

EVALUAREA SCCA VERSUS AFP ÎN DIAGNOSTICUL PRECOCE AL HEPATOCARCINOMULUI

Irina Teofănescu, Elena Gologan, Gabriela Ștefănescu, Gh. Bălan
Institutul de Gastroenterologie și Hepatologie Iași
Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iași

SCCA VERSUS THE AFP ASSESSMENT IN EARLY DIAGNOSIS OF HEPATOCARCINOMA

(Abstract): Hepatocellular carcinoma is on the fifth place among malign tumours, with almost one million new cases yearly. Its incidence is raising as well its mortality. Because the only thing correlated with long term survival is its early detection all the efforts targeted the finding of the best screening and surveillance method in order to provide an early diagnosis. Hepatocellular carcinoma, having a wellknown premalign condition [liver cyrrhosis], can be early diagnosed by using biomarkers. Until now AFP, the only marker used for diagnosis, has failed mainly because its poor sensitivity. Ultrasonography is a very important tehnique for detecting early hepatocellular carcinoma but because it is operator dependent and machine dependent can give false positive results. It has been chosen to combine this method with AFP level detecting in order to early diagnose hepatocellular carcinoma. The biologic properties of new markers [SCCA, immune complexes with SCCA, AFP and immune complexes with AFP] as well as their combined use with ultrasonography bring new hope for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma.

KEYWORDS: HEPATOCELLULAR CARCINOMA, ALPHA-FETOPROTEIN, SQUAMOUS CELL CARCINOMA ANTIGEN, IMMUNE COMPLEXES WITH SCCA, AND IMMUNE COMPLEXES WITH AFP.

Correspondență: Dr. Irina Teofănescu, Institutul de Gastroenterologie și Hepatologie Iași, str. Independenței, nr. 1, 700111, e-mail: irina.teofanescu@yahoo.com*.

INTRODUCERE

Cancerul hepatocelular ocupă locul cinci ca frecvență printre tumorile maligne, cu aproape un milion de cazuri noi anual, iar ca localizare digestivă, reprezintă a doua cauză de cancer după cel gastric. Rata de supraviețuire pentru cancerul simptomatic netratat, variază între 0 și 1% la 2 ani. Având o supraviețuire atât de scurtă, incidența sa este sensibil egală cu mortalitatea. Un alt lucru îngrijorător este acela că incidența sa este în creștere, la fel ca și mortalitatea, asta în timp ce decesele prin ciroză hepatică sunt în scădere [1].

Incidența cancerului hepatocelular variază amplu pe glob. Aceste variații geografice derivă din intervenția unor factori de risc diferiți. În Europa, America de Nord, Japonia principalii factori predispozanți sunt virusul hepatitic C, consumul cronic de alcool și hemocromatoza, pe când în Asia și Africa infecția cronică cu virusul hepatitic B și consumul de alimente contaminate cu aflatoxină B1 sunt asociate cu un puternic risc de dezvoltare a carcinomului hepatocelular.

* received date: 15.02.2010

accepted date: 18.05.2010

În ceea ce privește mortalitatea, cancerul hepatocelular reprezintă a treia cauză de deces prin cancer în lume și principala cauză de deces la cirofici în Europa de Vest tratamentul mai eficient al hemoragiilor digestive prin efracție variceală, al insuficienței hepatice etc a dus la o creștere a duratei de viață a ciroficilor cu mărirea riscului de apariție a cancerului [2].

Toate aceste date explică de ce carcinomul hepatocelular a devenit o problemă de sănătate publică, determinând apariția unor programe de supraveghere a pacienților cu ciroză. Totuși, chiar în aceste condiții mortalitatea s-a modificat puțin în ultimii ani, deși interesul pentru depistarea precoce a crescut, prognosticul rămânând în continuare sever chiar la pacienții care beneficiază de transplant hepatic, singurul element corelat cu supraviețuirea pe termen lung fiind depistarea la dimensiuni mici [3].

MARKERI TUMORALI

Definiția acceptată de National Cancer Institute (NCI) desemnează ca marker tumoral o substanță produsă de tumoră sau de gazdă, detectabilă în fluidele biologice sau țesuturi a cărei utilitate rezidă din a diferenția o boală neoplazică de una neneoplazică. Acești markeri susțin diagnosticul, pot ajuta la localizarea procesului de neoformație, la determinarea prognosticului, dar rolul lor esențial este de a monitoriza evoluția sub terapie, de a detecta recidivele locale sau la distanță și de a ajuta la screeningul populației cu risc [4].

Există mai multe tipuri de markeri tumoral: enzime, izoenzime, hormoni, antigene oncofetale, epitopcarbohidrați, etc. Din nefericire, până în prezent niciunul dintre biomarkerii cunoscuți nu are specificitate satisfăcătoare.

Principalele calități ale unui marker tumoral sunt: măsurare facilă, cost redus, reproductibilitate, minimă invazivitate, sensibilitate și specificitate ridicate. Există un interes continuu pentru descoperirea a noi biomarkeri utili în efortul de diagnosticare precoce a proceselor tumorale [5].

Având o condiție premalignă bine cunoscută (ciroza hepatică), hepatocarcinomul celular reprezintă o patologie la al cărui diagnostic precoce se pretează cu succes utilizarea biomarkerilor. Prognosticul hepatocarcinomului avansat este sever, în timp ce doar leziunile mici pretabile la tratament curativ sunt singurele asociate cu o durată de supraviețuire mai lungă. Este lesne de înțeles că diagnosticul precoce este singurul care oferă o șansă acestor bolnavi. Din aceste rațiuni s-a hotărât prin consens, ca pacienții cu ciroză hepatică să fie înrolați în programe de supraveghere, care constă în examinare ultrasonografică și măsurarea *alfa fetoproteinei (AFP)* la fiecare șase luni. În aceste condiții, deși programul de supraveghere s-a dovedit cost – eficient, creșterea perioadei de supraviețuire rămâne încă un subiect în dezbateri. Recent s-a sugerat că , costurile rezultate din supravegherea pacienților cu ciroză hepatică și cele ale tratamentului cancerului hepatocelular diagnosticat utilizând aceste programe depășesc cu mult pe cele ale unui tratament în stadii precoce [6].

Până acum AFP, unicul marker serologic care este curent utilizat în diagnostic, a eșuat în a fi un marker de încredere în principal din cauză că prezintă o sensibilitate și o specificitate mică (39–65%, respectiv 76–97%). Această mare variabilitate rezultă din valorile diferite considerate ca limită diagnostică folosite de diverse studii dar și din cauză că cele mai multe rezultate au fost obținute din studii retrospective. AFP pare a avea utilitate diagnostică la valori mai mari de 400 UI / ml dar procentul de pacienți cu asemenea niveluri crescute este foarte mic; aceasta este cea mai importantă limitare a acestui marker. Nu există îndoială că ultrasonografia este o tehnică foarte utilă pentru

identificarea apariției nodulilor suspecti de hepatocarcinom celular, iar îmbunătățirile tehnice ale acestei metode (apariția ultrasonografiei cu substanță de contrast) vor crește și mai mult acuitatea diagnostică. Cu toate acestea avantajele ultrasonografiei constituie în același timp și marile ei limite deoarece, fiind o tehnică dependentă de operator și de performanța aparaturii, poate da rezultate fals negative. Din rațiunile expuse mai sus s-a ales să se combine această metodă cu detectarea nivelului AFP pentru diagnosticarea precoce a carcinomului hepatocelular [7].

AFP - L3

Căutarea unor noi markeri pentru diagnosticul hepatocarcinomului celular a devenit o importantă preocupare pentru clinicieni, fapt dovedit de numeroasele articole pe această temă publicate în ultimii 15 ani. Posibilitatea de a analiza mai multe molecule în timp relativ scurt utilizând tehnologii avansate a constituit un adevărat imbold pentru cercetările din acest domeniu. Pentru a evita riscul de a manevra sute de molecule cu relevanță discutabilă, National Cancer Institute a aprobat o rețea de cercetare cu scopul de a stabili și controla criteriile pentru evaluarea puterii predictive a unui biomarker.

Varianta fucozilată a AFP, având o mare afinitate a lanțului polizaharidic pentru *Lens culinaris* (AFP-L3), a fost propusă ca fiind mai specifică decât AFP pentru diagnosticul hepatocarcinomului celular. Cu toate acestea, datele de mai sus au fost obținute de autori din Europa de Est și nu au fost confirmate în vest. Procentajul de AFP-L3 a fost calculat ca raport între AFP-L3 și AFP total utilizând electroforeza, iar intensitatea benzii s-a analizat cu un densitometru [8].

AFP-L3 a fost propusă ca un marker mai bun al hepatocarcinomului celular având sensibilitatea de 55,3% și specificitatea de 93,9 % la o valoare prag de 15%. Într-un alt studiu s-a determinat o sensibilitate și specificitate mai bune (75% și respectiv 83%) și deci acuratețe diagnostică mai mare dar utilizând o valoare prag de 35% a nivelului AFP-L3. Mai recent, utilizând o valoare prag de 15% au fost raportate o sensibilitate de 96% și o specificitate de 92%. Cu toate acestea, aceste rezultate promițătoare nu au putut fi reproduse într-un alt studiu, în care sensibilitatea și specificitatea au fost de 36,1 % și 93,4% utilizând 10% ca valoare prag a AFP-L3, versus 30,9% și 99,5% utilizând un prag de 15%. În fiecare caz acuitatea diagnostică a rămas slabă la un nivel de 53,2%. Inconsistența datelor este foarte probabil explicată de proba citită pentru determinarea procentajului AFP-L3, deoarece este foarte dificil să se standardizeze conversia unei tehnici calitative cum este imunoblotting-ul într-una cantitativă prin densitometrie [9].

Mai multe studii au prezentat utilizarea AFP-L3 ca factor prognostic în corelare cu mărimea, diferențierea, prezența metastazelor și în general cu evoluția clinică a cancerului. Totuși nu există consens despre ce anume este în mod real corelat cu AFP-L3 în diverse studii. În concluzie, bazându-ne pe datele de mai sus, AFP-L3 nu poate fi considerat un marker mai bun decât AFP pentru detectarea hepatocarcinomului celular și deci nu este utilă în studiile de supraveghere/diagnostic [10].

Des-gamma carboxiprotrombina (DCP)

DCP este o protrombină anormală care apare ca rezultat a unui defect posttranslațional dobândit al precursorului protrombinei în celulele hepatocarcinomului. Este vorba de un deficit al unei carboxilaze dependentă de prezența vitaminei K rezultând des-gamma carboxiprotrombina sau antagonistul II (PIVKA-II), care nu are activitate procoagulantă.

În 1984 Liebman a fost primul care a raportat un nivel crescut al DCP la pacienții cu hepatocarcinom celular și de asemenea niveluri crescute la cei cu recurență a acestuia după rezecția chirurgicală sugerând utilitatea DCP ca marker pentru hepatocarcinomul celular [11]. DCP a fost investigat în câteva studii dar s-au obținut rezultate diferite în funcție de valoarea prag utilizată. În prezent valoarea de 40 mAU/ml este valoarea prag cea mai des folosită și pornind de la această valoare plaja sensibilității variază între 48 și 62% iar cea a specificității între 81% și 98%. În aceleași studii nu s-a demonstrat că DCP este mai bun ca marker decât AFP care are o sensibilitate de 40 – 54% și specificitate de 88 – 97% [12].

Nu sunt corelații între nivelul seric al AFP și DCP, numeroase cazuri cu negativitatea AFP fiind pozitive pentru DCP. Determinarea concomitentă a ambilor markeri are astfel valoare complementară și poate crește acuratețea diagnosticului. În alte studii s-a raportat că DCP identifică invazivitatea vasculară tumorală, în particular în sectorul venos portal. În concluzie DCP este poate mai util ca factor prognostic pentru predictibilitatea evoluției clinice la pacienții cu hepatocarcinom celular decât ca factor de detecție precoce [13].

Proteina Golgi 73 (GP73)

GP73 este o proteină din aparatul Golgi care s-a demonstrat că are un nivel crescut la pacienții cu carcinom hepatocelular. Marrero a prezentat o sensibilitate de 69% și o specificitate de 75% la pacienții cu hepatocarcinom celular față de cei cu ciroză hepatică folosind valoarea de 10 unități relative ca prag, calculate prin scanarea densitometrică a imunoblotului. Deși acesta este un studiu promițător sunt necesare mai multe studii pentru a confirma aceste date și pentru a clarifica rolul acestui marker în detectarea precoce a cancerului. Totuși este foarte puțin probabil ca acest marker să fie folosit în practica clinică deoarece tehnica folosită pentru cuantificare nu face molecula să fie adecvată ca marker de rutină întrucât nu corespunde criteriilor tehnice ideale ce definesc un marker clinic potrivit pentru utilizare pe scară largă [14,15].

Glipican 3 (GPC3)

GPC3 este o proteină oncofetală făcând parte din familia glipicanilor. S-a demonstrat că GPC3 este scăzută în cancerul ovarian, mamar și adenocarcinom pulmonar și este crescută în hepatocarcinom celular. GPC3 a fost investigată în principal la nivelul țesuturilor, deși unele studii au demonstrat prezența GPC3 în serul a aproape 50% din pacienții cu hepatocarcinom celular și absența ei la pacienții sănătoși. Nu sunt valabile date sistematice privitoare la sensibilitatea și specificitatea ei, mai mult, folosirea acestui marker mai ales în proceduri histologice, îl face neutilizabil în programele de supraveghere și în condiții clinice [15-17].

„NOILE” GENERAȚII DE MARKERI PENTRU HCC

Antigenul carcinomului cu celule scuamoase este un membru al unei familii de molecule de inhibitori ai proteazelor serice cu greutate mare (serpine). Au fost identificate două isoforme diferite codate de două gene homozigote foarte apropiate SCCA1 și SCCA2. Ambele proteine sunt exprimate fiziologic în stratul suprabazal al epitelului scuamos multistratificat. SCCA a fost identificată într-un număr de diferite tumori maligne derivate din epiteliul multistratificat incluzând cervixul, plămânul și faringele. Pontiso și colab. au fost primii care au raportat expresia variantelor de SCCA în țesuturile hepatocarcinomului celular la nivel proteic și translațional. Mai recent s-a demonstrat o diferență puternică între expresia SCCA în țesuturile hepatocarcinomului celular și în cele peritumorale la același pacient sugerând utilitatea acestui marker fie în

diagnosticul imunohistochimic al hepatocarcinomului celular sau în depistarea de micrometastaze. Detecția SCCA în țesuturile hepatocarcinomului celular este destul de surprinzătoare deoarece nu sunt prezente celule epiteliale scuamoase în ficat deși se găsesc în alte tumori epiteliale ale unor organe cu care ficatul are o origine embriogenică comună. O ipoteză fascinantă, care mai trebuie demonstrată, este aceea că SCCA ar reprezenta o amprentă biologică a diferențierii care are loc în geneza hepatocarcinomului celular, cum este și producția de AFP [18,19].

Mai mult SCCA a fost detectată la niveluri înalte în serul pacienților cu hepatocarcinom celular comparativ cu cei cu ciroză hepatică, deși nu s-a găsit o corelație clară între nivelurile tisulare și serologice, probabil pentru că SCCA este prezentă la nivelul citosolului, nefiind asociată cu organitele membranare. Astfel, SCCA circulant este un rezultat al citolizei mai degrabă decât al unui proces de secreție. Cu toate acestea SCCA a fost folosit în diagnosticul hepatocarcinomului celular și a arătat o sensibilitate de 84,2% și o specificitate de 48,9%. Din acest motiv SCCA pare a fi partenerul perfect pentru AFP, care are sensibilitate redusă dar înaltă specificitate [20,21].

De fapt, s-a demonstrat că utilizarea în combinație a acestor biomarkeri crește sensibilitatea diagnostică la 90,83%. Recent s-a arătat că IgM pot forma complexe imune fie cu AFP fie cu SCCA reprezentând noi markeri pentru hepatocarcinomul celular. Mai mult, complexe imune cu SCCA au fost utilizate pentru a urmări pacienții cu ciroză hepatică și a identifica pe cei cu risc crescut de a face hepatocarcinom celular. Combinații ale următorilor biomarkeri: SCCA, complexe imune cu SCCA, AFP și complexe imune cu AFP sunt în prezent investigate în studii în derulare și pare că oferă o bună acuitate diagnostică în concordanță cu etiologia bolii și nivelul de AFP, al cărui rol a fost reconsiderat datorită creșterii sale specificității. În plus combinația acestor biomarkeri permite identificarea a aproape 80% din tumorile cu nivel normal de AFP reprezentând cel mai important beneficiu pentru clinicieni. În fine SCCA pare a fi un marker promițator fiind invers proporțional cu mărimea tumorii deci util de utilizat în detecția precoce a cancerului iar combinația tuturor biomarkerilor ameliorează semnificativ valoarea lor în diagnostic. Un studiu cost – beneficiu ar putea întări folosirea acestor markeri pe scară largă în practica clinică [22,23].

CONCLUZII

Utilizarea combinației SCCA cu AFP a îmbunătățit substanțial sensibilitatea testului pentru depistarea HCC. Întrucât nu este încă clar de ce un antigen ca SCCA este exprimat puternic în hepatocarcinomul celular iar funcțiile ambilor (AFP și SCCA) sunt necunoscute, nu putem exclude posibilitatea ca unele caracteristici biologice ale malignităților ar putea afecta expresia acestor antigeni. Îmbunătățirea specificității SCCA ar putea constitui o descoperire importantă pentru screeningul și diagnosticul serologic al HCC.

BIBLIOGRAFIE

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P, Estimating the world cancer burden: Globocan 2000, *Int J Cancer* 2001; 94: 153 – 156.
2. El Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States, *N Engl J Med* 1999; 340: 745 – 750.
3. Corrao G, Ferrari P, Zambon A, Torchio P, Arico S, Decarli A. Trends of liver cirrhosis mortality in Europe, 1970-1980: age-period-cohort analysis and changing alcohol consumption. *Int J Epidemiol* 1997; 26: 100-109.

4. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F, Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology* 2004; 127: S35-50.
5. Marcos A. Right lobe living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2000; 6: S59-63.
6. Collier J, Sherman M. Screening for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998; 27: 273-278.
7. Daniele B, Bencivegna A, Megna AS, Tinesa V. Alfa-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127: S108-112.
8. Marrero J, Alok AS. Newer markers for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127: S113-119.
9. Khien VV, Mao HV, Chinh TT, Ha PT, Bang MH, Lac BV. Clinical evaluation of lentil lectin-reactive alpha-fetoprotein-L3 in histology-proven hepatocellular carcinoma. *Int J Biol Markers* 2001; 16: 105-111.
10. Yoshida S, Kurokohchi K, Arima K, Masaki T, Hosomi N, Funaki T. Clinical significance of lens culinaris agglutinin-reactive fraction of serum alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2002; 20: 305 – 309.
11. Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo KJ, Lee SD. Des-gamma-carboxy prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma *N Engl J Med* 1984; 310: 1427-1431.
12. Ishii M, Gama H, Chida N, Ueno Y, Shinzawa H, Takagi T. Simultaneous measurements of serum alpha-fetoprotein and protein induced by vitamin K absence for detecting hepatocellular carcinoma. South Tohoku District Study Group. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1036-1040.
13. Nakagawa T, Seki T, Shiro T, Wakabayashi M, Imamura M, Itoh T. Clinicopathologic significance of protein induced vitamin K absence or antagonist II and alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 1999; 14: 281-286.
14. Marrero JA, Romano PR, Nikolaeva O, Steel L, Mehta A, Fimmel CJ. GP73 a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2005; 43: 1007-1012.
15. Xiang YY, Ladedo V, Filmus J. Glypican-3 expression is silenced in human breast cancer. *Oncogene* 2001; 20: 7408-7412.
16. Zhu ZW, Friess H, Wang L, Abou-Shady M, Zimmermann A, Lander AD. Enhanced glypican-3 expression differentiates the majority of hepatocellular carcinomas from benign hepatic disorders. *Gut* 2001; 48: 558-564.
17. Capurro M, Wanless IR, Sherman M, Deboer G, Shi W, Miyoshi E. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2003; 125: 89-97.
18. Kato H, Torigoe T. Radioimmunoassay for tumour antigen of human cervical squamous cell carcinoma. *Cancer* 1977; 40: 1621-1628.
19. Giannelli G, Marinisci F, Sgarra C, Lupo L, Dentico P, Antonaci S. Clinical role of tissue and serum levels of SCCA antigen in hepatocellular carcinoma. *Intl J Cancer* 2005; 116: 579-583.
20. Gianelli G, Marinisci F, Trerotoli P, Volpe A, Quaranta M, Dentico P. SCCA antigen combined with alpha-fetoprotein as serologic markers o HCC. *Int J Cancer* 2005; 117: 506-509.
21. Beneduce L, Castaldi F, Marino M, Quaranta S, Ruvoletto M, Benvegna L. Squamous cell carcinoma antigen-immunoglobulin M complexes as novel biomarkers of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 2558-2565.
22. Bruix J, Llovet JM. Prognostic prediction and treatment strategy in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 519-524.
23. Pontisso P, Calabrese F, Benvegna L, Lise M, Belluco C, Ruvoletto G, De Falco S, Marino M, Valente M, Nitti D, Gatta A, Fassina G. verexpression of squamous cell carcinoma antigen variants in hepatocellular carcinoma. *BrJ Cancer* 2004; 90: 833-837.
24. Suminami Y, Kishi F, Sekiguchi K, Kato H. Squamous cell carcinoma antigenis a new member of the serine protease inhibitors. *Biochem Bophys Res Commun* 1991; 181: 51-58.
25. Giannelli G, Marinosci F, Sgarra C, Lupo L, Dentico P, Antonaci S. Clinical role of tissue and serum levels of SCCA antigen in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*. 2005; 116(4): 579-583.