

REVISIÓN

Marcadores tumorales séricos en carcinoma hepatocelular

Soria, Analía Graciela^{1*}

^{1*}Cátedra de Patología Molecular, Instituto de Bioquímica Aplicada, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

Contacto: Soria, Analía Graciela; draanaliasoria@arnet.com.ar

Resumen

El cáncer de hígado es uno de los tumores malignos más frecuentes en el mundo y su incidencia varía considerablemente según las regiones geográficas estudiadas, debido a los factores etiológicos involucrados. El virus de las hepatitis B y C y el estado cirrótico de los pacientes son los responsables de la gran mayoría del cáncer de hígado. El conocimiento de los mecanismos moleculares y el reconocimiento de que la acumulación gradual de defectos genéticos durante el desarrollo tumoral puede contribuir con la forma de prevenir, diagnosticar y tratar el cáncer conlleva a intensificar el estudio de estos. En este trabajo se realiza una revisión de la literatura acerca de los marcadores tumorales como la alfafetoproteína y otros marcadores tumorales como la fracción de alfafetoproteína que se une a la lectina (L3-AFP) y Desgamma carboxiprotrombina. Dado que en el Hepatocarcinoma están involucrados distintos agentes etiológicos se deben investigar combinaciones de marcadores tumorales que pueden proveer información más exacta para el diagnóstico y pronóstico de estos pacientes.

Palabras clave: carcinoma hepatocelular, biomarcadores, alfafetoproteína, diagnóstico, pronóstico.

Abstract

Liver cancer is one of the most common and deadly malignant neoplasms worldwide. There are differences and variations with the incidence of Hepatocellular Carcinoma worldwide. Important risk factors for Hepatocellular Carcinoma development include liver cirrhosis, hepatitis B virus and hepatitis C virus infection, excessive alcohol consumption, ingestion of aflatoxin B1, and nonalcoholic steatohepatitis. Advances in genetics and molecular biology have improved our knowledge of accumulation of genetic defects during tumor development. Therefore, early detection and adequate therapy are crucial to increase survival and improve the life quality of Hepatocellular Carcinoma patients. In this review, an overview of the potential of serum-associated Hepatocellular Carcinoma biomarkers for diagnosis and prognosis is presented. To this end, we reviewed the literature on tumor markers such as alpha-fetoprotein and the alpha-fetoprotein fraction that binds to lectin [L3-AFP] and Carboxyprothrombin Degamma. New markers were investigated for their diagnostic accuracy and potential for Hepatocellular Carcinoma detection. However, the clinical usefulness of these biomarkers, applied either individually or combined, in the early detection of Hepatocellular Carcinoma, as well as their usefulness in therapeutic decision-making and prognosis need to be carefully evaluated and validated.

Key words: hepatocellular carcinoma, biomarkers, alpha-fetoprotein, diagnostic, prognosis.

Introducción

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo. El cáncer de hígado puede originarse a expensas de las células hepáticas, que son el componente del parénquima hepático y que representan el 60 % del volumen total del órgano, o en los conductillos biliares intrahepáticos. Se denomina hepatocarcinoma (HC) en el primer caso y colangiocarcinoma (CC) en el segundo. En ocasiones pueden ser hepatocolangiocarcinomas. Los carcinomas primarios son de menor frecuencia que los carcinomas secundarios o metastásicos y difieren obviamente desde el punto de vista histológico, pues los últimos tienen la identidad y la estructura del órgano del que proceden.

El HC es más frecuente (90 %) que el CC. El HC del adulto se ha descrito asociado a la cirrosis en la mitad de los casos de autopsias. Tiene por característica el invadir las gruesas venas, formando trombos tumorales. La trombosis neoplásica de las venas suprahepáticas condiciona la ascitis hemorrágica y el síndrome de Budd-Chiari [1]. El diagnóstico generalmente se realiza cuando el tumor adquiere bastante tamaño. El examen clínico, la ecografía, la tomografía axial computarizada y/o la resonancia magnética, son elementos de diagnóstico útiles en el cáncer de hígado. La laparoscopia con biopsia hace el diagnóstico preciso. El HC es potencialmente curable con resección quirúrgica, pero es sólo posible para una fracción muy pequeña de pacientes, con enfermedad localizada. El HC se debe distinguir del CC, así como también del cáncer metastásico que se origina en otros órganos (mamas, pulmones, ovarios, riñón, etc.) y se disemina por el sistema porta del hígado. La metástasis puede ser advertida precozmente, simultánea al tumor primario o tardíamente, a veces hasta 10 a 15 años después de la resección del tumor primario. El cáncer secundario se manifiesta clínicamente por hepatomegalia, nodulaciones, síndrome febril prolongado. Puede haber colestasis por compresión o por infiltración de vías biliares principales. En cualquier momento la evolución se acelera por trombosis portal o suprahepática, con gran hepatomegalia, ascitis, ictericia, derrame pleural, fiebre, coma y muerte [2].

El HC es el quinto cáncer más común en el mundo en el hombre y el noveno en la mujer, pero como es de mal pronóstico es la segunda causa de muerte en ambos sexos [3], la relación hombre - mujer es aproximadamente 4:1.

Uno de los factores de riesgo para desarrollar un HC es la cirrosis hepática por lo que esta lesión constituye el factor de riesgo fundamental independientemente de su etiología. Un 20 % de los pacientes cirróticos desarrollan un HC a los 5 años de seguimiento. Los nódulos de regeneración per se, pueden considerarse lesiones pre-neoplásicas. Las infecciones por el Virus de la Hepatitis B (VHB), y el de la Hepatitis C (VHC), incrementan el riesgo de HC 20 veces. Como el VHB es más prevalente, la distribución de la infección en el mundo explica la distribución del HC. La excepción es Japón donde la infección crónica por VHB es baja, pero el HC está relacionado a la infección por el VHC. Más del 75 % de los casos de HC

en el mundo y el 85 % de los HC en países en desarrollo son causados por estos virus. La exposición a aflatoxinas es probablemente un importante factor de riesgo para HC en áreas tropicales del mundo donde la contaminación de granos con el hongo *Aspergillus fumigatus* es común. Un efecto multiplicador entre exposición a aflatoxinas e infección crónica por VHB sugerirían diferentes mecanismos carcinógenos [4]. La ingesta de alcohol y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) fueron asociadas al riesgo de tener HC [5].

El objetivo de la presente revisión bibliográfica fue determinar el estado del conocimiento actual acerca de los principales marcadores tumorales con aplicación clínica en HC, en base a las publicaciones científicas aparecidas en revistas indexadas.

Materiales y métodos

Se utilizaron distintas bases de datos en línea: PubMed, MedicLatina, SciELO. Los términos de búsqueda fueron "Hepatocarcinoma", "Biomarcadores", "Alfafetoproteína", "L3-AFP", "Desgamma carboxiprotrombina" combinados con "Diagnóstico", "Pronóstico", y "Vigilancia". Para cumplir el objetivo se inició esta revisión con una breve definición de marcadores tumorales y, una extensa revisión de la alfafetoproteína: estructura y función, aplicación clínica, otros marcadores tumorales que son investigados, pero que tienen menor aplicación clínica en la práctica como la fracción L3 de la AFP y las proteínas inducidas por la ausencia de vitamina K o antagonistas II (PIVKA) o su otra denominación Desgamma carboxiprotrombina (DCP).

Marcadores tumorales

Definición

Conjunto de moléculas de características divergentes pero que comparten su asociación con las neoplasias, lo que facilita su aplicación en la detección clínica (diagnóstico y screening) y en el manejo (pronóstico y monitoreo) de los pacientes con cáncer. Son proteínas, glicoproteínas, gangliósidos (con o sin actividad biológica definida), enzimas, hormonas, metabolitos producidas por el tumor o el órgano del huésped que señala la presencia o desarrollo de un tumor maligno [6].

Alfafetoproteína

Estructura y función

La alfa-fetoproteína (AFP) fue descubierta en 1963 por Abelev en el HC. Se trata de una glicoproteína con una vida media plasmática de 5 a 7 días, sintetizada en el saco vitelino, en el hígado fetal y tracto gastrointestinal, a partir de la décima semana de gestación. Es el componente más importante del plasma fetal, alcanzando picos de concentración de 3 mg/mL a las 12 semanas de gestación. Tras el nacimiento disminuye progresivamente hasta alcanzar concentraciones muy bajas en el segundo mes de vida, y se mantiene así en la vida adulta, durante la que se consideran normales valores inferiores a 10 mg/mL [7,8].

La AFP es un miembro de la familia del gen albuminoide el cual tiene cuatro miembros: albúmina, proteína de unión a la vitamina D, AFP, y alfa albúmina. Todos los miembros son capaces de funcionar como transportador de ligandos, pero además tienen otras funciones, como quimiotaxis, actividad esterasa, adherencia leucocitaria, peroxidación lipídica estimulada por cobre, unión a ácidos grasos, metales pesados, actinas entre otros. Altas concentraciones de algunos ligandos hidrofóbicos podrían inducir cambios en la estructura terciaria de la AFP [9].

Aunque la AFP podría no ser la causa directa de la alteración del crecimiento observada en defectos congénitos y en pacientes con cáncer, es posible que algunas variantes conformacionales sean inducidas por stress/shock y de esta manera podrían contribuir con tales eventos. Algunos trabajos comunican que las formas de AFP podrían servir como un regulador de crecimiento capaz de aumentarlo o inhibirlo [10]. Las formas de AFP humana del adulto podrían derivar de múltiples transcritos de ARN (por ejemplo, de 2,2; 1,7; 1,6 kb) pero la forma humana detectada en los ensayos es la de un polipéptido de 69000 a 70000 kD (2,2 kb). Es probable que las otras formas de transcritos de mRNA se encuentren en tejido y suero, pero no sean detectables por los ensayos inmunológicos disponibles en la práctica clínica.

Se describieron cuatro receptores de la superficie celular que podrían unir varias formas de AFP de componente epitelial y endotelial. En el endotelio vascular y algunos tejidos como corazón, pulmón, epidídimo, los receptores son de 18, 31 y 60 kD. Los receptores de 18 y 31 kD depuran albúminas y AFP desnaturalizadas o modificadas químicamente mientras que la forma de 60 kD es una sialoglicoproteína de la superficie de la célula endotelial que se encuentra en endotelios continuos (no sinusoidal) [11].

La AFP tiene tres dominios: en el dominio I se pueden identificar distintos segmentos, uno similar a la cadena alfa de la insulina (ILS) que estaría involucrado en la captación de glucosa por los eritrocitos humanos. EGFL corresponde a un segmento similar al factor de crecimiento epidermal. HMS-1, HMS-2 corresponderían a sitios de unión de metales pesados. NAI son sitios identificados como no albúmina. PRS corresponde a secuencias ricas en prolina. BBS-1, BBS-2 son sitios de unión a la bilirrubina. LRE, LDV, RGD corresponde a secuencias de adhesión celular. FBS es el sitio de unión a ácidos grasos. ZBS es el sitio propuesto de unión al Zn. En el Dominio II: SRGD es el sitio inverso al RGD. L-B1 segmento laminina B. KLS segmento similar a la kinesina. L-A segmento laminina A. ABS sitio propuesto para la unión a actina. Dominio III: MPS corresponde al segmento de la caseína de la leche. EBS sitio de unión a estrógeno. GIP corresponde al péptido inhibidor del crecimiento. RBS es el sitio propuesto para la unión al receptor de AFP. HCS segmento de histocompatibilidad clase II, la secuencia de aminoácido del 542 a 550 del dominio III se une con baja afinidad a células T dendríticas CD8 marcadas con HLA-A2.1 y muestra una cinética de disociación lenta. PAS segmento

activador del plasminógeno. ARP péptido relacionado a la apoptosis. El dominio II (aminoácidos 190-394) de la AFP tiene una secuencia peptídica corta, común a las proteínas de la matriz extracelular (MEC) conocidas como moléculas de adhesión celular. Este dominio diferencia la AFP del resto de los miembros de esta familia que no incluyen esta secuencia peptídica corta, similar a la familia de las proteínas de la MEC (laminina, fibronectina, colágeno, vitronectina, etc.). Estas macromoléculas tienen una utilidad potencial en el desarrollo de las enfermedades, pudiendo estar involucrada en el crecimiento, diferenciación, migración celular y metástasis tumoral. La AFP comparte con una amplia variedad de moléculas de adhesión secuencias similares, sugiriendo que la AFP podría compartir propiedades funcionales con estas moléculas. Esta proteína fetal tendría actividades regulatorias del crecimiento ya que en su estructura primaria tiene un conjunto de sitios peptídicos de adhesión [12]. La AFP ontogénicamente precede a la albúmina en la síntesis y formación y tendría importancia en el crecimiento y diferenciación celular [13]. Diferentes isoformas podrían ser demostradas por técnicas electroforesis, cromatografía o isoeléctricas en combinación con métodos que emplean lectina. Las cadenas de azúcares no son codificadas genéticamente, dependen del set de enzimas de glicosilación presentes en el retículo endoplásmico y el complejo de Golgi de las células del huésped. Estas enzimas tienen diferentes distribuciones en los distintos tejidos y las variantes de la AFP se deben a las vías enzimáticas involucradas. Consecuentemente la AFP del saco vitelino, difiere de la AFP de origen hepático. La AFP del líquido amniótico es una mezcla de estos dos tipos en diferentes relaciones dependiendo de la edad gestacional [8]. Las disimilitudes encontradas en los distintos tipos tumorales sugieren diferencias cuantitativa y cualitativa en la glicosidación enzimática.

La heterogeneidad de los carbohidratos de la AFP ha incentivado el uso de técnicas de separación por afinidad a lectinas para el diagnóstico de defectos del feto y para diferenciar entre diferentes tipos de tumores. En 1979 se demostró que las isoformas de la AFP del fluido amniótico contienen una mezcla de las variantes que se unen a la Con-A (origen saco vitelino) y de las que no se unen a Con-A (origen hepático). La variante que no une Con-A se encuentra disminuida en embarazos con fetos con defectos del tubo neural, y puede ser separada y cuantificada por cromatografía en columna [14]. En 1981 queda claro que la heterogeneidad de los azúcares unidos a la AFP podría ser considerada como una herramienta útil en el diagnóstico diferencial del cáncer. Los tumores de saco vitelino y los cánceres gastrointestinal pueden ser diferenciados de los hepatomas basándose en la reactividad con la aglutinina *Lens culinaris* (LCA) y de las patologías hepáticas benignas las cuales no son reactivas con LCA [15].

La AFP es un antígeno con múltiples sitios de determinantes antigénicos, los cuales sirven para inducir la formación de anticuerpos. La AFP posee al menos seis epitopes

Tabla I. Valores de Referencias de Alfetoproteína según edad y género.

Edad	Masculino (ng/ml)	Femenino no embarazada (ng/ml)
0-1 mes	0,6-16387	0,6-18964
1-12 meses	0,6-28,3	0,6-77,0
1-3 años	0,6-7,9	0,6-11,1
4-6 años	0,6-5,6	0,6-4,2
7-12 años	0,6-3,7	0,6-5,6
13-18 años	0,6-3,9	0,6-4,2

mayores y posiblemente 12 epitopes menores con un total de 18 sitios antigénicos.

Los estudios realizados han demostrado que la conformación de la AFP es modificada por cambios en el microambiente como por ejemplo aumento de las concentraciones de ligandos hidrofóbicos tales como estrógeno esteroidal y ácidos grasos [16]. Los desórdenes congénitos involucran concentraciones alteradas de AFP que podrían estar asociadas con una proteína defectuosa en el ensamblaje o en el plegamiento o con variantes conformacionales.

El síndrome de Down se caracteriza por niveles bajos de AFP en el fluido amniótico y la sangre materna, lo cual podría ser indicativo de síntesis hepática baja de AFP o alteraciones conformacionales de la proteína secretada que elude la detección serológica. Los datos analizados de embarazos con fetos con síndrome de Down sugerirían que alteraciones conformacionales de AFP resultarían de un procesamiento defectuoso por el riñón fetal y del pasaje alterado a través de la membrana o de la placenta a la circulación materna [17].

La AFP podría regular el crecimiento celular por aumento o inhibición de la apoptosis en cultivo de células tumorales, mientras que en los casos de inhibición de crecimiento inducido por AFP involucraría señales de transducción, los eventos podrían ser relacionados a efectos más citostáticos que citotóxicos [18]. Con respecto a la apoptosis ha sido publicado que células de hepatomas de una línea de cultivo celular HepG2 sin AFP que pudiera unirse a la superficie celular, es susceptible a la citotoxicidad inducida por el factor de necrosis tumoral (TNF). Estas células en presencia de AFP son resistentes a la citotoxicidad por TNF [19]. Estudios posteriores han comunicado que la AFP podría inducir apoptosis en varias líneas de cultivo celular (hepatomas y linfoblastomas) en unas pocas horas y ocurre con dosis fisiológicas de AFP, pero no a bajas dosis [20]. La apoptosis inducida por AFP sucede en forma independiente del receptor TNF. En células tumorales Raji la apoptosis ocurre

por activación de caspasa 3 sin comprometer la vía FAS y señales dependientes del receptor TNF. El efecto citotóxico de AFP está relacionado a apoptosis y es independiente de la regulación negativa de Bcl-2, Bcl-L y de la cascada de señales dependientes del receptor TNF [21]. La AFP en dosis alta in vitro muestra inhibición del crecimiento sobre una variedad de líneas de células tumorales, pero no en bajas dosis. Llamativamente todas las dosis de AFP estimulan el crecimiento de fibroblastos epidermal del embrión. Estos datos demuestran que la AFP podría inducir actividad de crecimiento estimulador o inhibitorio, dependiendo de la concentración relativa de AFP y de las citoquinas endógenas o exógenas, de las hormonas, y de los factores de crecimiento en el medio de cultivo. Otro mecanismo que la AFP podría emplear para regular el crecimiento involucraría la interacción proteína a proteína en el curso de las señales de cascadas citoplasmáticas. Como la AFP no se localiza en el compartimento nuclear de las células, es poco probable que pueda afectar el proceso de transcripción nuclear. La AFP se localiza en la matriz extracelular, en la superficie celular, en las endosomas, en el receptor de estrógeno y en el espacio perinuclear [22].

Aplicación clínica de la AFP

La AFP puede encontrarse elevada en HC y en otras enfermedades tumorales (hepatoblastomas, tumores de células germinales y algunos tumores gastrointestinales), en enfermedades hepáticas benignas y en procesos de regeneración hepática (hepatitis virales o hepatitis inducidas por drogas y cirrosis). Se encuentra elevada en ataxia-telangiectasia y en tirosinosis hereditaria [23-25]. Es raro encontrar niveles elevados de AFP en personas sanas. A pesar de esto, se trata del marcador tumoral de mayor utilidad para el diagnóstico, el control de la evolución clínica, el diagnóstico temprano de las recidivas y la monitorización del tratamiento del HC. Soresi y col. analizan la utilidad de la AFP en el diagnóstico del HC y tratan de establecer el mejor valor de corte que permita diferenciar la cirrosis hepática (Ci H). La etiología de Ci H y HC fue VHC, VHB, VHB/VHC, y no virales. El mejor valor que discrimina estas patologías fue de 30 ng/mL. Con este valor la sensibilidad (S) fue del 65 % y la especificidad (E) 79 %. Utilizando este valor de corte y dividiendo los pacientes según la etiología viral o no viral el valor predictivo positivo (VPP) fue del 70 % vs. 94 %, respectivamente. En enfermedades no virales el VPP fue del 100 % para niveles de AFP de 100 ng/mL, mientras que para etiologías virales fue del 100 % cuando la AFP es mayor de 400 ng/mL. Los autores consideran que el mejor valor de corte para AFP sérica fue de 30 ng/mL pero con este valor la S es baja, detectándose con mayor S HC de etiología no viral, confirmando que la utilidad de AFP para CH de etiología viral es limitada [26]. Estos resultados son coincidentes con otros autores [27,28]. Ahn y col sugieren que para pacientes con HC en Korea el valor de corte de 100 ng/mL tiene mayor S

con similar E y VPP que 200 ng/mL [29]. Los pacientes con hepatitis crónica C sin HC tienen valores de AFP elevada en el 23 % si se considera un valor de corte de 10 ng/mL [30]. En pacientes con cirrosis cuya etiología fue VHC se sugiere un valor de corte de 200 ng/mL con lo que la E para HC fue del 100 % [31]. En pacientes con hepatitis crónica por el VHB o VHC tienen falsas elevaciones de AFP (mayores a 100 ng/mL) y si a pesar de los tratamientos antivirales la elevación persiste más de 12 meses podría ser un marcador importante del desarrollo del HC. El valor de corte utilizado es de suma importancia y dependerá fundamentalmente de la incidencia del HC y la etiología de este. Así, en pacientes con lesiones unifocales de HC que reciben hepatectomía, los valores de AFP superiores a 200 ng/mL fue asociado con la expresión de mARN y correlaciona con los factores clínico-patológicos más importantes. En pacientes jóvenes (menor o igual a 55 años) el HBsAg, la mutación de p53, el tamaño tumoral, la invasión vascular, y la recurrencia temprana fueron significativamente asociada con niveles elevados de AFP, mientras que anti-VHC y mutación de beta-catenina en HC tiene menos frecuentemente elevados los niveles de AFP. También se demostró que los pacientes que tienen elevados los niveles de AFP sérica tienen menos de 10 años de supervivencia fundamentalmente en tumores de mayor tamaño tumoral. En este trabajo, comunican como factores pronósticos desfavorables los niveles elevados de AFP, positividad del HBsAg, mutación del p53, cirrosis hepática, tumores grandes, invasión vascular y recurrencia temprana. Los autores concluyen que el aumento de AFP sérica más que un epifenómeno en coincidencia con el HC contribuiría en la invasión vascular y la progresión del HC y, ayudaría a identificar subpoblaciones de pacientes con HC con riesgo aumentado de recurrir en forma temprana y con pobre pronóstico después de la hepatectomía [32]. Esta correlación con el tamaño es lo que hace que la determinación de los valores serológicos de AFP no sea un método de tamizaje eficaz del HC en la población general, puesto que su sensibilidad oscila entre el 50 % y el 70 %. Solo es útil para el diagnóstico temprano en zonas endémicas aplicado a grupos seleccionados y en la evaluación de masas hepáticas en pacientes con riesgo particular de desarrollar un HC. En estos grupos de riesgo, su sensibilidad es superior al 70 % y su especificidad alcanza el 100 %, y como se mencionó, anteriormente, la sensibilidad es mayor en el diagnóstico temprano cuando el HC tiene un origen no viral. En pacientes seropositivos para AFP se demostró que los niveles se asocian con tamaños tumorales mayores, invasión vascular y tumores pobremente diferenciados. Sin embargo, los médicos deben ser conscientes de que ni un resultado positivo o negativo de la AFP sérica sería conclusivo para el diagnóstico final de HC [33]. Los valores pretratamiento de AFP también tienen un valor pronóstico para los pacientes con CH. Así, los rangos de supervivencia en pacientes con valores normales de AFP y moderadamente elevados (21,8 - 327 ng/mL) son significativamente superiores que en pacientes con valores

marcadamente elevados (> 436 µg/l). Hsu y col. demuestran que la AFP tiene capacidad predictiva independiente en pacientes con HC. Los niveles de AFP de 20 y 400 ng/mL se consideran puntos de corte factibles para predecir la supervivencia de pacientes con HC en Taiwan [34]. En pacientes con HC con resección hepática, la determinación de AFP se considera un indicador del grado de resección del tumor. Así, una disminución de los valores de AFP menor de la esperada o valores estables, después de una semana de la resección, se asocian a resecciones incompletas y a un peor pronóstico. El cambio en los niveles de AFP 2 a 4 semanas después de iniciar la quimioterapia basada en oxaliplatino es útil para predecir la respuesta al tratamiento y la supervivencia de los pacientes [35]. En el seguimiento, la AFP es útil para el diagnóstico temprano de las recidivas tumorales, de forma que, ante un paciente con historia de tumor productor de AFP, su elevación es suficiente para establecer el diagnóstico de recidiva. Los valores elevados de AFP también tienen una implicación en la terapéutica, puesto que se ha propuesto como uno de los criterios (junto con el CH invasivo nodular, la invasión vascular, las metástasis intrahepáticas y las rupturas capsulares) que aconsejan el tratamiento adyuvante o el trasplante hepático, debido al alto riesgo de recurrencia que presentan los pacientes con 3 o más de estos criterios. Es importante remarcar que ni las guías americanas ni las europeas para el cribado, el diagnóstico y vigilancia de HC incluyeron la cuantificación de la AFP sérica debido a la escasa sensibilidad y especificidad del método [36,37]. Se ha demostrado que el 80 % de los HC pequeños no cursan con elevación de los niveles de AFP [38]. La aplicación clínica de este marcador es como predictor de recurrencia tumoral antes del tratamiento y para monitorear el tratamiento [39]. Las técnicas comerciales disponibles para su determinación en el laboratorio clínico son ELISA, RIA, quimioluminiscencia [40,41]. Los valores de referencia se muestran en la Tabla I. Para adultos no gestantes: hasta 10 ng/ml (Factor: ng/ml = U/ml x 1,21).

Otros marcadores tumorales

L3-AFP

Se identificaron tres glicofomas diferentes de AFP que tienen distintas afinidades de unión a *Lens culinaris agglutinin* (LCA). Las fracciones L1-AFP y L2-AFP no se une o se une débilmente a la lectina respectivamente, la L3-AFP se une a LCA 19 y es considerado como un biomarcador más del HC. Sterling y col [42] realizaron un estudio prospectivo multicéntrico en donde demuestran que el diagnóstico de HC basado en la L3-AFP podría alcanzar una especificidad de casi el 92 %, aunque con una sensibilidad baja del 37 %. Otro inconveniente para AFP-L3 es que muestra poco valor diagnóstico en HC con una concentración sérica total de AFP por debajo de 20 ng/mL. En este sentido, el inmunoensayo automatizado por electroforesis altamente sensible L3-AFP utilizado por Oda y col mejora los resultados, demostrando

que este marcador es útil para la detección temprana de HC en pacientes con enfermedades benignas del hígado, incluso para aquellos con AFP sérica menores a 20 ng/mL. Además, con esta técnica la L3-AFP aumenta antes de que el HC sea detectable por diagnóstico por imágenes, por lo que el ensayo puede ayudar a identificar pacientes con enfermedades benignas con un riesgo más alto de CH [43,44]. Pacientes con valores de AFP totales entre 10 - 200 ng/mL pueden beneficiarse con la determinación de L3-AFP ya que valores mayores a 35 % tienen un 100 % de especificidad para HC. Utilizado en combinación con AFP, puede ser un marcador clínicamente útil para el diagnóstico de HC [45]. Los pacientes con valores elevados de L3-AFP tienen peor función hepática, tumores de mayor tamaño, y tumores más avanzados y con histologías de peor pronóstico que aquellos con valores negativos, y con mayor frecuencia presentan metástasis a distancia [46]. Las técnicas comerciales estandarizadas no están disponibles en la Argentina y países como Japón ensayan inmunoensayos automatizados [47,48].

Proteínas inducidas por la ausencia de vitamina K o antagonistas II (PIVKA) o Desgamma carboxiprotrombina (DCP)

Es una protrombina anormal que carece de residuos -carboxi y por lo tanto no puede convertirse en una enzima de coagulación activa. Es un marcador de baja especificidad, particularmente en la enfermedad colestásica, que produce una disminución de la vitamina K. En un estudio que incluye 120 pacientes con HC y 90 pacientes con cirrosis, se encuentra que la concentración media de DCP en pacientes con HC fue mayor que en pacientes con cirrosis. El 53,3 % y el 14,4 % de los pacientes con HC y cirrosis tienen niveles superiores a 40 mAU/mL, respectivamente. No se encontró correlación entre los niveles séricos de AFP y DCP. La combinación de estos marcadores tumorales podría incrementar la sensibilidad de la AFP sola para el diagnóstico de HC [49,50]. La expresión de DCP y AFP en forma simultánea en 168 pacientes con HC permite la clasificación de estos pacientes en cuatro grupos: un grupo seronegativo para ambos marcadores (AFP < 20 ng/mL y DCP < 40 mAU/mL). Un grupo seropositivo para AFP > 100 ng/mL y seronegativo para DCP. Un grupo seronegativo para AFP y seropositivo para DCP (> 100 mAU/mL). El último grupo corresponde a la seropositividad para AFP y DCP. Los autores no encuentran diferencias entre los grupos con respecto a la edad, marcadores virales, y la presencia de cirrosis. El grupo DCP+ y el grupo AFP/DCP+ ocurre en pacientes con más frecuencia de sexo masculino, y tienen mayor incidencia de HC de 3 cm o más comparado con el grupo AFP/DCP- y AFP-. Los pacientes del grupo AFP/DCP+ muestran mayor incidencia de HC no solitarios, con tumores mayores de 3 cm y la presencia de trombosis portal cuando se compara con los otros tres grupos, y también muestran menor sobrevida [51]. En un estudio reciente, se analizan los niveles de ambos marcadores en 90 pacientes cirróticos con nódulos hepáticos, de los cuales en 40 se confirma HC. Para un valor de corte de

60 mAU/mL para DCP se encontró una asociación con HC en análisis univariado y multivariado, no encontrándose asociación para AFP para un valor de corte de 6,5 ng/mL. Para DCP: la S fue de 60 %, E 88 %, VPP 80 % y VPN 73 %. Para AFP: la S fue de 67 %, E 68 %, VPP 63 % y VPN 72 %. Cuando se combinan ambos marcadores: la S fue de 70 %, E 94 %, VPP 91 % y VPN 79 %. Los autores concluyen que la DCP es útil para el diagnóstico de pacientes cirróticos con nódulos hepáticos y tienen alta exactitud diagnóstica cuando se lo realiza junto a la AFP [52]. Resultados similares fueron documentados en pacientes con HC cuya etiología fue mayormente por VHB en una población de China [53]. Niveles más altos de DCP se asociaron con mala evolución clínica y menor sobrevida en pacientes con HC. El DCP es un marcador complementario a la AFP identificando pacientes con HC que no secretan AFP y excluye pacientes con niveles elevados de AFP que no tienen HC (cirrosis hepática). Los autores demuestran un mejor desempeño en la vigilancia del HC, en el diagnóstico precoz, en la respuesta al tratamiento y el monitoreo de la recurrencia en la población con HC relacionada con el VHB [54,55]. Una revisión sistemática para definir la utilidad de DCP en HC que incluyó 38 estudios con 5298 pacientes con CH y 5826 controles consideran que tiene una aplicación diagnóstica moderada, pero debido a la heterogeneidad de los estudios las conclusiones deben ser confirmadas con estudios de mayor calidad [56]. No se cuenta con técnicas comerciales disponibles para la determinación de DCP y su uso es solo hasta el momento con fines de investigación con el objetivo de aumentar la sensibilidad de la AFP para el diagnóstico de HC [57,58].

Discusión

La correlación de los niveles de AFP con el tamaño tumoral del hepatocarcinoma es la causa por lo que no es un método de tamizaje eficaz en la población general.

La determinación de AFP es útil para el diagnóstico temprano de hepatocarcinoma en zonas endémicas aplicado a grupos seleccionados y en la evaluación de masas hepáticas de pacientes con riesgo particular de desarrollar un HC.

En los pacientes con HC sin tratamiento o a quienes se les realizó resección hepática los valores elevados de AFP indicarían un pronóstico desfavorable.

Tras la resección hepática, la determinación de AFP se considera un indicador del grado de resección. Una disminución de AFP menor de la esperada o valores estables después de 1 semana de la resección se asocian a peor pronóstico.

En el seguimiento de los pacientes, la AFP es útil para el diagnóstico temprano de las recidivas tumorales, su aumento es suficiente para establecer el diagnóstico de recidiva. Las limitaciones de la aplicación clínica de la AFP en pacientes con HC potencia la necesidad de identificar biomarcadores que usados solos o en forma complementaria a la AFP permita diagnosticar HC en estadios tempranos.

Pacientes con valores de AFP totales entre 10 - 200 ng/

mL pueden beneficiarse con la determinación de L3-AFP. Los pacientes con valores elevados de L3-AFP tienen peor pronóstico que aquellos con valores negativos, y con mayor frecuencia presentan metástasis a distancia. La falta de disponibilidad de equipos comerciales estandarizados es un inconveniente para su aplicación en la práctica clínica.

El DCP es un marcador complementario a la AFP con un mejor desempeño en la vigilancia del HC, en la respuesta al tratamiento y el monitoreo de la recurrencia en la población con HC; sin embargo, tiene una aplicación diagnóstica moderada. Tampoco se dispone de equipos comerciales para su determinación, por lo que no se lo realiza de rutina, siendo todavía en nuestro país un marcador que se lo realiza sólo para investigación.

A diferencia de otros tipos de cáncer, el área geográfica, las variaciones en la biología impiden que podamos basarnos en una guía universalmente aceptada para todos los pacientes con HC alrededor del mundo. Las recomendaciones están influenciadas por estas variables (es decir, áreas de mayor hepatitis por distintas etiologías virales, u otras causas) y por los recursos disponibles. Es importante incluir estas variables al tratar pacientes con HC y también cuando se estructuran políticas y lineamientos de prevención.

Agradecimientos

Este trabajo se desarrolló en el marco del Proyecto "Relación entre consumo crónico de agua contaminada con arsénico y alteraciones inducidas por arsénico. Investigación de factores de riesgo asociados a la presencia de enfermedad. Concordancia entre lesiones orales e hidroarsenicismo crónico". PIUNT 26/D536 financiado por la Secretaría de Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica de la Universidad Nacional de Tucumán.

Referencias bibliográficas

- Martel C, Maucourt-Boulch D, Plummer M, Franceschi S. World-wide Relative Contribution of Hepatitis B and C Viruses in Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 2015; 62:1190-1200.
- Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol* 2013;58:593-608.
- Siegel RL, Mille KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin* 2017;67:7-30.
- Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. *Gut* 2014; 63:844-855.
- Luo RH, Zhao ZX, Zhou XY, Gao ZL, Yao JL. Risk factors for primary liver carcinoma in Chinese population. *World J Gastroenterol* 2005;11:4431-4434.
- Holdenrieder S, Pagliaro L, Morgenstern D, Dayyani F. Clinically Meaningful Use of Blood Tumor Markers in Oncology. *BioMed Research International* 2016;1:1-10.
- Perheentupa A, Ruokonen A, Tuomivaara L, Ryyanen M, Martikainen H. Maternal serum beta-HCG and alpha-fetoprotein concentrations in singleton pregnancies following assisted reproduction. *Hum Reprod* 2002;17: 794-797.
- Mizejewski GJ. Levels of alpha-fetoprotein during pregnancy and early infancy in normal and disease states. *Obstet Gynecol Surv* 2003;58:804-826.
- Maldonado Mercado MG, Pereyra Morales MA, Zenteno Galindo EA. Estructura y función de la alfa-fetoproteína. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM* 2015;58:1-9.
- Cillo U, Vitale A, Navaglia F, Basso D, Montin U, Bassanello M, et al. Role of blood AFP mRNA and tumor grade in the preoperative prognostic evaluation of patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005;11:6920-6925.
- Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein Structure and Function: Relevance to Isoforms, Epitopes, and Conformational Variants. *Exp Biol Med* 2001;226:377-408.
- Morozov AV, Timofeev AV, Morozov VA, Karpov VL. Critical amino acids of ornitin decarboxylase degron: the presence and C-terminal arrangement is insufficient for alfa-fetoprotein degradation. *Mol Biol [Mosk]* 2011;45:529-537.
- Baker ME. Evolution of alpha-fetoprotein: sequence comparisons among AFP species and with albumin species. *Tumour Biol* 1988;9:123-136.
- Magne D, Seta N, Lebrun D, Durand G, Durand D. Factors influencing the reaction of alpha 1-fetoprotein with concanavalin A and Lens culinaris agglutinin in crossed immunoelectrophoresis. *Clin Chem* 1992;38:1418-1424.
- Wong RJ, Ahmed A, Gish RG. Elevated alpha-fetoprotein: differential diagnosis-hepatocellular carcinoma and other disorders. *Clin Liver Dis* 2015;19:309-323.
- Christiansen M, Yazova AK, Karamova ER, Andreev AV, Goussev AI, Mortensen V, et al. Epitopes of human alpha-fetoprotein: Construction of an epitope-map from a large number of monoclonal antibodies. *J Tumor Marker Oncol* 1994;9:57-68.
- Carmichael J, Krantz D, Liu HP, Janik D, Hallahan T. Incorporation of dried blood alpha fetoprotein into traditional first trimester Down syndrome screening service. *Prenat Diagn* 2015;35:703-708.
- Zhang L, He T, Cui H, Wang Y, Huang C, Han F. Effects of AFP gene silencing on apoptosis and proliferation of a hepatocellular carcinoma cell line. *Discov Med* 2012;14:115-124.
- Semenkova LN, Dudich EI, Dudich IV, Shingarova LN, Korobko VG. Alpha-fetoprotein as a TNF-resistance factor for human hepatocarcinoma cell line HepG2. *Tumor Biol* 1997;18:30-40.
- Meng W, Bai B, Bai Z, Li Y, Yue P, Li X, Qiao L. The immunosuppression role of alpha-fetoprotein in human hepatocellular carcinoma. *Discov Med* 2016;21:489-494.
- Lin B, Zhu M, Wang W, Li W, Dong X, Chen Y, et al. Structural basis for alpha fetoprotein-mediated inhibition of caspase-3 activity in hepatocellular carcinoma cells. *Int J Cancer* 2017;141:1413-1421.
- Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein binding proteins: implications for transmembrane passage and subcellular localization. *Life Sci* 1995;56:1-9.

23. Yu SJ. A concise review of updated guidelines regarding the management of hepatocellular carcinoma around the world: 2010-2016. *Clin Mol Hepatol* 2016;1:7-17.
24. Sharma D, Subbarao G, Saxena R. Hepatoblastoma. *Semin Diagn Pathol* 2017;34:192-200.
25. Rothblum-Oviatt C, Wright J, Lefton-Greif MA, McGrath-Morrow SA, Crawford TO, Lederman HM. Ataxia telangiectasia: a review. *Orphanet J Rare Dis* 2016;11:159-180.
26. Soresi M, Magliarisi C, Campagna P, Leto G, Bonfissuto G, Riili A, et al. Usefulness of alpha-fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res* 2003;23:1747-1753.
27. Hernández JC, Samada M, Roque A, Cruz Y, Howland I, Fernández I. Diagnostic value of alpha-fetoprotein for hepatocellular carcinoma. *Biocología Aplicada* 2011;28:34-39.
28. Sarwar S, Khan AA, Tarique S. Validity of Alpha Fetoprotein for Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma in Cirrhosis. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan* 2014;24:18-22.
29. Ahn D, Kim HJ, Kang H, Woong Lee H, Bae SH, Lee JH, et al. Feasibility of α -fetoprotein as a diagnostic tool for hepatocellular carcinoma in Korea. *Korean J Intern Med* 2016;31:46-53.
30. Hu KQ, Kyulo NL, Lim N, Elhazin B, Hillebrand DJ, Bock T. Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein (AFP) in patients with chronic hepatitis C, but not hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2004;99:860-865.
31. 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;36:410-417.
32. Peng SY, Chen WJ, Lai PL, Jeng YM, Sheu JC, Hsu HC. High alpha-fetoprotein level correlates with high stage, early recurrence and poor prognosis of hepatocellular carcinoma: significance of hepatitis virus infection, age, p53 and beta-catenin mutations. *Int J Cancer* 2004;112:44-50.
33. Liu C, Xiao G, Yan L, Li B, Jiang L, Wen T, et al. Value of alpha-fetoprotein in association with clinicopathological features of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013;19:1811-1819.
34. Hsu C-Y, Liu P-H, Lee Y-H, Hsia C-Y, Huang Y-H, Lin H-C, et al. Using Serum alpha-Fetoprotein for Prognostic Prediction in Patients with Hepatocellular Carcinoma: What is the Most Optimal Cutoff? *PLoS One* 2015;10:1-12.
35. Chou W, Lee C, Yang T, Huang C, Teng W, Tseng Y, et al. Changes in serum α -fetoprotein level predicts treatment response and survival in hepatocellular carcinoma patients and literature review. *Journal of the Formosan Medical Association* 2017;1:1-11.
36. European Association for the Study of the Liver and European Organization for Research and Treatment of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012;56:908-943.
37. Rimola J, Forner A, Reig M, Vilana R, de Lope CR, Ayuso C, et al. Cholangiocarcinoma in cirrhosis: absence of contrast washout in delayed phases by magnetic resonance imaging avoids misdiagnosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009;50:791-798.
38. Saffroy R, Pham P, Reffas M, Takka M, Lemoine A, Debuire B. New perspectives and strategy research biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1169-1179.
39. Song P, Xia J, Inagaki Y, Hasegawa K, Sakamoto Y, Kokudo N, et al. Controversies regarding and perspectives on clinical utility of biomarkers in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2016;22:262-274.
40. Lin J, Yan F, Ju H. Noncompetitive enzyme immunoassay for alpha-fetoprotein using flow injection chemiluminescence. *Appl Biochem Biotechnol* 2004;117:93-102.
41. Korekane H, Hasegawa T, Matsumoto A, Kinoshita N, Miyoshi E, Taniguchi N. Development of an antibody-lectin enzyme immunoassay for fucosylated α -fetoprotein. *Biochim Biophys Acta* 2012;1820:1405-1411.
42. Sterling RK, Jeffers L, Gordon F, Venook AP, Reddy KR, Satomura S, et al. Utility of Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin, alone or in combination, as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:104-113.
43. Kagebayashi C, Yamaguchi I, Akinaga A, Kitano H, Yokoyama K, Satomura M, et al. Automated immunoassay system for AFP-L3% using onchip electrokinetic reaction and separation by affinity electrophoresis. *Anal Biochem* 2009;388:306-311.
44. Oda K, Ido A, Tamai T, Matsushita M, Kumagai K, Mawatari S, et al. Highly sensitive lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein is useful for early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease. *Oncol Rep* 2011; 26:1227-1233.
45. Leerapun A, Suravarapu SV, Bida JP, Clark RJ, Sanders EL, Mettler TA, et al. The utility of AFP-L3% in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: evaluation in a U.S. referral population. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:394-402.
46. 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;1:57-63.
47. Tamano K, Sugiura M, Natsuki J, Sawakami-Kobayashi K, Tajima H, Machida M. Improvement of the lectin-antibody enzyme immunoassay of the alpha-fetoprotein carbohydrate chain for automation with the enzyme immunoassay robot. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005;69:1616-1619.
48. Kagebayashi C, Yamaguchi I, Akinaga A, Kitano H, Yokoyama K, Satomura M et al. Automated immunoassay system for AFP-L3% using on-chip electrokinetic reaction and separation by affinity electrophoresis. *Anal Biochem* 2009;388:306-311.
49. Cui R, He J, Zhang F, Wang B, Ding H, Shen H, et al. Diagnostic value of protein induced by vitamin K absence (PIVKAII) and hepatoma-specific band of serum gamma-glutamyl

- transferase [GGTII] as hepatocellular carcinoma markers complementary to alpha-fetoprotein. *Br J Cancer* 2003; 88:1878-1882.
50. Cui R, Wang B, Ding H, Shen H, Li Y, Chen X. Usefulness of determining a protein induced by vitamin K absence in detection of hepatocellular carcinoma. *Chin Med J (Engl)* 2002;115:42-45.
 51. Dohmen K, Shigematsu H, Irie K, Ishibashi H. Clinical characteristics among patients with hepatocellular carcinoma according to the serum levels of alpha-fetoprotein and des-g-carboxy prothrombin. *Hepatogastroenterology* 2003; 50:2072-2078.
 52. Saitta C, Raffa G, Alibrandi A, Brancatelli S, Lombardo D, Tripodi G, et al. PIVKA-II is a useful tool for diagnostic characterization of ultrasound-detected liver nodules in cirrhotic patients. *Medicine* 2017;96:1-5.
 53. Feng X, Song P, Bie P, Jiang P, Ma K, Li X, et al. Des-g-carboxyprothrombin plasma level in diagnosis of Hepatocellular Carcinoma in a Chinese population undergoing surgery. *Med Sci Monit* 2016;22:1663-1672.
 54. Ji J, Wang H, Li Y, Zheng L, Yin Y, Zou Z, et al. Diagnostic Evaluation of Des-Gamma-Carboxy Prothrombin versus -Fetoprotein for Hepatitis B Virus-Related Hepatocellular Carcinoma in China: A Large-Scale, Multicentre Study. *PLoS One* 2016;11:1-17.
 55. Park H, Park JY. Clinical Significance of AFP and PIVKA-II Responses for Monitoring Treatment Outcomes and Predicting Prognosis in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Bio-Med Research International* 2013;1:1-6.
 56. De J, Shen Y, Qin J, Feng L, Wang Y, Yang L. A Systematic Review of Des-g-Carboxy Prothrombin for the Diagnosis of Primary Hepatocellular Carcinoma. *Medicine* 2016;95:1-10.
 57. Abd El Gawad IA, Mossallam GI, Radwan NH, Elzawahry HM, Elhifnawy NM. Comparing prothrombin induced by vitamin K absence-II (PIVKA-II) with the oncofetal proteins glypican-3, Alpha feto protein and carcinoembryonic antigen in diagnosing hepatocellular carcinoma among Egyptian patients. *J Egypt Natl Canc Inst* 2014;26:79-85.
 58. Ishijima M, Nomura F, Horikoshi A, Ohnishi K, Nakai T. Determination of PIVKA-II levels in patients with small hepatocellular carcinoma--comparison of new sensitive methods. *Rinsho Byori* 1996;44:635-639.