentracija AFP se povećava sa godinama starosti. Gornja granica referentnog intervala povećava se sa 9,3 kU/L kod osoba mlađih od 40 godina na 12,6 kod osoba starijih od 40 godina (50). Referentne vrednosti treba određivati za svaki test jer su utvrđene varijacije u rezultatima dobijenim određivanjem različitim metodama.

Opseg referentnih vrednosti

Nekoliko grupa istraživača je 1970-tih osetljivim radioimnoodređivanjima utvrdilo da su vrednosti AFP kod zdravih osoba bile manje od 10 ng/mL. Masseyeff i sar. (51) su radioimnoodređivanjem kod zdravih osoba utvrdili opseg referentnih vrednosti od 0,1 do 5,8 ng/mL ($2,6 \pm 1,6$ ng/mL). Rutinski testovi nisu bili dovoljno osetljivi, te su cut-off vrednosti za gornju granicu referentnog intervala bile 10 ili 25 ng/mL. Sa ovom povećanom osetljivošću, AFP se može detektovati u više od 80% HCC slučajeva, ali uz neizbežno smanjenje specifičnosti. Ovo smanjenje specifičnosti daće lažno pozitivan rezultat i kod pacijenata sa drugim malignim bolestima (naročito bolestima GI trakta) i drugim benignim hroničnim bolestima jetre (52).

Kod pacijenata sa HCC 80% ima pozitivan AFP, a vrednosti su između 1 i 10 000 000 ng/mL sa medijanom oko 1 000 ng/mL. Slične vrednosti utvrđene su jedino kod tumora neseminomatoznih germinativnih ćelija. Kod pacijenata sa HCC, vrednosti AFP ne zavise od stadijuma bolesti. Vrednosti AFP se povećavaju kod pacijenata sa AFP pozitivnim tumorima sa vremenom; ukoliko se pacijent ne podvrgne lečenju vrednosti AFP se udvostručuju u roku od 5 do 100 dana.

AFP u benignim bolestima

Umereno povećanje koncentracije AFP u serumu (10–500 ng/mL, povremeno i do 1000 ng/mL) javlja se kod pacijenata sa hepatitisom bilo kog tipa ili cirozom jetre. Povećane vrednosti AFP (>10 ng/mL) utvrđene su kod 20–40% pacijenata sa hroničnim hepatitisom i cirozom jetre. Povećanje koncentracije AFP može biti povezano sa serokonverzijom Hbe antigenemije u prisustvo Hbe pozitivnih antitela. Ovo povećanje javlja se kod povećane inflamatorne aktivnosti u jetri ili pred kraj akutnog hepatitisa kada se jetra oporavlja. Ova zapažanja ukazuju da je aberantna sekrecija AFP povezana sa proliferacijom ćelija ili regeneracijom jetre. Ova konstatacija se ne može smatrati pravilom pošto posle resekcije jetre, klasičnog inicijatora regeneracije jetre, nije utvrđen porast koncentracije AFP. Vrednosti između 10 i 1000 ng/mL čine tzv. sivu zonu, a vrednosti AFP kod benignih stanja kao što su hronični hepatitis, ciroza, mali HCC mogu se naći u ovoj oblasti. Kako su kliničari često suočeni sa problemom utvrđivanja da li je HCC napredovao kod pacijenata sa cirozom jetre, činjenica da su vrednosti AFP povećane kod pacijenata samo sa hroničnim oboljenjem jetre predstavlja glavni klinički problem.

Podatke o frekvencijama koje se tiču povećanja AFP trebalo bi pažljivo razmatrati. Prvo, povećanja blizu donje granice osetljivosti testa mogu uzrokovati značajne promene u dobijenim frekvencijama. Drugo, česte su značajne fluktuacije naročito u toku hroničnih oboljenja jetre. Pretpostavlja se da postoji stadijum tokom koga se u većini slučajeva akutnog i hroničnog hepatitisa prolazno povećavaju koncentracije AFP. Vrednosti AFP u serumu mogu biti povećane tokom prekliničke faze HCC, pre nego što se tumor može detektovati »imidžing« tehnikama (53).

AFP u drugim malignim bolestima

Maligni tumori koji sekretuju AFP su tumori gastrointestinalnog trakta, kancera želuca i kancera bii-jarnog trakta i pankreasa (53).

AFP u postavljanju dijagnoze HCC

European Association for the Study of the Liver (EASL) (54), British Society of Gastroenterology (55),

European Group on Tumor Markers (EGTM) (56) i NCCN (35) preporučuju određivanje AFP u dijagnostici HCC.

U kohortnoj studiji na 239 pacijenata sa hroničnim hepatitisom, 277 slučajeva sa cirozom i 95 pacijenata sa HCC u različitim stadijumima bolesti, utvrđena je osetljivost AFP od 78,9% i specifičnost od 78,1% pri cut-off vrednosti većoj od 20 ng/mL za dijagnozu HCC. Pri cut-off vrednosti od 200 ng/mL, specifičnost testa se povećava na 99,6% na račun smanjenja osetljivosti na 52,6% (57). Koncentracija AFP između 400 i 500 µg/L generalno je prihvaćena kao vrednost na osnovu koje se mogu razdvojiti HCC ili hronično oboljenje jetre.

Vrednosti AFP u serumu mogu da se povećaju i pre nego što se tumor može detektovati »imidžing« tehnikama, tako da povećanje vrednosti AFP bez dokaza o prisustvu tumora nije uvek lažno pozitivan rezultat. Vrednosti koncentracije AFP veće od 500 ng/mL kod pacijenata koji imaju hronično oboljenje jetre su indikacija za dalje detaljno ispitivanje. Masa jetre određena »imidžing« tehnikama u prisustvu hroničnog oboljenja jetre, udružena sa nivoima AFP većim od 500 ng/mL ukazuje na HCC.

Vrednosti AFP manje od 500 ng/mL kod pacijenata sa hroničnim oboljenjem jetre predstavljaju dijagnostičku dilemu. Detaljna ispitivanja takvih pacijenata omogućavaju ranu i korisnu dijagnozu HCC, ali mogu navesti i na lažno pozitivan rezultat. Ukoliko vrednosti AFP kontinuirano rastu, ovaj porast ukazuje na HCC. Ukoliko vrednosti opadaju ili fluktuiraju, prisustvo HCC je manje verovatno. Treba napomenuti da značajno smanjenje vrednosti AFP može da se zapazi u terminalnom stadijumu HCC. Vrednosti od 1 000 ng/mL su obično indikator postojanja tumora koji sintetišu AFP pa se preporučuje određivanje AFP-L3 (LCA) ili AFP-P4 (E-PHA) lektinskim testom.

Faktori koji utiču na vrednosti koncentracije AFP u serumu

Ekspresija gena kontroliše se uglavnom na nivou transkripcije. U trenutku prezentacije, nivoi AFP mogu se kretati od onih u opsegu referentnih vrednosti do 10 g/L. Kod oko 40% pacijenata sa HCC vrednosti AFP mogu biti iznad 1 000 ng/mL. Dobro diferentovani mali HCC (<2 cm) retko ekspimiraju detektabilne koncentracije AFP u serumu i tumorske ćelije ne pokazuju AFP imunobojeanjem. Mada mali tumori imaju tendenciju da ekspimiraju niske nivoe AFP, nema jasne direktne povezanosti između nivoa AFP i veličine tumora. Individualni tumori imaju različite kapacitete da sintetišu AFP i teško je pouzdano meriti masu tumora i ispitivati korelaciju između mase tumora i nivoa AFP. Tumori koji se detektuju kao veći korišćenjem »imidžing« tehnika mogu u suštini biti nekrotični i sadržati samo mali broj ćelija. Muškarci sa HCC imaju veće koncentracije AFP u serumu u odno-

su na žene, a vrednosti AFP u serumu su veće kod mlađih pacijenata. Pacijenti sa HCC koji su seropozitivni na hepatitis B površinski antigen (HbsAg) imaju veću frekvenciju povećanih vrednosti AFP, ali se ove vrednosti često preklapaju sa vrednostima AFP kod HbsAg pozitivnih pacijenata sa cirozom i/ili hroničnim aktivnim hepatitisom. Specifičnost AFP za detekciju HCC u serološki definisanoj podgrupi je smanjena. U nekoliko studija je utvrđen značajno veći broj pozitivnih rezultata među pacijentima sa HCC sa cirozom u odnosu na one bez ciroze. Procenat pacijenata sa HCC u Japanu sa vrednostima AFP u serumu <20 ng/mL u momentu prezentacije povećava se sa 3,6% na 29% tokom devetogodišnjeg perioda od 1978. godine do 1986. godine dok je procenat osoba kod kojih je koncentracija AFP >10 000 ng/mL smanjen sa 53,5% na 6,4% u toku istog vremenskog perioda. Veći broj HCC sa niskim vrednostima AFP posledica je uvođenja osetljivih »imidžing« tehnika (53).

Poboljšanje dijagnostičke specifičnosti – izoforme specifične za bolest

Identifikacija tumor-specifičnih glikoformi može povećati specifičnost AFP za HCC. Najuspešniji prilaz bazira se na razlikama u afinitetu vezivanja molekula AFP različitog porekla za različite lektine. AFP pacijenata sa HCC vezuje lektin konkavalin A, dok se onaj iz tumora *yolk sac* vezuje manje. Lentil lektin vezuje se za AFP pacijenata sa HCC više u odnosu na AFP pacijenata sa benignim bolestima jetre. Koristeći druge lektine kao što su *Lens culinaris* i eritroaglutinirajući fitohemaglutinin moguće je razlikovati na bazi različitog vezivanja *cord blood type*, HCC tip, GI tumor tip, *yolk sac* tip AFP. Komercijalni testovi koji se zasnivaju na ovom principu dostupni su na tržištu i mogu se koristiti za ranu detekciju HCC.

Izoelektrično fokusiranje takođe se koristi za direktnu identifikaciju izoformi AFP. Mogu se identifikovati tri osnovne trake. AFP+II traka je specifična za HCC, a AFP+III traka za tumore neseminomatoznih germinativnih ćelija. Dalja traka (+I) utvrđena je kod pacijenata sa hroničnim oboljenjem jetre bez znakova maligniteta. U studiji koja je obuhvatila veliku kohortu pacijenata sa hroničnim oboljenjem jetre, traka +II (za jetru specifičan AFP) može se detektovati i nekoliko meseci pre nego što se tumor može utvrditi ultrazvučnom dijagnostikom. Kvantitativno određivanje tumor specifičnih traka omogućava povećanje pozitivne prediktivne vrednosti sa 41,5% koristeći konvencionalni test za određivanje koncentracije ukupnog AFP do 73,1% sa ovom specifičnom izoformom. Osetljivost je 86%, a specifičnost 77% (53).

Struktura izoformi koje su karakteristične za određenu bolest

Utvrđeno je da izoforma AFP koja karakteriše HCC ima jednu terminalnu sijalinsku kiselinu, a njen

proksimalni N-acetil glukozamin je fukozilirani. Nekoliko O-vezanih glikana takođe je vezano za proteinski skelet. Trake specifične za HCC dobijene izoelektričnim fokusiranjem predstavljaju seriju glikana i karakterišu se monosijalinizacijom. Glavne ugljenohidratne strukture HCC-specifičnih AFP glikoformi su fukozilirani monosijalo biantenarni kompleks-tip-N-glikana i nefukozilirani monosijalo biantenarni kompleks-tip-N-glikana.

Vezivanje za lektine i izoelektričnofokusiranje imaju klinički značaj ali se ne primenjuju u kliničkoj praksi jer su u praksi dostupni jednostavni, jeftini i robusni testovi za određivanje tumor-specifičnog AFP. Pošto su biohemijske razlike između AFP povezanog sa tumorom, kao i onog koji nije povezan sa tumorom veoma male, razvoj takvih rutinskih testova je tehnički težak zadatak (53).

»Skrining« populacije i rana dijagnoza

Cilj »skrininga« na HCC asimptomatskih grupa ispitanika je da identifikuje tumore koji se mogu lečiti kako bi se smanjio mortalitet, povećalo preživljavanje i smanjili troškovi lečenja (58). Pacijenti sa cirozom sa konstantno povećanim vrednostima AFP imaju povećan rizik od dobijanja HCC u poređenju sa onima kod kojih vrednosti AFP variraju ili su normalne (59). Niske koncentracije AFP utvrđene su kod malih HCC tumora; imunobojenje kod ovih tumora često daje negativan rezultat (60) i isti se mogu utvrditi samo ultrazvučnim pregledom.

Lezije koje se ne mogu detektovati imidžing tehnikama obično dostižu veličinu do 2 cm u prečniku u toku 4–12 meseci (61, 62), tako da u cilju detekcije tumora čija je veličina manja od 2 cm predloženi interval za kontrolu pacijenata sa cirozom je 6 meseci (laboratorijsko određivanje serumskog AFP i ultrazvučni pregled) (63). Razlike u dizajnu studije često onemogućavaju direktno poređenje rezultata dobijenih različitim studijama. Sistematskim pregledom karakteristika testova za određivanje AFP za dijagnostiku HCC kod HCV pacijenata (64), utvrđeno je da je samo 5 od 1239 studija ispunilo sve kriterijume autora (65–69). U ovim studijama pri cut-off vrednosti serumskog AFP od 20 µg/L, osetljivost se kretala između 41 i 65%, specifičnost između 80 i 94%, pozitivan »likelihood« odnos između 3,1 i 6,8 i negativni »likelihood« odnos između 0,4 i 0,6, ukazujući na njegovu ograničenu vrednost kao »skrining« testa. Kod pacijenata sa hepatitisom C (33), 19 od 24 studije publikovane od 1985–2002. godine prikazale su osetljivost i specifičnost AFP za HCC od 45–100% i 70–95% pri cut-off vrednosti između 10 i 19 µg/L. Ultrazvučnom dijagnostikom utvrđena je veća osetljivost (71%) i specifičnost (93%) nego za serumski AFP, ali je pozitivna prediktivna vrednost bila 14% (8). Kako uspeh ultrazvučnog pregleda zavisi od obučenosti lekara, ispitivanje pacijenata sa povećanim serumskim koncentracijama AFP ili suspe-

ktivnim nodusima treba da se izvodi u specijalizovanim centrima.

Incidencija HCC kod pacijenata sa hroničnim hepatitisom je manja nego kod pacijenata sa cirozom. Japanska iskustva ukazuju da pacijenti sa hepatitisom B pre razvijaju HCC u odnosu na ispitanike sa hepatitisom C, čak i mlađe osobe i asimptomatske pacijente ili nakon serokonverzije.

U jednoj studiji, 1069 HBV pacijenata sa dokazanom cirozom podvrgnuto je ispitivanju i detektovano je 14 slučajeva HCC od kojih je 6 bilo u ranom stadijumu bolesti (70). Frekvencija detekcije maligniteta koji se može lečiti bila je još manja u studiji na 118 Francuza sa cirozom Child-Pugh A ili B klase koji su bili ispitivani u 6-mesečnim intervalima ultrazvukom, a kojima su određivani i AFP i des-γ-karboksi protrombin. Samo 1 od 14 detektovanih HCC slučajeva (7%) mogao je da se podvrgne hirurškom zahvatu u vreme postavljanja dijagnoze (71). Druge studije ukazale su na korisnost »skrininga« na HCC kod osoba koje imaju hronični hepatitis B. Populacionom prospektivnom studijom na Aljasci na 2230 hepatitis B površinski antigen pozitivnih nosilaca sa cirozom (72, 73) utvrđeno je da je 64–87% detektovanih HCC bilo ograničeno na jedan lokus, a da je 43–75% tumora bilo < 3 cm što je omogućilo lečenje kod oko 29–66% pacijenata sa detektovanim tumorom (74–76). U drugoj studiji, veličina tumora bila je značajno smanjena i preživljavanje poboljšano (35% prema 10% u toku 30 meseci) kada je HCC detektovan »skriningom« (77).

Postoje dodatni dokazi da je »skrining« visoko rizične populacije na HCC smanjio troškove u zemljama sa velikom učestalošću oboljevanja kao što je Hong Kong (78) i da je »skrining« povećao preživljavanje, što je pokazano i u asimptomatskoj azijsko-havajskoj populaciji sa hroničnim hepatitisom B ili C i cirozom (79), kao i u italijanskoj studiji pacijenata sa cirozom i detektovanim HCC (80). U SAD insistira se na tome da se dvaput godišnje određuje koncentracija AFP i da se obavlja ultrazvučni pregled pacijentima koji imaju HbsAg kao i dodatne faktore rizika (aktivni hronični hepatitis, cirozu, itd.), kao i kod pacijenata sa cirozom bilo koje etiologije (81). Markov analiza je jasno ukazala da je kod pacijenata u SAD sa cirozom koja je uzrokovana hroničnim hepatitisom C, »skrining« na HCC rentabilniji u odnosu na druge prihvaćene protokole »skrininga« (82).

S obzirom na veliku primenu određivanja AFP i ultrazvučnog pregleda kod pacijenata sa cirozom jetre u cilju rane dijagnostike HCC koji se može lečiti (73, 83, 84), nameće se potreba za utvrđivanjem i validacijom protokola za praćenje toka bolesti kada se utvrde suspektne nodusi (85, 86, 87). *European Association for the Study of the Liver* (EASL) preporučuje da se nodusi manji od 1 cm u prečniku prate ponovljenim ultrazvukom, kao i da im se određuje AFP u periodu od 6 meseci. Ukoliko su nodusi

veliĉine 1 do 2 cm ispitivanje treba proširiti biopsijom i histološkim nalazom (lažno pozitivni rezultati 30–40%), a za tumore veće od 2 cm (54) i dodatnim neinvazivnim dijagnostičkim kriterijumima (dve imidžing tehnike). Francuzi su u studiji objavljenoj 2001. godine (88) ukazali da dijagnoza HCC treba da se bazira na histopatološkom ispitivanju jednog ili više uzoraka jetre dobijenih hirurškim zahvatom, laparoskopijom ili US-/CT- biopsijom (standard) ili ukoliko biopsiju nije moguće izvesti kao alternativna metoda navodi se aspiracija iglom za citološko ispitivanje. Povećanje AFP utvrđeno uzimanjem slučajnog uzorka može biti prolazno kao posledica inflamacije ili hroničnog virusnog hepatitisa, dok se povećane, ali stabilne vrednosti ređe javljaju kod HCC. Ukoliko se utvrdi da se vrednosti AFP povećavaju pacijenta obavezno treba pratiti ultrazvukom ili drugim imidžing tehnikama (54).

British Society of Gastroenterology (55) je 2003. godine dalo preporuke o korišćenju serijskog merenja tumorskih markera u cilju »skrininga« HCC.

Sledeće preporuke odgovaraju nivou dokaza IIa: »Skrining« abdomena ultrazvukom i AFP detektuje HCC manje veliĉine. »Skrining« abdomena ultrazvukom i AFP omogućavaju da se veći procenat pacijenata podvrgne terapiji, jer ranija detekcija HCC vodi dužem preživljavanju pacijenata i smanjenju troškova leĉenja.

Preporuke predlažu da se praćenje za HCC ograniĉi na muškarce i žene sa cirozom uzrokovanom HBV, HCV ili genetskom hemohromatozom, kao i na muškarce sa cirozom usled primarne bilijarne ciroze i alkoholne ciroze (nivo dokaza III). Verovatnoća dobijanja HCC nakon ciroze druge etiologije smatra se malom (nivo dokaza IIb). Određivanje AFP i ultrazvuk abdomena preporučuje se u šestomeseĉnim intervalima (nivo dokaza III), pri čemu je potrebna odgovarajuća oprema i dobro obučeni lekar i preporuka je da pacijentima treba da se ukaže na implikacije rane dijagnoze i nedostatak dokazane korisnosti (nivo dokaza IIb).

U skladu sa preporukama drugih ekspertskih grupa (35, 88, 54–56), NACB preporučuje 6-meseĉno određivanje AFP i ultrazvuĉni pregled abdomena u cilju skrininga visoko riziĉnih pacijenata, posebno onih sa cirozom izazvanom HBV ili HCV.

Hirurška resekcija ili transplantacija jetre su jedina nada za dugotrajno preživljavanje ljudi sa HCC. Obe procedure imaju ograniĉenu efikasnost kada se pojave simptomi. Teorijski skrining asimptomatskih pacijenata (određivanjem koncentracije AFP i ultrazvuĉno ispitivanje) može da doprinese terapijskom uspehu tretmana. Danas se prednost daje ultrazvuĉnom ispitivanju u odnosu na određivanje koncentracije AFP (posebno za male tumore). Kako je određivanje AFP jeftin test smatra se da ga treba određivati uporedo sa ultrazvuĉnim ispitivanjem, jer povećava specifiĉnost dobijenih rezultata ultrazvuĉnim ispitivan-

jem. Takođe, treba imati u vidu da AFP može biti povećan i kada se tumor ne može detektovati ultrazvuĉnim ispitivanjem.

Stadijum bolesti i prognostiĉki znaĉaj

U većini kliničkih studija na pacijentima sa HCC utvrđeno je da je povećana koncentracija AFP u serumu povezana sa lošijom prognozom kod ovih pacijenata. Takođe, može ukazivati na agresivniji tumor ili na postojanje ciroze kod ovih pacijenata praćeno povećanjem vrednosti AFP (89, 90). Odluka o resekciji kod pacijenata sa HCC povezana je sa veliĉinom tumora, stepenom vaskularne invazije i stepenom disfunkcije jetre.

Većim studijama je utvrđeno da su povećane koncentracije AFP u vreme postavljanja dijagnoze prediktori lošije prognoze kod ovih ispitanika, u poređenju sa pacijentima ĉije su koncentracije AFP u opsegu referentnih vrednosti (10, 22). Retrospektivna studija 309 HCC pacijenata podeljenih prema vrednostima AFP pre leĉenja (<20, 20–399 ili ≥400 µg/L) utvrdila je da pacijenti sa višim vrednostima AFP imaju veće tumore, ali nije utvrđena korelacija sa Okuda stadijumom, stepenom diferencijacije tumora ili ekstrahepatiĉkim metastazama (91). Uz veliĉinu tumora i AFP se smatra nezavisnim prediktorom preživljavanja (92, 93). Preživljavanje pacijenata sa serumskim vrednostima AFP > 10 000 µg/L pri postavljanju dijagnoze je znaĉajno kraće nego kod onih koji su imali vrednosti AFP < 200 µg/L (medijana preživljavanja 7,6 u odnosu na 33,9 meseci) (94). AFP vrednosti >1000 µg/L prediktori su relativno loše prognoze kod pacijenata ĉak i nakon resekcije (95).

Vreme za koje se vrednost AFP udvostruĉi takođe je znaĉajan prognostiĉki faktor (96). Postojanje pozitivnog AFP-L3 frakcije nakon intervencije takođe može ukazati na rezidualni tumor ili na recidiv bolesti (97). Zajedno sa EASL (54), NACB preporučuje određivanje serumske koncentracije AFP pre leĉenja u prognostiĉke svrhe u kombinaciji sa drugim prognostiĉkim faktorima.

Znaĉaj određivanja AFP kod praćenja pacijenata

Serijsko određivanje koncentracije AFP za praćenje leĉenja HCC je dobro prihvaćeno kod pacijenata sa povećanim vrednostima AFP pre terapije. Nakon kompletnog uklanjanja tumora, vrednosti AFP se smanjuju sa poluživotom od 3,5–4 dana. Nepotpuna resekcija uslovljava duži poluživot i udružena je sa lošijim preživljavanjem (96, 91). Normalizacija AFP ne mora uvek da ukaže na ozdravljenje. Često kod pacijenata može doći do recidiva nakon transplantacije, uprkos činjenici da su serumske vrednosti AFP u opsegu referentnih vrednosti nakon operativnog zahvata (92, 96, 98). Uzrok je postojanje mi-

krometastaza koje su suviše male da bi mogle da sekretuju toliko AFP da bi uslovile povećanje koncentracije AFP u serumu iznad opsega referentnih vrednosti. Ponovljeno povećanje koncentracije AFP je obično prediktor recidiva bolesti, ali to ne mora biti pravilo.

Promene u vrednostima AFP takođe mogu da ukazuju na odgovor tumora na hemoterapiju. Smatra se da bolju prognozu imaju pacijenti kod kojih vrednosti AFP opadaju brže u odnosu na one kod kojih vrednosti opadaju sporije nakon hemoterapije (99, 100). Kod 75% pacijenata koji primaju novu i efikasnu kombinovanu sistemsku terapiju (101) utvrđeno je dramatično smanjenje serumskih koncentracija AFP. Kod nekih pacijenata podvrgnutih ovakvoj terapiji vrednosti AFP se kompletno normalizuju. Progresija bolesti je utvrđena kod pacijenata sa kontinuiranim povećanjem AFP, a vreme za koje se vrednosti AFP udvostruče između 6,5 i 112 dana (srednja vrednost 41 dan) korelira sa preživljavanjem (96). Isti je slučaj i nakon radioterapije kod primarnih i sekundarnih tumora jetre. Smanjenje vrednosti tumorskih markera ukazuje na regresiju tumora bolje nego kasnije promene u veličini tumora i zapremeni određenoj CT. Razlike između tumor markera i rezultata dobijenih »imidžing« tehnikama mogu biti posledica rezidualne fibroze i drugih faktora koji mogu dodatno zakomplikovati interpretaciju CT skenova (102).

Prema ekspertskoj grupi (35, 54, 88), NACB preporučuje seriju određivanja serumskog AFP (ukoliko je bio povišen pre lečenja) da bi se pratila efikasnost terapije, tok bolesti i uočio mogući recidiv bolesti.

Uloga AFP u praćenju odgovora na hiruršku intervenciju i medicinsku terapiju

Serijsko određivanje AFP u serumu je korisno za praćenje odgovora na terapiju, kao i nakon hirurške intervencije.

Kompletnim uklanjanjem tumora kod pacijenata sa HCC ili nakon transplantacije jetre dolazi do smanjenja koncentracije AFP u serumu. Niska stopa preživljavanja utvrđena je kod pacijenata koji imaju duži poluživot AFP. Vrednosti koncentracija AFP u referentnom opsegu ne mogu se smatrati markerom izlečenja. Smatra se da hemoterapija nije efikasna kod pacijenata sa HCC. Pacijenti kod kojih postoji duži period smanjenja koncentracije AFP žive duže u odnosu na pacijente kod kojih je utvrđen nagli pad vrednosti AFP, dok ovi žive duže u odnosu na one pacijente kod kojih je utvrđeno kontinuirano povećanje koncentracije AFP. Mnogo efikasnija kombinacija sistemskih terapija je danas dostupna. U jednoj studiji iako je utvrđen samo umeren broj parcijalnih remisija, u 75% slučajeva utvrđeno je dramatično smanjenje koncentracije AFP, a u 20% slučajeva inici-

jalno neoperabilni tumori postali su operabilni. Histopatološko ispitivanje uzoraka dobijenih nakon resekcije ukazivalo je ili na kompletnu histološku remisiju ili samo na minimalnu rezidualnu bolest. U progresivnoj bolesti u kojoj vrednosti koncentracije AFP rastu brzina udvostručavanja koncentracije korelira pozitivno sa preživljavanjem pacijenta (53).

Drugi tumorski markeri u HCC

Serumski feritin

Određivanje koncentracije feritina u serumu pacijenata sa HCC ima malu specifičnost, jer su povećane vrednosti feritina nađene kod 87% pacijenata sa nekomplikovanom cirozom, kao i kod 97% pacijenata sa HCC. U kasnijim studijama navodi se da je on superiorniji dijagnostički marker za HCC u odnosu na AFP i da se visoke vrednosti feritina javljaju češće kod pacijenata sa HCC koji sintetišu male količine AFP. Serijska određivanja oba markera povećavaju dijagnostičku osetljivost. Dijagnostikovanje tumora veličine manje od 3 cm u prečniku povećava se sa 75% merenjem samo AFP na 100% određivanjem i feritina i AFP. Feritin takođe može biti koristan marker za praćenje odgovora na terapiju, naročito kod AFP negativnih pacijenata. Za razliku od AFP, uobičajeno je inicijalno povećanje koncentracije feritina nakon terapije, pre smanjenja nivoa feritina sa regresijom tumora (53).

γ -glutamil transpeptidaza (g-GTP) izoenzim

γ -GTP je fetalni izoenzim. Aktivnost ovog enzima je niska u jetri odrasle osobe, a veoma visoka u fetalnoj jetri i tkivu HCC. Tri izoforme γ -GTP izoenzima karakteristične su za HCC iako se na elektroferogramu izdvaja 13 traka. Jedna ili više specifičnih traka detektovano je kod 109 od 200 pacijenata sa HCC, ali samo kod 1 od 57 pacijenata sa cirozom jetre kao i kod 1 od 43 pacijenta sa hroničnim hepatitisom. Mada se HCC specifični γ -GTP javlja mnogo češće kod pacijenata sa većim nivoima AFP, utvrđen je i kod 29 od 76 (38%) pacijenata sa AFP <400 ng/mL i kod 11 od 41 (27%) pacijenata sa AFP <100 ng/mL. Ovi HCC specifični izoenzimi mogu da služe kao dijagnostički marker zajedno sa AFP. Kao i sa AFP, specifičnost je posledica strukturnih razlika u ugljenohidratnim lancima koje su rezultat post-translacionih promena u tumorskoj ćeliji. Ove strukturne razlike uslovljavaju razlike u molekularnoj masi, elektroforetskoj pokretljivosti i afinitetu za lektine (103).

Alkalna fosfataza (ALP)

Varijanta ALP (VAALP) je manje osetljiva u odnosu na AFP i γ -GTP, ali mnogo specifičnija, pošto je negativna kod pacijenata sa drugim tipovima kan-

cera i kod pacijenata sa benignim oboljenjima hepatobilijarnog trakta. Pošto njena prevalenca ne zavisi od vrednosti AFP i prisustva γ -GTP, on može da služi kao komplementarni marker AFP ili γ -GTP (104).

Des- γ -karboksi protrombin (DCP)

Ovaj potencijalni marker za HCC je abnormalni protrombin koji se oslobađa u cirkulaciju u slučajevima kada je inhibirana vitamin K zavisna karboksilaza u jetri ili usled odsustva vitamina K ili prisustva antagonista vitamina K. Otkriven je 1984. god. u SAD (105), a ispitivan uglavnom u Japanu. On se teško detektuje kod zdravih osoba. Umereno povećani nivoi utvrđeni su kod pacijenata sa cirozom jetre i metastazirajućim kancerom jetre.

Komercijalni EIA test za određivanje DCP potiče iz Japana. Osetljivost ove metode je značajno poboljšana od 1996. godine i iznosi 10 mAU/mL (AU, arbitrarna jedinica; 1AU=1 μ g protrombina). Brojne publikacije ukazuju da je osetljivost DCP za HCC od 54–70% pri cut-off vrednosti od 40 mAU/mL, sa odgovarajućom specifičnošću kod pacijenata sa cirozom između 87% i 95%. Kod istih pacijenata određen je AFP i pri cut-off vrednosti od 20 μ g/L utvrđena je osetljivost od 47–72% i specifičnost od 72–86%. Kombinacijom DCP/AFP dobijena je osetljivost oko 80% (106–109). DCP, AFP i kombinacija DCP/AFP osetljivosti za solitarni HCC (< 2 cm) bila je 30–53%, 13% i 57%, a za veće tumore (> 3 cm) 78–81%, 49–69% i 84–94% (106, 107, 109). Osetljivost oba markera bila je bolja za umereno do slabije diferencirane tumore (DCP 68%, AFP 61%, DCP/AFP 85%; n=41) nego za dobro diferencirane tumore (DCP 13%, AFP 33%, DCP/AFP 40%; n=15) (109). DCP i AFP koreliraju sa veličinom i gradusom tumora, ali ne koreliraju značajno međusobno.

Američka *cross-sectional case-control* studija koja je poredila serumski AFP i DCP potvrdila je superiornost DCP kao tumorskog markera za HCC (110). Studija je uključivala 48 zdravih Amerikanaca, 51 pacijenta sa hroničnim hepatitisom (uglavnom hepatitis C), 53 osobe sa kompenzovanom cirozom i 55 osoba sa dokazanim HCC i koristeći ROC-analizu dobijene su optimalne cut-off vrednosti 11 μ g/L za AFP i 125 mAU/mL za DCP. DCP se pokazao kao bolji u odnosu na AFP u diferenciranju HCC od ciroze (osetljivost 90% u odnosu na 77%; specifičnost 91% u odnosu na 71%; PPV 85% prema 81%; NPV 90% prema 74%; AUC 0,921 prema 0,815). Kombinacija DCP i AFP nije se pokazala boljom u odnosu na DCP kao pojedinačni marker.

Utvrđeno je da DCP ima prognostički značaj. U studiji koja je obuhvatala pacijente sa HCC lečene perkutanom injekcijom etanola (PEI) ili mikrotalansnom koagulacionom terapijom, multivarijantnom analizom je pokazano da je posle histološkog stadijuma i diferencijacije tumora, DCP najbolji prediktivni

faktor kasnijeg razvoja invazije portalne vene (111), dok je ROC analiza ukazala da je on efektivan prediktor recidiva HCC nakon resekcije (112). Drugi izveštaj (113) ukazao je da visoke vrednosti DCP (>62,5 mAU/mL) sa niskim AFP (<100 μ g/L) koreliraju sa velikim HCC i nekoliko tumorskih fokusa. Ishod je lošiji kod pacijenata koji su imali visoke vrednosti DCP i AFP (113).

Lažno povećane vrednosti DCP mogu se naći kod pacijenata sa ozbiljnom opstruktivnom žuticom usled intrahepatičkeolestaze ili u stanjima kada je dejstvo vitamina K poremećeno (dugotrajni deficit vitamina K ili terapija varfarinom ili antibioticima širokog spektra) (114). Uprkos brojnim ograničenjima, DCP je marker koji ima značajan potencijal.

Glipikan-3

Glipikan-3 (GPC-3) je novi tkivni i serumski marker za HCC. Gen za GPC-3 kodira člana familije glikozil-fosfatidilinozitolom vezane heparan sulfatne proteoglikane na površini ćelija (115). Prvi put je opisan preko njegove iRNK, koja je povećana kod 75% uzoraka tkiva kod primarnog i rekurentnog HCC, ali samo kod 3,2% uzoraka normalne jetre. Ovi podaci su kasnije potvrđeni imunohistohemijski (67,69). Povećani nivoi GPC-3 iRNK nađeni su u serumu pacijenata sa HCC (116). GPC-3 ima veću osetljivost u odnosu na AFP (88% u odnosu na 55%), čak i za grupu pacijenata sa malim HCC (< 3 cm) (77% prema 43%). U studiji na 34 HCC pacijenta (115), osetljivost je bila nešto niža (53%) i slična onoj dobijenoj za AFP (54%). Specifičnost je bila zadovoljavajuća, jer nisu utvrđene značajno povećane vrednosti kod zdravih donora ili pacijenata sa akutnim hepatitisom, osim kod jednog od 20 pacijenata sa hroničnim hepatitisom i cirozom. Kombinacijom ova dva markera dobijena je osetljivost 82%. Nijedan marker nije međusobno korelirao.

Noviji radovi o GPC proteinu (117) pokazali su da je samo aminoterminalni fragment prisutan u cirkulaciji (solubilni serološki marker-sGPC-3). Koristeći ELISA tehniku sa specifičnim monoklonskim antitelima analizirani su serumski 69 pacijenata sa HCC, 38 sa cirozom jetre i 96 zdravih osoba i ROC analizom dobijena je sledeća osetljivost/specifičnost 51%/90% za sGPC-3 (cut-off 2 μ g/L) u poređenju sa AFP (55%/90%) (cut-off 20 μ g/L). Osetljivost ova dva markera u ranom stadijumu HCC bila je esencijalno nepromenjena i nije utvrđena korelacija između sGPC-3 i AFP kod 69 pacijenata sa HCC. Kombinacijom markera utvrđena je osetljivost od 72%. Rezultati preliminarnih studija ukazuju na potencijalnu korist od sGPC-3 markera, ali su neophodne veće kliničke studije kako bi se utvrdio pravi potencijal ovog markera.

Alfa-1-antitripsin (AAT)

AAT je 54kDa glikoprotein koji se sintetise u jetri. Sastoji se od jednog polipeptidnog lanca sa četiri oligosaharidna bočna lanca dva različita tipa. Aktivnost AAT bila je značajno veća kod pacijenata sa HCC u odnosu na pacijente sa benignim bolestima jetre (118). Nije utvrđena korelacija između nivoa AAT i AFP, ukazujući da AAT može biti koristan marker u postavljanju dijagnoze HCC kod AFP-negativnih pacijenata. Serumski nivoi AAT u stadijumu I HCC bili su značajno niži od onih u stadijumu II ili III. Pacijenti sa potvrđenom cirozom imali su nešto više nivoa AAT u odnosu na pacijente koji nisu imali cirozu. Kod pacijenata sa AFP-negativnim HCC, nivoi AAT kod HbsAg-pozitivnih pacijenata bili su veći u odnosu na one kod HbsAg-negativnih pacijenata. Vrednosti AAT rastu sa povećanjem veličine tumora. Pacijenti sa HCC i inkapsuliranim tumorima, a bez tromba u tumoru imaju manje vrednosti AAT u odnosu na one sa neinkapsuliranim tumorima, kao i kod onih sa vaskularnim trombom. Resektabilnost tumora je veća kod pacijenta sa manjim preoperativnim vrednostima AAT.

Aldolaza A

Kod pacijenata sa HCC utvrđena je povećana aktivnost aldolaze A, jednog od ključnih enzima u glikolizi koji katalizuje cepanje fruktozo 1,6-difosfata i fruktozo 1-fosfata. Aktivnost ovog enzima u serumu je manja kod pacijenata sa benignim bolestima jetre kao što je ciroza i hepatitis u poređenju sa pacijentima sa HCC. Povećana aktivnost aldolaze A utvrđena je kod 11 od 17 pacijenata (64,71%) sa tumorom \leq 5 cm i kod 23 od 29 pacijenata (79,31%) sa stadijumom I tumora, ukazujući na to da ovaj marker može biti značajan u ranoj dijagnozi. Nakon kompletne resekcije HCC vrednosti aldolaze A vraćaju se u opseg referentnih vrednosti i ponovo se povećavaju samo u slučaju recidiva (53).

5'-nukleotid fosfodiesteraza V (5'-NPD)

5'-NPD je enzim koji hidrolizuje nukleotid pri čemu nastaje nukleozid i fosfatna kiselina. On je pozitivan kod 83,2% od 95 pacijenata sa HCC i detektovan je kod 8,3% pacijenata sa cirozom i 13,3% pacijenata sa hepatitisom. »Positivity rate« je bio 85,7% kod AFP-pozitivnih pacijenata sa HCC i 76% kod AFP-negativnih slučajeva. U japanskoj studiji, dijagnostička vrednost ovog enzima za HCC bila je veoma visoka posebno kod pacijenata sa niskim vrednostima AFP. Hepatitis može uzrokovati nespecifičnu lažno pozitivnu reakciju u testu za određivanje aktivnosti ovog enzima. Aktivnost ovog enzima ne treba određivati kod pacijenata sa hepatitisom (53).

Tkivni polipeptidni antigen (TPA)

Vrednosti TPA su određivane u cilju detekcije HCC kod pacijenata sa cirozom. Studija je uključivala dve grupe pacijenata sa cirozom i to 35 pacijenata sa i 90 pacijenata bez HCC. Utvrđena je statistički značajna razlika u srednjim vrednostima TPA između ove dve grupe i najbolja dijagnostička tačnost za HCC sa osetljivošću 48,6% i specifičnošću 85,6% utvrđena je za cut-off vrednost 240 U/L. Utvrđena je značajna korelacija između nivoa vrednosti TPA i enzima jetre, te stoga treba biti oprezan u tumačenju rezultata TPA u postavljanju dijagnoze jer disfunkcija jetre može usloviti povećanje TPA (119).

α -L-fukozidaza

Aktivnost serumske α -L-fukozidaze kod pacijenata sa HCC ($575,76 \pm 272,86$ nmol/mL/h) bila je statistički značajno veća u odnosu na pacijente sa cirozom ($274,55 \pm 138,97$ nmol/mL/h) ili druge neoplazme ($257,91 \pm 128,12$ nmol/mL/h; $p < 0,001$). Sa osetljivošću od 76% i specifičnošću od 90,9% za cut-off vrednost od 443 nmol/mL/h, α -L-fukozidaza se smatra korisnim markerom za detekciju HCC kada se koristi zajedno sa AFP i ultrazvučnim ispitivanjem jetre (120).

Fibrolamelarni HCC predstavlja varijantu HCC sa boljom prognozom. Pacijenti su uglavnom mlađe osobe (prosek godina 26), a podjednako je zastupljen kod oba pola i obično nije prisutna ciroza jetre. Medijana preživljavanja ovih pacijenata je 5 godina nakon operacije. Za razliku od AFP koji se ne sintetise u povećanim koncentracijama, određivanje proteina koji vezuje vitamin B12 i neurotenzina može biti korisno (53).

Drugi primarni tumori jetre: holangiokarcinom

Holangiokarcinomi čine oko 10% primarnih tumora jetre. Postoje dva osnovna tipa holangiokarcinoma i to intrahepatički i hilusni holangiokarcinom ili *Klatskinov* tumor (50–60% uključujući i perihilarne tumore) i distalni ekstrahepatični holangiokarcinom (20–25%). Mortalitet od holangiocelularnog karcinoma je u stalnom porastu. Obično oboljevaju starije osobe (50–60 godina), a po polu zastupljenost je podjednaka. Hirurški tretman je jedini terapijski tretman kod pacijenata sa holangiokarcinomom. Rezultati su obeshrabrujući: petogodišnje preživljavanje je 9–18% kod proksimalnih holangiokarcinoma i 20–30% za distalne lokalizacije. Medijana preživljavanja za pacijente sa intrahepatičkim holangiokarcinomom je: bez zahvatanja hilusa 18–30 meseci, a perihilarni tumor 12–24 meseca. Preživljavanje zavisi od stepena tumora, slobodnih ivica, infiltracije limfnih žlezda koji predstavljaju pozitivne prognostičke indikatore (77–79). Primena hemioterapije i postoperativnog zračenja nije dala značajnije rezultate u lečenju ovih

pacijenata. Naročito težak dijagnostički problem je razvoj holangiokarcinoma kod pacijenata koji imaju sklerozirajući holangitis. Od tumorskih markera koristi se CA 19-9. Kod pacijenata sa intrahepatičkim holangiokarcinomom, osetljivost je bila 55% (pri cut-off vrednosti od 100 U/mL). Nije potvrđen značaj CA 19-9 u prognostičkom smislu (da li će pacijent sa sklerozirajućim holangitisom razviti holangiokarcinom), mada se u literaturi navode podaci o značaju njegovog određivanja u kombinaciji sa pozitron emisijom tomografijom u ovom slučaju (53).

Koncentracije CA 19-9 su značajno povećane u 85% slučajeva, a serumski alfa-fetoprotein (AFP) nije povećan. Vrednosti CEA su povećane kod 30% pacijenata, a CA 125 u oko 40–50 % pacijenata sa holangiokarcinomom (121, 122).

Vrlo retko se javlja kombinacija HCC i holangiokarcinoma kod istog pacijenta. Citokeratin je najbolji marker za diferentovanje holangiokarcinoma od HCC i nađen je u oko 90 % holangiokarcinoma (82).

Tabela II Trenutno dostupni serumski i tkivni markeri kancera jetre.

Tumorski marker	Namena	Faza razvoja	LOE
Tkivni markeri			
Glipikan-3	Razlikovanje HCC od drugih oboljenja jetre na nivou tkiva	Pod evaluacijom	V
Telomeraza	Nezavisan prediktor recidiva nakon resekcije HCC	Pod evaluacijom	V
PCNA (<i>proliferating cell nuclear antigen</i>) labelling index	Predikcija recidiva i preživljavanja kod malih HCC	Pod evaluacijom	V
Ki-67	Procena prognoze nakon resekcije HCC	Pod evaluacijom	V
MIB-1, E-kadherin, β -katenin	Prognostički marker recidiva kod pacijenata sa transplantiranom jetrom	Pod evaluacijom	V
Serumski markeri			
AFP	Praćenje pacijenata sa HCC, zajedno sa ultrazvukom u cilju rane detekcije HCC. [Kada je specifičnost adekvatna (90% pri cut-off vrednostima između 100 i 500 g/L), osetljivost je mala (20–40%) i PPV 5–15%]	U kliničkoj upotrebi, ali značaj određivanja nije potvrđen u velikim studijama	IV
	Praćenje pacijenata kod kojih nema dokaza o postojanju bolesti nakon resekcije ili transplantacije	U kliničkoj upotrebi, ali značaj određivanja nije potvrđen u velikim studijama	IV
	Praćenje terapije u uznapredovalom stadijumu bolesti	U kliničkoj upotrebi, ali značaj određivanja nije potvrđen u velikim studijama	IV
	Preoperativna procena prognoze. [AFP 20 g/L predviđa obrnuti ishod]	U kliničkoj upotrebi, ali značaj određivanja nije potvrđen u velikim studijama	IV
AFP-Con A-vezivanje	Različito poreklo povećanja AFP iz germinativnih ćelija i metastatskih tumora jetre (veliki) iz HCC (mali) (indeks glukozaminilacije)	Nije u kliničkoj upotrebi, ali efikasno diferencira izvor AFP kao HCC ili GCT. Značaj određivanja nije potvrđen u velikim studijama	V
AFP-LCA-vezivanje	Razlikovanje malignog od nemalignog povećanja AFP, nezavisno od lokacije (indeks fukozilacije)	Nije u kliničkoj upotrebi, ali efikasan u utvrđivanju porekla AFP (maligno ili benigno oboljenje jetre)	V
HCC-specifična AFP traka pri IEF (monosijalinizirani AFP)	Ranija detekcija HCC u odnosu na dijagnostički AFP (500 g/L), PPV 73% prema 42%)	Nije u kliničkoj upotrebi.	V
AFP lektin-afinitetna podgrupa (LCA-reaktivni LCA-L3; eritroaglutinirajući-fitohemaglutinin-E4 reaktivni AFP-P4 i P5)	Predikcija malignijeg stadijuma i lošiji ishod. AFP-L3 se rutinski koristi u Japanu kada su vrednosti AFP veće od cut-off vrednosti; AFP-P4 je osetljiviji, ali se ne koristi u rutinskoj praksi.	Ograničena klinička upotreba kao komercijalnog testa u nekim zemljama, ali značaj određivanja nije potvrđen u velikim studijama	IV
Cirkulišući slobodni AFP-IgM kompleksi	Obezbeđuje informacije komplementarne AFP.	Pod evaluacijom	V

Tabela II (Nastavak)

DCP PIVKA II	Koristi se sa AFP tokom i nakon lečenja u smislu predviđanja lošeg ishoda, ranog recidiva i malignog potencijala. CLD i terapija varfari-nom smanjuju cirkulišuće vrednosti. Tri komercijalna testa različite tačnosti su dostupna.	Pod evaluacijom	IV
Rastvorljivi NH ₂ -fragment glikoproteina-3, heparan sulfatnog proteoglikana	Dijagnoza i praćenje HCC i pacijenata sa cirozom. Veća osetljivost u odnosu na AFP.	Pod evaluacijom	V
Izo- γ -GTP	Komplementaran AFP kao dijagnostički marker za HCC.	Pod evaluacijom	V
Feritin	Praćenje HCC kod pacijenata sa tumorima koji ne sintetišu AFP.		V
Varijanta ALP	Komplementaran AFP.	Pod evaluacijom	V
α 1-antitripsin	Komplementaran AFP.	Pod evaluacijom	V
Aldolaza A	Komplementaran AFP.	Pod evaluacijom	V
5-nukleotid fosfodiesteraza (5-NPD)	Komplementaran AFP. Praćenje HCC kod pacijenata čiji tumori ne sintetišu AFP.	Pod evaluacijom	V
Citokeratini (CK18, CK19, TPA, TPS)	Komplementaran AFP.	Pod evaluacijom	V
Cirkulišući slobodni SCCA-IgM kompleksi	Komplementaran AFP u dijagnostici HCC.	Pod evaluacijom	V
α -fukozil-transferaza	Marker progresije HCC.	Pod evaluacijom	V
α -L-fukozidaza	Komplementaran AFP.	Pod evaluacijom	V
TGF 1	Dijagnoza malog HCC.	Pod evaluacijom	V
Urinarni TGF 1	Komplementaran AFP.	Pod evaluacijom	V
ICAM-1	Prediktor prognoze HCC.	Pod evaluacijom	V
Anti-p53-antitela	Komplementaran AFP u dijagnozi HCC.	Pod evaluacijom	V
IL-8	Prediktor prognoze HCC.	Pod evaluacijom	V
IGF-II	Komplementaran AFP.	Pod evaluacijom	V
Telomeraza	Dijagnoza HCC i prediktor njegovog toka [takođe se određuje i u ascitu]	Pod evaluacijom	V
Varijanta <i>wild-tips</i> ER	Prediktor loše prognoze HCC.	Pod evaluacijom	V
Protein koji vezuje vitamin B12	Dijagnoza AFP-negativne fibrolamelarne varijante HCC.	Pod evaluacijom	V
Neurotenzin	Dijagnoza AFP-negativne fibrolamelarne varijante HCC.	Pod evaluacijom	V
Slobodne nukleinske kiseline	Rana detekcija i praćenje HCC.	Pod evaluacijom	V
Epigenetske abnormalnosti kao što je p16 hipermetilacija	Rana detekcija HCC.	Pod evaluacijom	V
Proteomika	Rana detekcija i praćenje HCC.	Pod evaluacijom	V
Slobodne tumorske ćelije			
Tumorske ćelije u perifernoj krvi detektovane RT-PCR AFPmRNK	Procena pre i postoperativne prognoze. Predikcija ranog recidiva i udaljenih metastaza nakon operacije. Pomaže u odlukama u terapiji. Klinička korisnost je kontroverzna, a rezultati studija se razlikuju.	Pod evaluacijom	IV, V
Genetski markeri		Faza istraživanja	
Plazma glutamatkarboksipeptidaza (PGCP); fosfolipaze A2 G13 i G7 i drugi cdNA <i>mikroarray derived encoded proteini</i>	Procena ranog HCC kod pacijenata sa hroničnim virusnim hepatitisom; procena metastatskog potencijala HCC.	Pod evaluacijom	V
MAGE-1 -3, SSX-1, 2, 4, 5, SCP-1, NY-ESO-1	Komplementaran AFP u praćenju recidiva. Antigeni kandidati za imunoterapiju.	Pod evaluacijom	V

LOE nivo dokaza, AFP alfa-fetoprotein, CON A konkavalin A, LCA *Lens culinaris* aglutinin, DCP des- γ -karboksi-protrombin, PIVKA II protrombin nastao usled nedostatka vitamina K ili antagonizma II; γ -GTP; γ -glutamyl-transpeptidaza; ALP alkalna fosfataza; TPA tkivni polipeptidni antigen; TPS tkivni polipeptidni specifični antigen. SCCA antigen karcinoma skvamoznih ćelija; TGF transformišući faktor rasta; ICAM intracelularni ćelijski adhezioni molekul; IL-8 interleukin-8; IGF-II insulinu sličan faktor rasta II, ER receptori za estrogen

Drugi serumski markeri za kancer jetre

Detekcija cirkulišućih HCC ćelija RT-PCR AFP iRNK pre i posle lečenja pokazala se korisnom u predikciji recidiva HCC i lošeg ishoda u nekim studijama (123, 124). Proteomika (125, 126), određivanje slobodnih nukleinskih kiselina (127) i epigenetskih abnormalnosti (npr. p16 hipermetilacija) (128) u serumu ili plazmi takođe mogu doprineti u dijagnostici HCC. Ispitivanjem uzoraka jetre HCV inficiranih pacijenata cDNK *microarray* analizom utvrđeno je 50 gena, potencijalnih tumorskih markera za HCC (129). Katalitički fragment vitronektina identifikovan je SELDI-TOF masenom spektrometrijom i smatra se da će ovaj serumski marker HCC biti vrlo značajan kod pacijenata sa hroničnim oboljenjem jetre (126).

NACB ne preporučuje nijedan biomarker osim AFP za rutinsko ispitivanje pacijenata sa HCC ili ispitivanja koji nose rizik od dobijanja HCC, ali podržava dalju evaluaciju kliničke korisnosti potencijalnih markera (npr. AFP-L3, DCP i glipikan-3) u odgovarajuće dizajniranim prospektivnim randomiziranim kliničkim studijama.

Zaključak

Hepatocelularni karcinom je jedan od najčešćih kancera širom sveta i često mu prethode hronični virusni hepatitis B ili C ili alkoholom izazvana oboljenja jetre. Ukoliko se lečenje preduzme veoma rano, rizik od razvoja HCC može da se smanji ili da se izbegne njegov nastanak. Kod pacijenata koji su već razvili HCC, hirurška resekcija ili transplantacija obično se primenjuje samo u početnom stadijumu bolesti. Klinička korisnost merenja AFP zajedno sa drugim »imidžing« tehnikama uveliko se primenjuje, dok je korisnost drugih tumorskih markera potrebno dalje ispitati. Trenutno dostupni serumski i tkivni markeri kancera jetre prikazani su u *Tabeli II* (130).

Daljim razvojem tehnika molekularne genetike i proteomike može se značajno unaprediti rana detekcija i lečenje pacijenata sa HCC. Budućnost u ispitivanju novih tumorskih markera svakako će se osim na proteomiku, oslanjati i na nove izvore cirkulišućih molekularnih markera i epigenetske abnormalnosti u serumu ili plazmi.

Zahvalnost. Rad je finansiran na osnovu ugovora br.145010 B sa MNTR Srbije.

Literatura

- Ishak KG, Antony PP, Sobin LH: Histological typing of tumors of the liver. World Health Organization. 2nd ed. Berlin: Springer – Verlag, 1994.
- Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362:1907–17.
- Bosch X, Ribes J, Borrás J. Epidemiology of primary liver cancer. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 271–85.
- Bruix J, Barrera JM, Calvet X, Ercilla G, Costa J, Sanchez-Tapias JM, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. *Lancet* 1989; 2: 1004–6.
- Colombo M, de Franchis R, Del Ninno E, Sangiovanni A, De Fazio C, Tommasini M, et al. Hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1991; 325: 675–80.
- Fattovich G, Giustina G, Schalm SW, Hadziyannis S, Sanchez-Tapias J, Almasio P, et al. Occurrence of hepatocellular carcinoma and decompensation in Western European patients with cirrhosis type B: the EUROHEP Study Group on Hepatitis B Virus and Cirrhosis. *Hepatology* 1995; 21: 77–82.
- Beasley RP, Hwang LY, LIn CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus: a prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet* 1981; 2: 1129–33.
- Schwartz JM, Carithers RL. Clinical features, diagnosis, and screening for primary hepatocellular carcinoma. UpToDate online 11.2, April 2003.
- Kew MC, Dos Santos HA, Sherlock S. Diagnosis of primary cancer of the liver. *Br Med J* 1971; 4: 408–11.
- A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: A retrospective study of 435 patients: the Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) investigators. *Hepatology* 1998; 28: 751–5.
- Sugano S, Miyoshi K, Suzuki T, Kawafune T, Kubota M. Intrahepatic arteriovenous shunting due to hepatocellular carcinoma and cirrhosis, and its change by transcatheter arterial embolization. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 184–8.
- Tietge UJ, Schofl C, Ocran KW, Wagner S, Boker KH, Brabant G, et al. Hepatoma with severe non-islet cell tumor hypoglycemia. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 997–1000.
- Kew M, Fisher J. Serum Erythropoietin concentrations in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1986; 58: 2485–8.
- Knill-Jones RP, Buckle RM, Parsons V, Calne RY, Williams R. Hypercalcemia and increased parathyroid-hormone activity in a primary hepatoma. Studies before and after hepatic transplantation. *N Engl J Med* 1970; 282: 704–8.
- Yen TC, Hwang SJ, Wang CC, Lee SD, Yeh SH. Hypercalcemia and parathyroid hormone-related protein in hepatocellular carcinoma. *Liver* 1993; 13: 311–5.
- Gregory B, Ho V. Cutaneous manifestations of gastrointestinal disorders. Part I. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26: 153–66.
- Takayama T, Makuuchi M, Hirohashi S, Sakamoto M, Yamamoto J, Shimada K, et al. Early hepatocellular

- carcinoma as an entity with high rate of surgical cure. *Hepatology* 1998; 28: 1241–6.
18. Kojiro M. The evolution of pathologic features of hepatocellular carcinoma. In: Tabor E, ed. *Viruses and liver cancer: perspectives in medical virology*. Amsterdam: Elsevier Science, 2002: 113–22.
 19. Llovet JM, Fuster J, Bruis J. Intention-to-treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: resection versus transplantation. *Hepatology* 1999; 39: 1434–40.
 20. The Liver Cancer Study Group of Japan. Predictive factors for long term prognosis after partial hepatectomy for patients with hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer* 1994; 74: 2272–80.
 21. Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; 37: 429–42.
 22. Chevret S, Trinchet JC, Mathieu D, Rached AA, Beaugrand M, Chastang C. A new prognostic classification for predicting survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. J Hepatol* 1999; 31: 133–41.
 23. Prospective validation of the CLIP score: a new prognostic system for patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) Investigators. *Hepatology* 2000; 31: 840.
 24. AJCC (American Joint Committee on Cancer) *Cancer Staging Manual*, 6th ed., Greene FL, Page, DL, Fleming, ID, et al, (Eds), Springer-Verlag, New York 2002, p. 131.
 25. Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, Tomimatsu M, Okazaki N, Hasegawa H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. *Cancer* 1985; 56: 918–28.
 26. Kudo M, Chung H, Haji S, Osaki Y, Oka H, Seki T, et al. Validation of a new prognostic staging system for hepatocellular carcinoma: the JIS score compared with the CLIP score. *Hepatology* 2004; 40: 1396–405.
 27. The cancer of the liver Italian program (CLIP) investigators. A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 435 patients. *Hepatology* 1998; 28: 751–5.
 28. Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Sem Liver Dis* 1999; 19: 329–38.
 29. Bruix J, Llovet JM. Prognostic prediction and treatment strategy in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 519–24.
 30. Leung TWT, Tang AMY, Zee B, Lau WY, Lai PBS, Leung KL, et al. Construction of the Chinese university prognostic index for hepatocellular carcinoma and comparison with the TNM staging system, the Okuda staging system, and the cancer of the liver Italian program staging system. *Cancer* 2002; 94: 1760–9.
 31. Llovet JM, Beaugrand M. Hepatocellular carcinoma: present status and future prospects. *J Hepatol* 2003; 38 (suppl 1): S136–S149.
 32. Henderson JM, Sherman M, Tavill A, Abecassis M, Chejfec G, Gramlich T. AHPBA/AJCC consensus conference on staging of hepatocellular carcinoma: consensus statement. *HPB* 2003; 5 (4): 243–50.
 33. Gebo KA, Chander G, Jenckes MW, Ghanem KG, Herlong HF, Torbenson MS, et al. Screening tests for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C: a systematic review. *Hepatology* 2002; 36: S84–S92.
 34. Ikai I, Arii S, Kojiro M, Ichida T, Makuuchi M, Matsuyama Y, et al. Reevaluation of prognostic factors for survival after liver resection in patients with hepatocellular carcinoma in a Japanese nationwide survey. *Cancer* 2004; 101: 796–802.
 35. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology/Hepatobiliary Cancers v.2004* (<http://www.nccn.org/>)
 36. Bergstrand CG, Czar B. Demonstration of new protein fraction in serum from the human fetus. *Scand J Clin Lab Invest* 1956; 8: 174–6.
 37. Abelev GI, Perova SD, Khramkova NI, Postnikova ZA, Irlin IS. Production of embryonal-globulin by transplantable mouse hepatomas. *Transplant Bull* 1963; 1: 174–80.
 38. Tatarinov YS. Presence of embryo-specific α -globulin in the serum of patients with primary hepatocellular carcinoma. *Vopi Med Khim* 1964; 10: 90–1.
 39. Stanislawski-Birenewajg M, Frayssinet C, Grabar P. Embryonic antigens in liver tumors in rats. *Arch Immun Ther Exp* 1966; 14: 730–5.
 40. Belanger I, Roy S, Allard D. New albumin gene 3' adjacent to the alpha 1-fetoprotein locus. *J Biol Chem* 1994; 269: 5481–4.
 41. Smith CJP, Kelleher PC. Alpha-fetoprotein molecular heterogeneity: physiologic correlations with normal growth, carcinogenesis, and tumor growth. *Biochim Biophys Acta* 1980; 605: 1–31.
 42. Taketa K, Endo Y, Sekiya C, Tanikawa K, Koji T, Taga H, et al. A collaborative study for the elevation of lectin-reactive alpha-fetoproteins in early detection of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1993; 53: 5419–23.
 43. Sato Y, Nakata K, Kato Y, Shima M, Ishii N, Koji T, et al. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein. *N Engl J Med* 1993; 328: 1802–6.
 44. Taketa K, Sekiya C, Namiki M, Akamatsu K, Ohta Y, Endo Y, et al. Lectin-reactive profiles of alpha-fetoprotein characterizing hepatocellular carcinoma and related conditions. *Gastroenterology* 1990; 99: 508–18.
 45. Wang SS, Lu RH, Lee FY, Chao Y, Huang YS, Chen CC, et al. Utility of lentil lectin affinity of α -fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1996; 25: 166–71.
 46. Kumada T, Nakano S, Takeda I, Kriryama S, Sone Y, Hayashi K, et al. Clinical utility of lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in small hepatocellular carcinoma: special reference to imaging diagnosis. *J Hepatol* 1999; 30: 125–30.

47. Oka H, Saito A, Ito K, Kumada T, Satomura S, Kasugai H, et al. Multicenter prospective analysis of newly diagnosed hepatocellular carcinoma with respect to the percentage of Lens culinaris agglutinin-reactive α -fetoprotein. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 1378–83.
48. Song BC, Suh DJ, Yang SH, Lee HC, Chung ZH, Sung KB, et al. Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein as a prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma undergoing transcatheter arterial chemoembolization. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 398–402.
49. Sato Y, Nakata K, Kato Y, Shima M, Ishii N, Koji T, et al. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein. *N Engl J Med* 1993; 328: 1802–6.
50. Christiansen M, Hogdall CK, Andersen JR, Norgaard-Pedersen B. Alpha-fetoprotein in plasma and serum of healthy adults: preanalytical, analytical and biological sources of variation and construction of age-dependent reference intervals. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; 61: 205–15.
51. Masseyeff R, Bonet C, Drouet J, Sudaka P, Lalanne C. Radioimmunoassay of α -fetoprotein: I. Technique and serum level in normal adult. *Digestion* 1974; 10: 17–28.
52. Masopust J, Kithier K, Radl J, Koutecky J, Kotal L. Occurrence of fetoprotein in patients with neoplasms and neoplastic diseases. *Int J Cancer* 1968; 3: 364–373.
53. Johnson PJ. Tumor markers in primary malignancies of the liver. *Charter* 22; p270–1.
54. 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. *J Hepatol* 2001; 35: 421–30.
55. Ryder SD. Guidelines for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) in adults. *Gut* 2003; 52 (S11): iii1–iii8.
56. European Group on Tumour Markers (EGTM): Consensus recommendations. *Anticancer Res* 1999; 19: 2785–820.
57. Taketa K. Alpha-fetoprotein. *J Med Tech* 1989; 33: 1380–4.
58. Larcos G, Sorokopud H, Berry G, Farrell GC. Sonographic screening for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis or cirrhosis: An evaluation. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 171: 433–5.
59. Sarasin FP, Giostra E, Hadengue A. Cost-effectiveness of screening for detection of small hepatocellular carcinoma in Western patients with Child-Pugh class A cirrhosis. *Am J Med* 1996; 101: 422–34.
60. Kondo F, Wada K, Nagato Y, Nakajima T, Kondo Y, Hirooka N, et al. Biopsy diagnosis of well-differentiated hepatocellular carcinoma based on new morphologic criteria. *Hepatology* 1989; 9: 751–5.
61. Yoshino M. Growth kinetics of hepatocellular carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 1983; 13: 45–52.
62. Barbara L, Benzi G, Gaiani S, Fusconi F, Zironi G, Siringo S, et al. Natural history of small untreated hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a multivariate analysis of prognostic factors of tumor growth rate and patient survival. *Hepatology* 1992; 16: 132–7.
63. Okuda K. Early recognition of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1986; 6: 729–38.
64. Gupta S, Bent ST, Kohlwes J. Test characteristics of α -fetoprotein for detecting hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C. *Ann Int Med* 2003; 139: 46–50.
65. Trevisani F, D'Intino PE, Morselli-Labate AM, Mazzella G, Accogli E, Carceni P, et al. Serum alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: influence of HBsAg and anti-HCV status. *J Hepatol* 2001; 34: 570–5.
66. Tong MJ, Blatt LM, Kao VW. Surveillance for hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis in the United States of America. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 553–9.
67. Cedrone A, Covino M, Caturelli E, Pompili M, Lorenzelli G, Villani MR, et al. Utility of a-fetoprotein (AFP) in the screening of patients with virus-related chronic liver disease -does different viral etiology influence AFP levels in HCC? A study in 350 Western patients. *Hepato-Gastroenterol* 2000; 47: 1654–8.
68. Nguyen MH, Garcia RT, Simpson PW, Wright TL, Keeffe EB. Racial differences in effectiveness of alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus cirrhosis. *Hepatology* 2002; 36: 410–7.
69. Peng YC, Chan CS, Chen GH. The effectiveness of serum α -fetoprotein level in anti-HCV-positive patients for screening hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 3208–11.
70. Sherman M, Peltekian KM, Lee C. Screening for hepatocellular carcinoma in chronic carriers of hepatitis B virus: Incidence and prevalence of hepatocellular carcinoma in a North American urban population. *Hepatology* 1995; 22: 432–8.
71. Pateron D, Ganne N, Trinchet JC, Arousseau MH, Mal F, Meicler C, et al. Prospective study of screening for hepatocellular carcinoma in Caucasian patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1994; 20: 65–71.
72. McMahon BJ, Alberts SR, Wainwright RB, Bulkow L, Lanier AP. Hepatitis B-related sequelae. Prospective study of 1400 hepatitis B surface antigen-positive Alaska native carriers. *Arch Intern Med* 1990; 150: 1051–4.
73. McMahon BJ, Bulkow L, Harpster A, Snowball M, Lanier A, Sacco F, et al. Screening for hepatocellular carcinoma in Alaska natives infected with chronic hepatitis B: A 16-year population-based study. *Hepatology* 2000; 32: 842–6.
74. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, Lin DY, Sheen IS, Chen TJ, et al. Early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Gastroenterology* 1986; 90: 263–7.

75. Tanaka S, Kitamura T, Nakanishi K, Okuda S, Yamazaki H, Hiyama T, et al. Effectiveness of periodic checkup by ultrasonography for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1990; 66: 2210–4.
76. Solmi L, Primrano AMM, Gandolfi L. Ultrasound follow-up of patients at risk of hepatocellular carcinoma: results of a prospective study in 360 cases. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1189–93.
77. Yuen MF, Cheng CC, Lauder IJ, Lam SK, Ooi CG, Lai CL. Early detection of hepatocellular carcinoma increases the chance of treatment: Hong Kong experience. *Hepatology* 2000; 31: 330–5.
78. Yuen MF, Lai CL. Screening for hepatocellular carcinoma: survival benefit and cost-effectiveness. *Ann Oncol* 2003; 14: 1463–7.
79. Wong LL, Limm WM, Severino R, Wong LM. Improved survival with screening for hepatocellular carcinoma. *Liver transplantation* 2000; 6: 320–5.
80. Sangiovanni A, Del Ninno E, Fasani P, de Fazio C, Ronchi G, Romeo R, et al. Increased survival of cirrhotic patients with a hepatocellular carcinoma detected during surveillance. *Gastroenterology* 2004; 126: 1005–14.
81. Ngueyen MH, Keeffe EB. Screening for hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35 S2:S86 S91.
82. Lin OS, Keefe EB, Sanders GD, Owens DK. Cost-effectiveness of screening for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis due to chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19:159 72.
83. Oka H, Tamori A, Kuroki T, Kobayashi K, Yamamoto S. Prospective study of alpha-fetoprotein in cirrhotic patients monitored for development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1994; 19: 61–6.
84. Colombo M. Screening for cancer in viral hepatitis. *Clin Liver Dis* 2001; 5: 109–22.
85. Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997; 112:463 72.
86. Bonis PA, Tong MJ, Blatt LM, Conrad A, Griffith JL. A predictive model for the development of hepatocellular carcinoma, liver failure, or liver transplantation for patients presenting to clinic with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1605–12.
87. Velazquez RF, Rodriguez M, Navascues CA, Linares A, Perez R, Sotorrios NG, et al. Prospective analysis of risk factors for hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis. *Hepatology* 2003; 37: 520–7.
88. Giovannini M, Elias D, Monges G; Raoul JL, Rougier P. Hepatocellular carcinoma. *BR J Cancer* 2001; 84 (S2): 74–7.
89. Nomura F, Ohnishi K, Tanabe Y. Clinical features and prognosis of hepatocellular carcinoma with reference to serum alpha-fetoprotein levels. *Cancer* 1989; 64: 1700–7.
90. Johnson PJ, Melia WM, Palerm MK, Protman B, Williams R. Relationship between serum alpha-fetoprotein, cirrhosis, and survival in hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 1981; 44: 502–5.
91. Tangkijvanich P, Anukulkarnkusol N, Suwangool P, Lermaharit S, Hanvivatvong O, Kullavanijaya P, et al. Clinical characteristics and prognosis of hepatocellular carcinoma: analysis based on serum alpha-fetoprotein levels. *J Clin Gastroenterol* 2000; 31: 302–8.
92. Andorno E, Salizzoni M, Schieron R, De Hemptinne B. Role of serum alpha-fetoprotein in per- and post-orthotopic liver transplantation (OLT) for malignant disease. *J Nucl Med All Sci* 1989; 33: 132–4.
93. Ebara M, Ohto M, Shinagawa T, Sugiura N, Kimura K, Matsutani S, et al. Natural history of minute hepatocellular carcinoma smaller than three centimeters complicating cirrhosis. A study in 22 patients. *Gastroenterology* 1986; 90: 289–98.
94. Matsumoto Y, Suzuki T, Asada I, Ozawa K, Tobe T, Honjo I. Clinical classification of hepatoma in Japan according to serial changes in serum alpha-fetoprotein levels. *Cancer* 1982; 49: 354–60.
95. Fuji Y, Taketa K, Aoi T, Taga H, Hirai H. Increased serum levels of monosialo-alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma and other malignancies. *Tumour Biol* 1993; 14: 319–24.
96. Johnson PJ, Williams R. Serum alpha-fetoprotein estimations and doubling time in hepatocellular carcinoma: influence of therapy and possible value in early detection. *J Natl Cancer Inst* 1980; 64: 1329–32.
97. Yamashita F; Tanaka M, Satomura S; Tanikawa K. Prognostic significance of Lens culinaris Agglutinin A-reactive α -fetoprotein in small hepatocellular carcinomas. *Gastroenterol* 1996; 111: 996–1001.
98. Urabe T, Hayashi S, Terasaki S, Terada M, Matusushita E, Kaneko S, et al. An assessment of therapeutic effect of hepatocellular carcinoma by the serial change of serum AFP value. *Nippon Shokakibyō Gakkai Zasshi* 1990; 87: 100–8.
99. McIntire KR, Vogel CL, Primack A, Waldmann TA, Kyalwazi SK. Effect of surgical and chemotherapeutic treatment on alpha-fetoprotein levels in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1976; 37: 677–83.
100. Matsumoto Y, Suzuki T, Ono H, Nakase A, Honjo I. Response of alpha-fetoprotein to chemotherapy in patients with hepatoma. *Cancer* 1974; 34: 1602–6.
101. Leung TW, Patt YZ, Lau WY, Ho SK, Yu SC, Chan AT, et al. Complete pathological remission is possible with systemic combination chemotherapy for inoperable hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1676–81.
102. Nauta RJ, Heres EK, Thomas DS, Harter KW, Rodgers JE, Holt RW, et al. Intra-operative single-dose radiotherapy. Observations on staging and interstitial treatment of unresectable liver metastases. *Arch Surg* 1987; 122: 1392–5.
103. Fiala S, Fiala AE, Dixon B. γ -glutamyl transpeptidase in transplantable chemically induced rat hepatomas and »spontaneous« mouse hepatomas. *J Natl Cancer Inst* 1972; 48: 1393–401.
104. Szuki H, Iino S, Endo Y, et al. Tumor-specific alkaline phosphatase in hematoma. *Ann NY Acad Sci* 1975; 259: 307–16.

105. Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo KJ, Lee SD, et al. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1984; 310: 1427–31.
106. Mita Y, Aoyagi Y, Yanagi M, Suda T, Suziki Y, Asakura H. The usefulness of determining des-gamma-carboxy prothrombin by sensitive enzyme immunoassay in the early diagnosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 1643–8.
107. Okuda H, Nakanishi T, Takatsu K, Saito A, Hayashi N, Watanabe K, et al. Measurement of serum levels of des- γ -carboxy prothrombin in patients with hepatocellular carcinoma by a revised enzyme immunoassay kit with increased sensitivity. *Cancer* 1999; 85: 812–8.
108. Tanaka Y, Kashiwagi T, Tsutsumi H, Nagasawa M, Toyama T, Ozaki S, et al. Sensitive measurement of serum abnormal prothrombin (PIVKA-II) as a marker of hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 2462–8.
109. Okuda H, Nakanishi T, Takatsu K, Saito A, Hayashi N, Takasaki K, et al. Serum levels of des-gamma-carboxy prothrombin measured using the revised enzyme immunoassay kit with increased sensitivity in relation to clinico-pathologic features of solitary hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2000; 88: 544–9.
110. Marrero JA, Su GL, Wei W, Emick D, Conjeevaram HS, Fontana RJ, et al. Des-gamma-carboxyprothrombin can differentiate hepatocellular carcinoma from non-malignant chronic liver disease in American patients. *Hepatology* 2003; 37: 1114–21.
111. Koike Y, Shiratori Y, Sato S, Obi S, Teratani T, Imamura M, et al. Des- γ -carboxy prothrombin as a useful predisposing factor for the development of portal venous invasion in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2001; 91: 561–9.
112. Imamura H, Matsuyama Y, Miyagawa Y, Ishida K, Shimada R, Miyagawa S, et al. Prognostic significance of anatomical resection and des- γ -carboxy prothrombin in patients with hepatocellular carcinoma. *Br J Surgery* 1999; 86: 1032–8.
113. Hamamura K, Shiratori Y, Shiina S, Imamura M, Obi S, Sato S, et al. Unique clinical characteristics of patients with hepatocellular carcinoma who present with high plasma des- γ -carboxy prothrombin and low serum α -fetoprotein. *Cancer* 2000; 88: 1557–64.
114. Fujiyama S, Tanaka M, Maeda S, Ashihara H, Hirata R, Tomita K. Tumor markers in early diagnosis, follow-up and management of patients with hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2002; 62S1: 57–63.
115. Capurro M, Wanless IR, Sherman M, Deboer G, Shi W, Miyoshi E, et al. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2003; 125: 89–97.
116. Sung YK, Hwang SY, Park MK, Farooq M, Han IS, Bae HI, et al. Glypican-3 is overexpressed in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2003; 94: 259–62.
117. Hippo Y, Watanabe K, Watanabe A, Mikorikawa Y, Yamamoto S, Ihara S, et al. Identification of soluble NH₂-terminal fragment of glypican-3 as a serological marker for early-stage hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2004; 64: 2418–23.
118. Chio LF, Don CJ. Changes in serum alpha-antitrypsin, alpha acid glycoprotein and beta glycoprotein I in patients with malignant hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1979; 43: 596–604.
119. Leandro G, Zizzari S, Piccoli A, Manghisi OG. The serum tissue polypeptide antigen in the detection of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients. *Hepato-gastroenterol* 1990; 37: 469–73.
120. Hutchinson WL, Johnson PJ, Du MQ, Williams R. Serum and tissue alpha-L-fucosidase activity in the preclinical and clinical stages of hepatocellular carcinoma. *Clin Science* 1991; 81: 177–82.
121. Khan SA, Davidson BR, Goldin R, Pereira SP, Rosenberg WM, Taylor-Robinson SD, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: consensus document. *Gut* 2002; 58: 1–9.
122. Ramage JK, Donaghy A, Farrant JM, Iorns R, Williams R, et al. Serum tumor markers for the diagnosis of cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 1995; 108: 865–9.
123. Matsumura M, Shiratori Y, Niwa Y, Tanaka T, Ogura K, Okudaira T, et al. Presence of α -fetoprotein mRNA in blood correlates with outcome in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1999; 31: 332–9.
124. Ijichi M, Takayama T, Matsumura M, Shiratori Y, Omata M, Makuuchi M. α -Fetoprotein mRNA in the circulation as a predictor of post-surgical recurrence of hepatocellular carcinoma: a prospective study. *Hepatology* 2002; 35: 853–60.
125. Poon TCW, Yip TT, Chan ATC, Yip C, Yip V, Mok TSK, et al. Comprehensive proteomic profiling identifies serum proteomic signatures for detection of hepatocellular carcinoma and its subtypes. *Clin Chem* 2003; 49: 752–60.
126. Paradis V, Dego F, Dargère D, Pham N, Belghiti J, Degott C, et al. Identification of a new marker of hepatocellular carcinoma by serum protein profiling of patients with chronic liver diseases. *Hepatology* 2005; 41: 40–7.
127. Lo YMD, Chui R, Johnson PJ. Circulating nucleic acids in plasma or serum II. *Ann NY Acad Sci* 2001; 945.
128. Wong IHN, Lo YMD, Zhang J, Liew CT, Ng MHL, Wong N, et al. Detection of aberrant p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. *Cancer Res* 1999; 59: 71–3.
129. Smith MW, Yue ZN, Geiss GK, Sadovnikova NY, Carter VS, Boix L, et al. Identification of novel tumor markers in hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 859–64.
130. Lamerz R, Hayes P, Hoffmann R-T, Löhe F, Shiratori Y, Taketa K. National Academy of Clinical Biochemistry Guidelines for the use of tumor markers in primary liver cancer. NACB: Practice guidelines and recommendations for use of tumor markers in the clinic liver cancer (Section 3D).

Rad primljen: 15. 02. 2008.

Prihvaćen za štampu: 04. 03. 2008.