

БИОМАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2019.11.2.23

УДК 616.36–006.6–07

Поступила 21.03.2019 г.

© **С.И. Малов**, к.м.н., ассистент кафедры инфекционных болезней¹; старший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории²;
И.В. Малов, д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней¹;
В.В. Дворниченко, д.м.н., профессор, зав. кафедрой онкологии и лучевой терапии¹;
 зав. кафедрой онкологии²;
P.N. Marche, PhD, Professor, Vice Director of Research Center³;
T. Decaens, PhD, Professor, Research Director, Laboratory Head of Department of Hepatology and Gastroenterology⁴;
Z. Macek-Jilkova, PhD, Researcher of Department of Hepatology and Gastroenterology⁴;
Н.Д. Ющук, д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии⁵

¹Иркутский государственный медицинский университет, ул. Красного восстания, 1, Иркутск, 664003;²Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, микрорайон Юбилейный, 100, Иркутск, 664049;³Institute for Advanced Biosciences, Research Center Inserm U1209, CNRS 5309, Univ. Grenoble-Alpes, La Tronche, 38700, France;⁴CHU-Grenoble, Clinique Universitaire d'Hépatogastroentérologie, La Tronche, 38700, France;⁵Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, ул. Делегатская, 20, стр. 1, Москва, 127473

Гепатоцеллюлярная карцинома занимает второе место среди причин смертности онкологических больных. Прогноз исхода заболевания напрямую зависит от своевременного выявления болезни. В настоящее время в большинстве стран диагностический алгоритм на доклиническом этапе развития опухоли включает определение альфа-фетопротеина в сочетании с инструментальными методами визуализации. Такой подход позволяет на ранней стадии (А по классификации BCLC) выявлять до 65–80% опухолей печени, а на очень ранней стадии (0 по классификации BCLC) — лишь 32–50%, что не может считаться удовлетворительным результатом. В связи с этим поиск эффективных биомаркеров гепатоцеллюлярной карциномы имеет важное значение для мирового здравоохранения.

Достижения в области протеомики и геномики позволили обнаружить целый ряд перспективных маркеров, находящихся на разных этапах клинической апробации. В обзоре рассматриваются молекулы белковой природы, предложенные в разное время в качестве онкомаркеров гепатоцеллюлярной карциномы. Приведены сравнительные показатели их эффективности и специфичности, возможность изолированного или сочетанного использования для оценки риска развития и ранней диагностики первичного рака печени.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома; скрининг; биомаркеры; протеомика.

Как цитировать: Malov S.I., Malov I.V., Dvornichenko V.V., Marche P.N., Decaens T., Macek-Jilkova Z., Yushchuk N.D. Biomarkers in diagnosis and prediction of hepatocellular carcinoma recurrence (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2019; 11(2): 183–196, <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.2.23>

English

Biomarkers in Diagnosis and Prediction of Hepatocellular Carcinoma Recurrence (Review)

S.I. Malov, MD, PhD, Assistant, Department of Infectious Diseases¹; Senior Researcher, Central Scientific Research Laboratory²;

Для контактов: Малов Сергей Игоревич, e-mail: LYNX2000@mail.ru

I.V. Malov, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases¹;
V.V. Dvornichenko, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncology and Radiotherapy¹;
 Head of the Oncology Department²;
P.N. Marche, PhD, Professor, Vice Director of Research Center³;
T. Decaens, PhD, Professor, Research Director, Laboratory Head of Department of Hepatology and Gastroenterology⁴;
Z. Macek-Jilkova, PhD, Researcher of Department of Hepatology and Gastroenterology⁴;
N.D. Yushchuk, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences,
 Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology⁵

¹Irkutsk State Medical University, 1 Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003, Russia;

²Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, a Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, 100 Yubileyny Microdistrict, Irkutsk, 664049, Russia;

³Institute for Advanced Biosciences, Research Center Inserm U1209, CNRS 5309, Univ. Grenoble-Alpes, La Tronche, 38700, France;

⁴CHU-Grenoble, Clinique Universitaire d'Hépatogastroentérologie, La Tronche, 38700, France;

⁵A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20 Delegatskaya St., Moscow, 127473, Russia

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the second leading cause of death in oncological patients. The prognosis of the disease outcome depends directly on its timely detection. Currently, in the majority of countries, the diagnostic algorithm at the preclinical stage of tumor development includes determination of alpha-fetoprotein in combination with instrumental imaging techniques. This approach allows the detection of about 65–80% of liver tumors at an early stage (A according to the BCLC classification), whereas at a very early stage (0 according to the BCLC classification) only 32–50% of cases, the result which cannot be considered satisfactory. In this regard, the search for effective biomarkers of hepatocellular carcinoma is an important challenge that faces the world healthcare.

Advances in proteomics and genomics have led to the discovery of numerous promising markers which are now being clinically tested. Molecules of protein nature proposed as hepatocellular carcinoma tumor markers in different periods of time are described in this review. Comparative data on their effectiveness and specificity are also presented. The possibility of isolated or combined use of these biomarkers for risk assessment and early diagnosis of primary liver cancer is considered.

Key words: hepatocellular carcinoma; screening; biomarkers; proteomics.

Введение

Ежегодно в мире регистрируется около 700 тыс. заболеваний гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК) [1, 2]. По распространенности среди онкологических заболеваний рак печени занимает 5-е место [3, 4], а среди причин смертности онкологических больных в последние годы ГЦК переместилась с 3-го на 2-е место [5–8]. Заболеваемость ГЦК в разных странах колеблется (в расчете на 100 тыс. населения): от 1,7 в Северной Европе и Канаде до 30,0 в Китае, где регистрируется более половины всех случаев рака печени в мире [9–11]. В России ежегодно регистрируется 6–8 тыс. новых случаев ГЦК (4,0–5,0 случаев на 100 тыс. населения), что соответствует среднему уровню заболеваемости [12]. Во всем мире ГЦК у мужчин встречается в 3 раза чаще, чем у женщин [9, 13, 14]. Кроме этого существуют значительные различия в распространенности ГЦК у представителей различных рас: монголоиды болеют в 2 раза чаще, чем негроиды, а латиноамериканцы — в 2 раза чаще, чем белые американцы [13].

Гепатоцеллюлярная карцинома чаще всего развивается у пациентов с циррозом печени (ЦП), вызванным вирусами гепатитов В и С, хроническим злоупотреблением алкоголем и неалкогольной жировой болезнью печени [12, 15, 16].

В связи с отсутствием клинических симптомов на ранних стадиях заболевания у 60% пациентов ГЦК диагностируется поздно, нередко — на фоне мультиорганного метастазирования [1, 3]. При обнаружении опухоли на ранней стадии заболевания прогноз относительно хороший, а 5-летняя выживаемость составляет более 70% [5, 17–21].

Все вышеизложенное обуславливает закономерность проведения исследований по активному поиску приемлемых по стоимости и доступных для широкого скринингового использования сывороточных биомаркеров ГЦК [15, 22, 23].

Особое внимание уделяется поиску биомаркеров ГЦК, которые позволили бы с высокой степенью вероятности диагностировать наличие опухоли на ранних стадиях, когда инструментальные методы еще малоэффективны [24, 25]. Использование онкомаркеров на продвинутой стадии рака печени лишено смысла, так как ультразвуковое исследование, компьютерная томография и магнитно-резонансная томография показывают высокую диагностическую чувствительность (Se) [26, 27].

Практическое использование биомаркеров связано со степенью их клинической апробации. Выделяют пять фаз валидации биомаркеров, поэтапное прохождение которых позволяет сделать объективное заключение об их эффективности (табл. 1) [5, 28, 29].

В настоящее время на доклиническом этапе проделано большое число биомаркеров, в отношении которых имеется лишь теоретическое обоснование возможности использования или даже выполнены ограниченные клинические наблюдения, но не проведены широкие мультицентровые исследования, доказывающие их реальную значимость [3].

Поиск биомаркеров ГЦК осуществляется в трех принципиальных направлениях: исследование белковых маркеров (протеомика), нуклеиновых кислот и их полиморфизмов (геномика), а также определение метаболитов обмена веществ в крови и моче (метаболомика) [5, 19, 29–34]. В настоящем обзоре представлены сведения о белковых онкомаркерах, которым сегодня отводится особое внимание. Это вызвано тем, что методы индикации различных протеинов достаточно хорошо автоматизированы, имеют высокую Se и воспроизводимость. Использование геномных онкомаркеров в клинической практике менее распространено, результаты

их определения сильно варьируют в зависимости от способа выделения нуклеиновых кислот, биологического субстрата, метода индикации. Сывороточные и мочевые метаболиты обмена веществ при канцерогенезе требуют дополнительного изучения, в частности определения порогового уровня конкретного метаболита, характерного для онкологического заболевания. Другими словами, вопросы специфичности (Sp) в метаболомике приобретают особое значение, когда речь идет о диагностической значимости онкомаркера. В качестве метаболомных индикаторов канцерогенеза в тканях печени в настоящее время изучают канаваниносукцинат, гликохенодезоксихолевую, гликохолиевую кислоты и другие органические, в том числе жирные, кислоты [35].

На ранних стадиях развития рака печени (стадии 0–A по классификации BCLC и стадия I по классификации TNM) диагностическая эффективность использования различных биологических маркеров широко варьирует (табл. 2).

Таблица 1

Фазы клинической апробации биомаркеров гепатоцеллюлярной карциномы

Фаза	Этап исследования	Цель
I	Доклинические исследования	Поиск кандидатных маркеров и теоретическое обоснование их использования
II	Клинический анализ и валидация	Проверка возможности применения в клинической практике
III	Ретроспективный анализ	Проверка эффективности использования биомаркера по данным ретроспективных исследований
IV	Проспективный анализ	Проверка эффективности использования биомаркера на разных стадиях гепатоцеллюлярной карциномы и с учетом частоты получения ложных результатов по данным проспективных исследований
V	Оценка эффективности диагностического применения в реальной клинической практике	Анализ воздействия результатов внедрения биомаркера в клиническую практику на снижение распространенности и заболеваемости гепатоцеллюлярной карциномой в различных странах мира и в различных этнических группах

Таблица 2

Диагностическая значимость определения в сыворотке крови некоторых биомаркеров на ранней и очень ранней стадиях развития рака печени

Биомаркер	Автор, предложивший его в качестве маркера ГЦК	Пороговое значение (cut-off)	Чувствительность (Se), %	Специфичность (Sp), %	Источники
Альфа-фетопротейн (AFP), нг/мл	Iu.S. Tatarinov, 1964; G.I. Abelev, 1968	10,9–400,0	45,0 (24,0–66,0)	88,0 (76,0–100,0)	[17, 19, 36–42]
Дес-гамма-карбокситротромбин (DCP, PIVKA-II)	H.A. Liebman et al., 1984	7,5–10,0 нг/мл 40,0–200,0 mAU/ml	46,0 (15,0–77,0)	89,5 (81,0–98,0)	[14, 17, 43–48]
Гликозилированная L3-изоформа альфа-фетопротейна (AFP-L3), %	K. Taketa et al., 1990	5,0–15,0	36,5 (28,0–45,0)	93,5 (90,0–97,0)	[17, 49–52]
Альфа-L-фукозидаза (AFU), нмоль/л	M. Giardina et al., 1992	870,0	81,9 (81,7–82,0)	70,5 (70,0–71,0)	[39, 53–56]
Глипикан-3 (GPC3)	H.S. Hsu et al., 1997; M. Capurro et al., 2003	20,0–300,0 нг/мл 26,8–58,8 mAU/ml	44,1 (22,0–66,2)	86,6 (75,0–98,2)	[22, 57–64]
Протеин Гольджи-73 (GP73), нг/мл	J.A. Marrero et al., 2005	7,0–15,0	65,5 (62,0–69,0)	87,0 (86,0–88,0)	[65–67]
Антиген плоскоклеточного рака (SCCA), нг/мл	G. Giannelli et al., 2005	0,12–3,8	40,1 (24,0–56,1)	66,5 (50,0–83,0)	[68–72]

Окончание табл. 2

Биомаркер	Автор, предложивший его в качестве маркера ГЦК	Пороговое значение (cut-off)	Чувствительность (Se), %	Специфичность (Sp), %	Источники
Антиген плоскоклеточного рака (SCCA) и иммунный комплекс SCCA-IgM	L. Beneduce et al., 2005	Нет данных	79,5 (70,0–89,0)	50,0 (50,0)	[71–73]
Остеопонтин (OPN), нг/мл	J. Kim et al., 2006	9,3–642,5	79,0 (61,0–97,0)	77,5 (55,0–100,0)	[38, 46, 74–77]
Аннексин А2 (Ann A2), нг/мкл	N.Y. Ji et al., 2009	17,3	84,8 (83,2–86,4)	70,5 (67,5–73,5)	[19, 78–80]
Высокочувствительный AFP-L3 (hs-AFP-L3), %	H. Toyoda et al., 2011	5,0	53,5 (50,0–57,0)	74,3 (63,5–85,1)	[81, 82]
Диккопф-подобный протеин-1 (DKK-1), нг/мл	E.K. Tung et al., 2012	1,01–2,15	61,9 (50,0–73,8)	87,4 (80,8–94,0)	[13, 46, 83–87]
Рецептор тирозинкиназы sAxI (AXL)	Y. Sun et al., 2013	Нет данных	78,9 (76,9–80,8)	79,5 (66,7–92,3)	[19, 79, 88, 89]
Гепарин-связывающий фактор роста midkine (MDK), нг/мл	W.-W. Zhu et al., 2013	0,387–0,654	88,5 (87,0–90,0)	Нет данных	[90–92]
Белок обслуживания мини-хромосомы 6 (MCM6)	T. Zheng et al., 2014	Нет данных	71,4 (71,4)	86,2 (86,2)	[19, 93]
Тиоредоксин (TRX)	J. Li et al., 2015	Нет данных	74,7 (74,5–74,9)	83,6 (79,6–87,5)	[19, 94]
Урокиназа — рецепторный активатор плазминогена (suPAR), нг/мл	A. Chounta et al., 2015	9,56	76,0 (76,0)	90,4 (90,4)	[95]

Альфа-фетопротеин (AFP). Несмотря на то, что AFP применяется в клинической практике уже более пятидесяти лет, этот биомаркер остается наиболее широко используемым для прогноза развития и мониторинга эффективности лечения ГЦК [5, 31, 39, 40]. AFP представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 70 кДа, синтезируемый эндодермальными клетками желточного мешка зародыша, а в последующем — эмбриональными гепатоцитами [86].

Повышение уровня AFP в сыворотке крови наблюдается при дегенеративных процессах в печеночной ткани и при различных онкологических заболеваниях [17]. Анализ литературы, в которой AFP оценивается как биомаркер ГЦК у пациентов с ЦП, показал диапазон Se и Sp 41–65% и 80–94% соответственно [96, 97]. Мониторинг уровня AFP может быть использован для прогноза рецидива ГЦК после оперативного лечения [98]. Взятые по отдельности данные AFP и результаты УЗИ имеют Se ниже 50% на ранней стадии ГЦК, но при их совместном использовании Se возрастает до 65% [23, 38].

В районах с высоким уровнем распространенности ГЦК применение только серологического скрининга допустимо и оправдано [99]. Описан успешный опыт скрининга ГЦК у больных хроническим гепатитом В на Аляске при отсутствии возможности выполнения УЗИ [100]. В итоге у части больных была выявлена ГЦК в операбельной стадии и обеспечен доступ к ранней медицинской помощи [100].

Альфа-фетопротеин не является в полной мере специфическим маркером ГЦК, он также увеличивается при ЦП и опухолях легких, билиарного тракта,

желудка и поджелудочной железы [13, 39, 98]. В связи с низкой Se в последних версиях европейских и американских клинических рекомендаций по ГЦК определение AFP исключено из диагностического алгоритма [19, 26, 40].

Гликозилированная L3-изоформа альфа-фетопротеина (AFP-L3). AFP существует в виде трех гликозилированных изоформ [5, 17], каждая из которых обладает различной способностью связываться с лектином (*lens culinaris agglutinin*, LCA): AFP-L1 (не связывающая фракция), AFP-L2 (фракция слабого связывания) и AFP-L3 (фракция связывания). AFP-L1 увеличивается при хроническом гепатите и ЦП, тогда как повышение уровня AFP-L3 отмечается при опухолевых процессах в печени [17, 86]. Преобладание доли AFP-L3 в общем уровне AFP на более чем 10–15% позволяет заподозрить ГЦК на ранней стадии развития. Большое многоцентровое проспективное исследование [101] показало, что независимо от стадии ГЦК Sp AFP-L3 приближается к 92%, но Se составляет около 37%.

Ограничение широкого использования этого биомаркера в клинической практике связано с тем, что разделение общего AFP на фракции возможно только при его уровне, превышающем 30 нг/мл [99]. Соответственно, опухоли, не продуцирующие AFP, не выявляются данным методом [23]. Для преодоления этого недостатка в Японии разработан модернизированный высокочувствительный тест (*Highly sensitive assay*, hs-AFP-L3), который применим при низких значениях общего AFP в крови [82].

Дес-гамма-карбоксипротромбин (DCP, PIVKA-II).

DCP представляет собой аномальную форму протромбина, который экспрессируется в результате дефекта посттрансляционного карбоксилирования на фоне дефицита витамина К [102]. Другое название онкомаркера — протеин, индуцируемый дефицитом витамина К (PIVKA II). По функциональной сути DCP — патологический, неактивный протромбин [103]. Применение этого биомаркера с диагностической целью хорошо зарекомендовало себя в Восточной Азии, Северной Америке, Китае [104–106]. В Европе результаты более противоречивы, так как установлена зависимость его уровня от расы, этиологической причины ГЦК [17, 48, 105, 106].

Дес-гамма-карбокситротромбин может быть использован для оценки не только риска развития ГЦК, но и прогноза рецидива после хирургического лечения. В проспективном исследовании [107] использование комбинации DCP с AFP позволило заподозрить ГЦК за 2 года до верификации диагноза. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы оценить эффективность этой комбинации маркеров в диагностике ГЦК [44]. Кроме того, следует учесть, что DCP в основном изучался в азиатских странах, а опыт использования DCP в Европе остается ограниченным.

Альфа-L-фукозидаза (AFU). AFU — лизосомальный фермент, осуществляющий расщепление гликоконъюгатов, содержащих углевод, — фруктозу [54]. Показано, что ее активность выше у больных ГЦК, чем у больных хроническим гепатитом и у здоровых лиц [56, 108]. Для скрининговых исследований использование AFU малоперспективно в связи с низкой Sp [109]. Высокая активность фермента в крови выявляется не только у больных ГЦК, но также у больных диабетом, панкреатитом, гипотиреозом [53, 109]. Кроме того, средний уровень активности фермента зависит от расы и этнической предрасположенности человека [53]. Описано, что уровень AFU повышался у 85% больных, у которых в последующие 6 мес диагностировали ГЦК на основании УЗИ [13, 110]. В комбинации его с AFP Se повышается до 95%, а Sp — до 99% при обследовании пациентов с ГЦК, включая больных с продвинутой IV стадией [55, 56].

Глипикан-3 (GPC3). Глипикан-3 принадлежит к семейству глипиканов-протеогликанов. GPC3 связан с клеточной мембраной гликозилфосфатидилинозитольным якорем [3, 63]. GPC3 взаимодействует с некоторыми факторами роста [22, 63, 86], участвуя в пролиферации клеток и подавлении роста раковых клеток, что характеризует его как онкосупрессора [62, 63, 86]. Повышенный уровень GPC3 выявляется у 50–55% пациентов с ГЦК [61] и только у 5% больных с ЦП [22, 63, 111]. При ранней стадии ГЦК (0 и A — по BCLC или I — по TNM) Se и Sp определения сывороточного GPC3 составили 55,1% (47,9–66,2%) и 97,0% (95,2–98,2%) соответственно [60].

Самостоятельное значение GPC3 для диагностики ГЦК ограничено в связи с низкой Se [61, 86]. GPC3 повышен у 1/3 больных с нормальными показателями

AFP в крови [64]. Отсутствие корреляции между указанными биомаркерами дает основания для их комбинированного использования [59, 77], что повышает Se до 76% для опухолей размером менее 3 см [64, 112]. GPC3 определяется иммуногистохимически в биоптатах печени, что используется в клинике при дифференциальной диагностике ГЦК и других поражений печени [13, 113].

Белок Гольджи-73 (GP73). GP73 — специфический мембранный белок комплекса Гольджи, который обычно экспрессируется в эпителиальных клетках различных органов [114]. В печени преимущественно синтезируется в эпителии желчных путей, но при развитии воспалительного процесса его уровень в гепатоцитах резко возрастает [38, 86, 114, 115]. Развитие ГЦК также сопровождается увеличением GP73 в крови [13, 54, 86, 116]. При этом GP73 более чувствителен, чем AFP, и повышение его уровня на фоне формирования ГЦК начинается в более ранние сроки [67, 70]. Уровень GP73 не зависит от этиологических причин развития опухоли, стадии канцерогенеза, функционального состояния печени, однако он, как и многие другие биомаркеры ГЦК, не отличается высокой Sp. GP73 повышается и при других опухолях печени, включая холангиокарциному [67, 114]. Еще одним недостатком практического применения этого биомаркера является большая погрешность определения при низких концентрациях данного белка в крови [54]. Комбинация GP73 с другими маркерами, в частности с AFP и AFP-L3, повышает его диагностическое значение [87, 116, 117].

Антиген плоскоклеточного рака (SCCA) и иммунный комплекс SCCA-IgM. Антиген SCCA является членом семейства высокомолекулярных ингибиторов сериновых протеаз, который присутствует в плоском эпителии [5, 72, 86]. SCCA в большом количестве синтезируется в эпителиальных опухолях, в том числе в клетках рака шейки матки. G. Giannelli с соавт. [69] обнаружили более высокий уровень SCCA в крови больных ГЦК в сравнении с больными ЦП. При этом определение SCCA показало высокую Se, но низкую Sp [71, 72]. Возможность выявления SCCA в гистологических срезах биоптата опухоли позволила рекомендовать его в качестве иммуногистохимического маркера [118]. M. Guido и соавт. [119] обнаружили, что экспрессия SCCA в неопластических узлах намного выше, чем в регенеративных.

Альтернативным вариантом стало использование не самого антигена SCCA, а иммунного комплекса SCCA-IgM, который в норме присутствует в слущивающемся эпителии и в крови не определяется [54]. Оказалось, что выявление SCCA в составе иммунного комплекса более эффективно, чем определение свободного антигена [71, 118]. Частота выявления SCCA-IgM в крови больных хроническими гепатитами, ЦП и ГЦК составила 18, 26 и 70% соответственно [54, 120], но Sp осталась достаточно низкой (50%) [71]. Очевидно, что самостоятельного значения эти биомаркеры ГЦК иметь не будут, однако не исключено их использование в бу-

дущем как дополнительного индикатора в комбинации с высокоспецифичным компонентом [72, 118].

Остеопонтин (OPN). Остеопонтин, также известный как трансформированная протеинфосфатаза (SPP1), представляет собой интегрин-связывающий гликофосфопротеин, который продуцируется в повышенном количестве при многих типах злокачественных новообразований, включая рак легких, молочной железы, кишечника, желудка, поджелудочной железы, почек, желчного пузыря, простаты, яичников [121–123]. В физиологическом состоянии OPN синтезируется в эпителии желчных протоков, клетках Купфера, но не экспрессируется в гепатоцитах [35]. В 1999 г. обнаружена повышенная продукция OPN в очаге некроза гепатоцитов, вызванного четыреххлористым углеродом. В последующем повышение OPN описано при многих заболеваниях печени, таких как вирусные гепатиты, острая печеночная недостаточность, неалкогольная и алкогольная жировая болезнь печени [13, 76, 123]. Предполагается его ключевая роль в индукции воспаления и фиброза печени. Так, у трансгенных мышей с гиперпродукцией OPN в течение одного года развивается спонтанный фиброз печени [123, 124]. J. Kim с соавт. [74] одними из первых оценили значение OPN при ГЦК. Уровень OPN повышается задолго (от 6 мес до нескольких лет) до эпизода инструментального обнаружения ГЦК и обладает лучшей Se, чем AFP [121, 125].

Корреляции в содержании OPN и AFP у больных ГЦК нет, поэтому их комбинация рассматривается как один из вариантов эффективных предикторов риска развития ГЦК [41, 122, 126].

Аннексин A2 (Ann A2). Ann A2 представляет собой кальций-зависимый белок, связывающий фосфолипиды [19, 127]. Он экспрессируется в клетках опухолей различных тканей и играет роль в обеспечении процессов ангиогенеза, пролиферации, апоптоза, адгезии, инвазии, миграции клеток [19, 128–131]. Изменение его уровня наблюдается при многих видах рака, таких как рак кишечника, легких, желудка, молочной железы, пищевода [19, 33, 80]. Y. Sun с соавт. [79] наблюдали у больных ГЦК на стадии 0 и A по классификации BCLC увеличение уровня Ann A2 в 83,2% случаев, однако Sp данного маркера оказалась низкой и не превышала 67,5%. Комбинация Ann A2 и AFP несколько улучшила Se, но не повлияла на Sp (87,4 и 68,3% соответственно) [79]. В когорте больных ГЦК, не продуцирующей AFP, уровень Ann A2 был повышен в 78,4% случаев. В связи с этим Ann A2 рассматривается как кандидатный биомаркер для выявления ГЦК на ранней стадии болезни у пациентов с нормальными показателями AFP в сыворотке крови [5, 33, 79, 80].

Диккопф-подобный протеин-1 (DKK1). Это секретлируемый гликопротеин, ингибитор передачи внутриклеточного сигнала бета-катенинового пути [132, 133]. Участвует в клеточной пролиферации, дифференциации и апоптозе клеток [3]. Повышение его со-

держания в крови выявлено при онкологических процессах различной локализации: рак простаты, кожи, печени [86, 134]. Отличается низким уровнем Se (65%) при диагностике ГЦК, но приемлемой Sp (94%) [86]. В связи с этим на ранних стадиях ГЦК определение DKK1 более эффективно, чем AFP [13, 46, 87, 133]. Описано комбинированное использование AFP, DKK1 и DCP [87]. Это повышает Se и, соответственно, эффективность диагностики ГЦК малых размеров [77, 87, 134].

Рецептор тирозинкиназы sAxI (AXL). AXL представляет собой тирозинкиназу, которая участвует в процессах пролиферации. Экспрессируется во многих типах клеток, а его биологические эффекты зависят от тканевой принадлежности клеток. Циркулирующая в крови форма AXL имеет молекулярную массу 80 кДа и может быть обнаружена стандартными диагностическими методами [135, 136]. В функциональном плане AXL обеспечивает устойчивость раковых клеток к химиопрепаратам [137–139]. Повышенная продукция наблюдается при онкологических заболеваниях и коррелирует с плохим прогнозом [19, 89, 138–140]. В большом мультицентровом исследовании определена диагностическая ценность AXL для диагностики ГЦК на ранней стадии развития. Обнаружено, что Se AXL намного выше, чем AFP [88]. Комбинация AXL и AFP позволяет повысить Se метода при сохранении уровня Sp в пределах 90% [88].

Гепарин-связывающий фактор роста midkine (MDK). MDK имеет низкую молекулярную массу. В физиологическом состоянии наивысший уровень MDK наблюдается в середине беременности, что и послужило основанием для выбора названия белка — *midkine* (середина кинетики). Уровень MDK в сыворотке здоровых людей обычно не превышает 0,5–0,6 нг/мл, в то время как у пациентов со злокачественными заболеваниями он существенно выше [141]. Описана повышенная экспрессия MDK при опухолях различных тканей и органов, таких как нейробластома, глиобластома, рак щитовидной железы, толстого кишечника, печени, яичников, мочевого пузыря, молочной железы, легких, пищевода, желудка и простаты [141, 142]. В исследовании, проведенном на больных ГЦК и ЦП, установлено, что уровни MDK в первой когорте пациентов в среднем в 5 раз выше, чем во второй. При этом расчетная Se MDK составила 90%, а AFP — лишь 50% [141, 142].

Белок обслуживания мини-хромосомы 6 (MCM6). Это компонент белкового комплекса, поддерживающего мини-хромосому. Участвует в процессе репликации ДНК в период S-фазы клеточного цикла [143]. В единичной работе [93] показана перспективность применения MCM6 для раннего выявления ГЦК при удовлетворительном уровне Se. Однако в приведенном исследовании когорты обследуемых пациентов отличалась по клиническим критериям от указанной в классификации BCLC, поэтому значение MCM6 для

диагностики очень ранней и ранней стадий ГЦК остается открытым [93, 144, 145].

Тиоредоксин (TRX). TRX представляет собой тиолоксидоредуктазу, которая восстанавливает дисульфидные связи белков. TRX принимает участие в таких биологических процессах, как регуляция синтеза белка, апоптоз и пролиферация клеток, а также обеспечивает защиту от окислительного стресса [146]. Экспрессия TRX повышена в клетках опухоли, ее уровень коррелирует с прогнозом, что было показано при раке легких и колоректальном раке [147, 148]. J. Li с соавт. [94] сообщили о потенциальной возможности применения TRX для выявления ГЦК на ранней стадии развития. В этом исследовании Se и Sp TRX (74,9 и 87,5% соответственно) были выше, чем для AFP (68,6 и 75,2% соответственно). Комбинация TRX и AFP повышает эффективность диагностики ГЦК (Se — 81,3%; Sp — 93,4%; AUC — 0,889), поэтому их совместное использование оправдано, но требует более детального изучения [94, 149].

Урокиназа — рецепторный активатор плазминогена (suPAR). suPAR представляет собой циркулирующую форму мембранного белка — рецепторного активатора плазминогена типа урокиназы [95]. В 2015 г. suPAR была использована для оценки прогрессирования опухоли и метастазирования рака [79]. Уровень suPAR в сыворотке повышен у пациентов с раком яичников, толстой кишки и ГЦК [79, 95]. В проспективном исследовании [95] изучали частоту появления ГЦК у 267 больных хроническими гепатитами в течение 7 лет. Это исследование показало возможность использования этого маркера для прогнозирования ГЦК при Se 76,0% и Sp 90,4%. Такие результаты позволяют заключить, что suPAR обладает определенным потенциалом в качестве раннего предиктора оценки риска развития ГЦК.

Заключение

Поиск биомаркеров гепатоцеллюлярной карциномы на основе протеомики интенсивно осуществляется во всех странах мира, поскольку выявление болезни на ранней стадии значительно влияет на результаты оперативного лечения и качество жизни больного. Считается, что идеальный биомаркер гепатоцеллюлярной карциномы должен быть применим для скрининга и достигать уровня Se и Sp более 90%. Кроме этого, желательно, чтобы методика исследования была малоинвазивной и экономически обоснованной [5].

Для достижения этой цели большинство современных стратегий предусматривают использование новых молекул в комбинации с открытыми ранее [5, 19, 29]. Важно, чтобы эти маркеры не были ассоциированы между собой и не давали перекрестных диагностических результатов [5, 31]. Кроме того, предлагаются к использованию определенные диагностические алгоритмы и математические формулы,

сочетающие количественные результаты определения 2–4 биомаркеров и биохимических тестов [33, 52, 56, 87, 102, 141]. В клинических проспективных исследованиях продолжается оценка диагностической значимости алгоритмов и диагностических шкал [150–152]. Несмотря на положительный опыт использования такого подхода в Японии, Китае, Корее и других странах с высоким уровнем заболеваемости гепатоцеллюлярной карциномой, до настоящего времени основным сдерживающим фактором его внедрения в клиническую практику является стоимость анализа, которая значительно возрастает при применении комбинаций маркеров и ориентированных на них диагностических алгоритмов [153].

Финансирование исследования. Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы проведения исследований по приоритетным направлениям с участием научно-исследовательских организаций и университетов в рамках российско-французской Партнерской программы Юбера Кюрьена «Колмогоров» (контракт №14.616.21.0098; уникальный идентификационный номер проекта RFMEF161618X0098).

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература/References

1. Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63(1): 11–30, <https://doi.org/10.3322/caac.21166>.
2. Forner A., Llovet J.M., Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379(9822): 1245–1255, [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(11\)61347-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(11)61347-0).
3. Scaggiante B., Kazemi M., Pozzato G., Dapas B., Farra R., Grassi M., Zanonati F., Grassi G. Novel hepatocellular carcinoma molecules with prognostic and therapeutic potentials. *World J Gastroenterol* 2014; 20(5): 1268–1288, <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i5.1268>.
4. Bertuccio P., Turati F., Carioli G., Rodriguez T., La Vecchia C., Malvezzi M., Negri E. Global trends and predictions in hepatocellular carcinoma mortality. *J Hepatol* 2017; 67(2): 302–309, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.011>.
5. Tsuchiya N., Sawada Y., Endo I., Saito K., Uemura Y., Nakatsura T. Biomarkers for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2015; 21(37): 10573, <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i37.10573>.
6. Duarte-Salles T., Misra S., Stepien M., Plymoth A., Muller D., Overvad K., Olsen A., Tjønneland A., Baglietto L., Severi G., Boutron-Ruault M.C., Turzanski-Fortner R., Kaaks R., Boeing H., Aleksandrova K., Trichopoulou A., Lagiou P., Bamia C., Pala V., Palli D., Mattiello A., Tumino R., Naccarati A., Bueno-de-Mesquita H.B., Peeters P.H., Weiderpass E., Quirós J.R., Agudo A., Sánchez-Cantalejo E., Ardanaz E., Gavrila D., Dorransoro M., Werner M., Hemmingsson O., Ohlsson B., Sjöberg K., Wareham N.J., Khaw K.T., Bradbury K.E., Gunter M.J., Cross A.J., Riboli E., Jenab M., Hainaut P., Beretta L. Circulating osteopontin and prediction of hepatocellular carcinoma development in a large

- European population. *Cancer Prev Res (Phila)* 2016; 9(9): 758–765, <https://doi.org/10.1158/1940-6207.capr-15-0434>.
7. Bruix J., Gores G.J., Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. *Gut* 2014; 63(5): 844–855, <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-306627>.
8. *World Cancer Report 2014*. Edited by Stewart B.W., Wild C. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; Geneva, Switzerland: WHO Press; 2014.
9. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65(2): 87–108, <https://doi.org/10.3322/caac.21262>.
10. Rowe J., Ghouri Y., Mian I. Review of hepatocellular carcinoma: epidemiology, etiology, and carcinogenesis. *J Carcinog* 2017; 16(1): 1, https://doi.org/10.4103/jcar.jcar_9_16.
11. Ozakoyl A. Global epidemiology of hepatocellular carcinoma (HCC epidemiology). *J Gastrointest Cancer* 2017; 48(3): 238–240, <https://doi.org/10.1007/s12029-017-9959-0>.
12. Бредер В.В., Косырев В.Ю., Кудашкин Н.Е., Лактионов К.К. Гепатоцеллюлярный рак в Российской Федерации как социальная и медицинская проблема. *Медицинский совет* 2016; 10: 10–18. Breder V.V., Kosyrev V.Y., Kudashkin N.E., Laktionov K.K. Hepatocellular carcinoma as a social and medical problem in the Russian Federation. *Medicinskij sovet* 2016; 10: 10–18, <https://doi.org/10.21518/2079-701x-2016-10-10-18>.
13. Chávez-López M.G., Zúñiga-García V., Pérez-Carreón J.I., Avalos-Fuentes A., Escobar Y., Camacho J. Eag1 channels as potential early-stage biomarkers of hepatocellular carcinoma. *Biologics* 2016; 10: 139–148, <https://doi.org/10.2147/btt.s87402>.
14. Ette A.I., Ndububa D.A., Adekanle O., Ekrikpo U. Diagnostic utility of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxyprothrombin in nigerians with hepatocellular carcinoma. *Niger J Clin Pract* 2017; 20(10): 1267–1272, https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_398_16.
15. Кириенко В.Т., Зайцев И.А., Грушкевич В.В., Потий В.В. Скрининг и ранняя диагностика гепатоцеллюлярной карциномы. *Актуальна інфектологія* 2018; 6(2): 70–76. Kiriienko V.T., Zaitsev I.A., Hrushkevych V.V., Potii V.V. Screening and early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Aktual'naa infektologia* 2018; 6(2): 70–76, <https://doi.org/10.22141/2312-413x.6.2.2018.131091>.
16. Durand F., Antoine C., Soubrane O. Liver transplantation in France. *Liver Transpl* 2019; 25(5): 763–770, <https://doi.org/10.1002/lt.25419>.
17. Bertino G., Arditi A., Malaguarnera M., Malaguarnera G., Bertino N., Calvagno G.S. Hepatocellular carcinoma serum markers. *Semin Oncol* 2012; 39(4): 410–433, <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2012.05.001>.
18. Singal A.G., Pillai A., Tiro J. Early detection, curative treatment, and survival rates for hepatocellular carcinoma surveillance in patients with cirrhosis: a meta-analysis. *PLoS Med* 2014; 11(4): e1001624, <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001624>.
19. Reichl P., Mikulits W. Accuracy of novel diagnostic biomarkers for hepatocellular carcinoma: an update for clinicians (review). *Oncol Rep* 2016; 36(2): 613–625, <https://doi.org/10.3892/or.2016.4842>.
20. Singal A.G., Mittal S., Yerokun O.A., Ahn C., Marrero J.A., Yopp A.C., Parikh N.D., Scaglione S.J. Hepatocellular carcinoma screening associated with early tumor detection and improved survival among patients with cirrhosis in the US. *Am J Med* 2017; 130(9): 1099–1106, <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2017.01.021>.
21. White D.L., Thrift A.P., Kanwal F., Davila J., El-Serag H.B. Incidence of hepatocellular carcinoma in all 50 United States, from 2000 through 2012. *Gastroenterology* 2017; 152(4): 812–820, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.11.020>.
22. Montalbano M., Rastellini C., McGuire J.T., Prajapati J., Shirafkan A., Vento R., Cicalese L. Role of glypican-3 in the growth, migration and invasion of primary hepatocytes isolated from patients with hepatocellular carcinoma. *Cell Oncol (Dordr)* 2018; 41(2): 169–184, <https://doi.org/10.1007/s13402-017-0364-2>.
23. Abdel-Rahman O., Cheung W.Y. Population-based assessment of the national comprehensive cancer network recommendations for baseline imaging of hepatocellular carcinoma. *Med Oncol* 2019; 36(3): 26, <https://doi.org/10.1007/s12032-019-1248-2>.
24. Farvardin S., Patel J., Khambaty M., Yerokun O.A., Mok H., Tiro J.A., Yopp A.C., Parikh N.D., Marrero J.A., Singal A.G. Patient-reported barriers are associated with lower hepatocellular carcinoma surveillance rates in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2017; 65(3): 875–884, <https://doi.org/10.1002/hep.28770>.
25. Simmons O., Fetzer D., Yokoo T., Marrero J.A., Yopp A., Kono Y., Parikh N.D., Browning T., Singal A.G. Predictors of adequate ultrasound quality for hepatocellular carcinoma surveillance in patients with cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 45(1): 169–177, <https://doi.org/10.1111/apt.13841>.
26. Aubé C., Oberti F., Lonjon J., Pageaux G., Seror O., N'kontchou G., Rode A., Radenne S., Cassinotto C., Vergniol J., Bricault I., Leroy V., Ronot M., Castera L., Michalak S., Esvan M., Vilgrain V.; CHIC Group. EASL and AASLD recommendations for the diagnosis of HCC to the test of daily practice. *Liver Int* 2017; 37(10): 1515–1525, <https://doi.org/10.1111/liv.13429>.
27. Ronot M., Fouque O., Esvan M., Lebigot J., Aubé C., Vilgrain V. Comparison of the accuracy of AASLD and LI-RADS criteria for the non-invasive diagnosis of HCC smaller than 3 cm. *J Hepatol* 2018; 68(4): 715–723, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.12.014>.
28. Masuzaki R., Karp S.J., Omata M. New serum markers of hepatocellular carcinoma. *Semin Oncol* 2012; 39(4): 434–439, <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2012.05.009>.
29. Sengupta S., Parikh N.D. Biomarker development for hepatocellular carcinoma early detection: current and future perspectives. *Hepat Oncol* 2017; 4(4): 111–122, <https://doi.org/10.2217/hep-2017-0019>.
30. She S., Xiang Y., Yang M., Ding X., Liu X., Ma L., Liu Q., Liu B., Lu Z., Li S., Liu Y., Ran X., Xu X., Hu H., Hu P., Zhang D., Ren H., Yang Y. C-reactive protein is a biomarker of AFP-negative HBV-related hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2015; 47(2): 543–554, <https://doi.org/10.3892/ijo.2015.3042>.
31. Waidely E., Al-Yuobi A.R., Bashammakh A.S., El-Shahawi M.S., Leblanc R.M. Serum protein biomarkers relevant to hepatocellular carcinoma and their detection. *Analyst* 2016; 141(1): 36–44, <https://doi.org/10.1039/c5an01884f>.
32. Sia D., Llovet J.M. Liver cancer: translating ‘-omics’ results into precision medicine for hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14(10): 571–572, <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.103>.

33. Zhao S., Su G., Yang W., Yue P., Bai B., Lin Y., Zhang J., Ba Y., Luo Z., Liu X., Zhao L., Xie Y., Xu Y., Li S., Meng W., Xie X., Li X. Identification and comparison of differentiation-related proteins in hepatocellular carcinoma tissues by proteomics. *Technol Cancer Res Treat* 2017; 16(6): 1092–1101, <https://doi.org/10.1177/1533034617732426>.
34. Torres-Mena J.E., Salazar-Villegas K.N., Sánchez-Rodríguez R., López-Gabiño B., Del Pozo-Yauner L., Arellanes-Robledo J., Villa-Treviño S., Gutiérrez-Nava M.A., Pérez-Carreón J.I. Aldo-keto reductases as early biomarkers of hepatocellular carcinoma: a comparison between animal models and human HCC. *Dig Dis Sci* 2018; 63(4): 934–944, <https://doi.org/10.1007/s10620-018-4943-5>.
35. Calvaruso V., Cabibbo G., Cacciola I., Petta S., Madonia S., Bellia A., Tinè F., Distefano M., Licata A., Giannitrapani L., Prestileo T., Mazzola G., Di Rosolini M.A., Larocca L., Bertino G., Digiacomio A., Benanti F., Guameri L., Averna A., Iacobello C., Magro A., Scalisi I., Cartabellotta F., Savalli F., Barbara M., Davì A., Russello M., Scifo G., Squadrito G., Cammà C., Raimondo G., Craxì A., Di Marco V.; Rete Sicilia Selezione Terapia-HCV (RESIST-HCV). Incidence of hepatocellular carcinoma in patients with HCV-associated cirrhosis treated with direct-acting antiviral agents. *Gastroenterology* 2018; 155(2): 411–421, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.04.008>.
36. Tatarinov Iu.S. Detection of embryo-specific alpha-globulin in the blood serum of a patient with primary liver cancer. *Voprosy meditsinskoj khimii* 1964; 10: 90–91.
37. Abelev G.I. Production of embryonal serum alpha-globulin by hepatomas: review of experimental and clinical data. *Cancer Res* 1968; 28(7): 1344–1350.
38. Rich N., Singal A.G. Hepatocellular carcinoma tumour markers: current role and expectations. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2014; 28(5): 843–853, <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2014.07.018>.
39. Bai D.S., Zhang C., Chen P., Jin S.J., Jiang G.Q. The prognostic correlation of AFP level at diagnosis with pathological grade, progression, and survival of patients with hepatocellular carcinoma. *Sci Rep* 2017; 7(1): 12870, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12834-1>.
40. Gao J., Song P. Combination of triple biomarkers AFP, AFP-L3, and PIVAKII for early detection of hepatocellular carcinoma in China: expectation. *Drug Discov Ther* 2017; 11(3): 168–169, <https://doi.org/10.5582/ddt.2017.01036>.
41. Li J., Chen X., Dai M., Huang S., Chen J., Dai S. Diagnostic accuracy of osteopontin plus alpha-fetoprotein in the hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2017; 41(5): 543–553, <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2017.01.010>.
42. Shen Q., Eun J.W., Lee K., Kim H.S., Yang H.D., Kim S.Y., Lee E.K., Kim T., Kang K., Kim S., Min D.H., Oh S.N., Lee Y.J., Moon H., Ro S.W., Park W.S., Lee J.Y., Nam S.W. Barrier to autointegration factor 1, procollagen-lysin, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 3, and splicing factor 3b subunit 4 as early-stage cancer decision markers and drivers of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2018; 67(4): 1360–1377, <https://doi.org/10.1002/hep.29606>.
43. Liebman H.A., Furie B.C., Tong M.J., Blanchard R.A., Lo K.J., Lee S.D., Coleman M.S., Furie B. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1984; 310: 1427–1431, <https://doi.org/10.1056/nejm198405313102204>.
44. Poté N., Cauchy F., Albuquerque M., Voitot H., Belghiti J., Castera L., Puy H., Bedossa P., Paradis V. Performance of PIVKA-II for early hepatocellular carcinoma diagnosis and prediction of microvascular invasion. *J Hepatol* 2015; 62(4): 848–854, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.11.005>.
45. Haque S., Kumari R., Muzaffar A., Kumar U., Sharan A., Kumari B. Estimation of serum alpha fetoprotein (AFP), interleukin-6 and des-gamma-carboxyprothrombin (DCP) in case of hepatocellular carcinoma. *Bangladesh Journal of Medical Science* 2016; 15(2): 230–233, <https://doi.org/10.3329/bjms.v15i2.19602>.
46. Jang E.S., Jeong S.-H., Kim J.-W., Choi Y.S., Leissner P., Brechot C. Diagnostic performance of alpha-fetoprotein, protein induced by vitamin K absence, osteopontin, dickkopf-1 and its combinations for hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2016; 11(3): e0151069, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151069>.
47. Chen J., Wu G., Li Y. Evaluation of serum des-gamma-carboxy prothrombin for the diagnosis of hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Dis Markers* 2018 4; 2018; 8906023, <https://doi.org/10.1155/2018/8906023>.
48. Svobodova S., Karlikova M., Topolcan O., Pecen L., Pestova M., Kott O., Treska V., Slouka D., Kucera R. PIVKA-II as a potential new biomarker for hepatocellular carcinoma — a pilot study. *In Vivo* 2018; 32(6): 1551–1554, <https://doi.org/10.21873/invivo.11413>.
49. Taketa K., Sekiya C., Namiki M., Akamatsu K., Ohta Y., Endo Y., Kosaka K. Lectin-reactive profiles of alpha-fetoprotein characterizing hepatocellular carcinoma and related conditions. *Gastroenterology* 1990; 99(2): 508–518, [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(90\)91034-4](https://doi.org/10.1016/0016-5085(90)91034-4).
50. Taketa K., Endo Y., Sekiya C., Tanikawa K., Koji T., Taga H., Satomura S., Matsuura S., Kawai T., Hirai H. A collaborative study for the evaluation of lectin-reactive alpha-fetoproteins in early detection of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1993; 53(22): 5419–5423.
51. Marrero J.A., Feng Z., Wang Y., Nguyen M.H., Befeler A.S., Roberts L.R., Reddy K.R., Harnois D., Llovet J.M., Normolle D., Dalhgren J., Chia D., Lok A.S., Wagner P.D., Srivastava S., Schwartz M. Alpha-fetoprotein, des-gamma carboxyprothrombin, and lectin-bound alpha-fetoprotein in early hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2009; 137(1): 110–118, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.005>.
52. Park S.J., Jang J.Y., Jeong S.W., Cho Y.K., Lee S.H., Kim S.G., Cha S.W., Kim Y.S., Cho Y.D., Kim H.S., Kim B.S., Park S., Bang H.I. Usefulness of AFP, AFP-L3, and PIVKA-II, and their combinations in diagnosing hepatocellular carcinoma. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96(11): e5811, <https://doi.org/10.1097/md.0000000000005811>.
53. Giardina M., Matarazzo M., Varriale A., Morante R., Napoli A., Martino R. Serum alpha-L-fucosidase. A useful marker in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1992; 70(5): 1044–1048, [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19920901\)70:5<1044::aid-cnrc2820700506>3.0.co;2-u](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19920901)70:5<1044::aid-cnrc2820700506>3.0.co;2-u).
54. Сергеев М.Н., Шевалдин А.Г., Рахманова А.Г., Слепцова С.С., Ляшенко Е.А., Шаройко В.В. Молекулярные маркеры гепатоцеллюлярной карциномы. Перспективы ранней диагностики. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии 2014; 6(3): 16–23. Sergeev M.N., Shevaldin A.G., Rakhmanova A.G., Sleptsova S.S., Lyashenko E.A.,

- Sharoyko V.V. Molecular markers of hepatocellular carcinoma. perspectives of early diagnostics. *VICH-infektsiya i immunosupressii* 2014; 6(3): 16–23.
55. Trevisani F., D'Intino P.E., Morselli-Labate A.M., Mazzella G., Accogli E., Caraceni P., Domenicali M., De Notariis S., Roda E., Bernardi M. 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(4): 570–575, [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(00\)00053-2](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(00)00053-2).
56. Junna Z., Gongde C., Jinying X., Xiu Z. Serum AFU, 5'-NT and AFP as biomarkers for primary hepatocellular carcinoma diagnosis. *Open Med (Wars)* 2017; 12(1): 354–358, <https://doi.org/10.1515/med-2017-0051>.
57. Hsu H.C., Cheng W., Lai P.L. Cloning and expression of a developmentally regulated transcript MXR7 in hepatocellular carcinoma: biological significance and temporospatial distribution. *Cancer Res* 1997; 57(22): 5179–5184.
58. Capurro M., Wanless I.R., Sherman M., Deboer G., Shi W., Miyoshi E., Filmus J. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2003; 125(1): 89–97, [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(03\)00689-9](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(03)00689-9).
59. Qiao S.S., Cui Z.Q., Gong L., Han H., Chen P.C., Guo L.M., Yu X., Wei Y.H., Ha S.A., Kim J.W., Jin Z.T., Li S., Peng J.R., Leng X.S. Simultaneous measurements of serum AFP, GPC-3 and HCCR for diagnosing hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2011; 58(110–111): 1718–1724, <https://doi.org/10.5754/hge11124>.
60. Tangkijvanich P., Chanmee T., Komtong S., Mahachai V., Wisedopas N., Pothacharoen P., Kongtawelert P. Diagnostic role of serum glypican-3 in differentiating hepatocellular carcinoma from non-malignant chronic liver disease and other liver cancers. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25(1): 129–137, <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2009.05988.x>.
61. Jia X., Liu J., Gao Y., Huang Y., Du Z. Diagnosis accuracy of serum glypican-3 in patients with hepatocellular carcinoma: a systematic review with meta-analysis. *Arch Med Res* 2014; 45(7): 580–588, <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.11.002>.
62. Haruyama Y., Kataoka H. Glypican-3 is a prognostic factor and an immunotherapeutic target in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2016; 22(1): 275–283, <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i1.275>.
63. Montalbano M., Georgiadis J., Masterson A.L., McGuire J.T., Prajapati J., Shirafkan A., Rastellini C., Cicalese L. Biology and function of glypican-3 as a candidate for early cancerous transformation of hepatocytes in hepatocellular carcinoma (review). *Oncol Rep* 2017; 37(3): 1291–1300, <https://doi.org/10.3892/or.2017.5387>.
64. Xu D., Su C., Sun L., Gao Y., Li Y. Performance of serum glypican 3 in diagnosis of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Ann Hepatol* 2018; 18(1): 58–67, <https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.7863>.
65. Marrero J.A., Romano P.R., Nikolaeva O., Steel L., Mehta A., Fimmel C.J., Comunale M.A., D'Amelio A., Lok A.S., Block T.M. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2005; 43(6): 1007–1012, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2005.05.028>.
66. Hu J.S., Wu D.W., Liang S., Miao X.Y. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is sensibility and specificity for hepatocellular carcinoma of diagnosis in a hepatitis B-endemic Asian population. *Med Oncol* 2010; 27(2): 339–345, <https://doi.org/10.1007/s12032-009-9215-y>.
67. Jiao C., Cui L., Piao J., Qi Y., Yu Z. Clinical significance and expression of serum Golgi protein 73 in primary hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Ther* 2018; 14(6): 1239–1244, <https://doi.org/10.4103/0973-1482.199784>.
68. Giannelli G., Marinosci F., Trerotoli P., Volpe A., Quaranta M., Dentico P., Antonaci S. SCCA antigen combined with alpha-fetoprotein as serologic markers of HCC. *Int J Cancer* 2005; 117(3): 506–509, <https://doi.org/10.1002/ijc.21189>.
69. Giannelli G., Fransvea E., Trerotoli P., Beaugrand M., Marinosci F., Lupo L., Nkontchou G., Dentico P., Antonaci S. Clinical validation of combined serological biomarkers for improved hepatocellular carcinoma diagnosis in 961 patients. *Clin Chim Acta* 2007; 383(1–2): 147–152, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.05.014>.
70. Witjes C.D., van Aalten S.M., Steyerberg E.W., Borsboom G.J., de Man R.A., Verhoef C., Ijzermans J.N. Recently introduced biomarkers for screening of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Hepatol Int* 2013; 7(1): 59–64, <https://doi.org/10.1007/s12072-012-9374-3>.
71. Pozzan C., Cardin R., Picicocchi M., Cazzagon N., Maddalo G., Vanin V., Giacomini A., Pontisso P., Cillo U., Farinati F. Diagnostic and prognostic role of SCCA-IgM serum levels in hepatocellular carcinoma (HCC). *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29(8): 1637–1644, <https://doi.org/10.1111/jgh.12576>.
72. Liu C.H., Gil-Gómez A., Ampuero J., Romero-Gómez M. Diagnostic accuracy of SCCA and SCCA-IgM for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Liver Int* 2018; 38(10): 1820–1831, <https://doi.org/10.1111/liv.13867>.
73. Beneduce L., Castaldi F., Marino M., Quarta S., Ruvoletto M., Benvegnù L., Calabrese F., Gatta A., Pontisso P., Fassina G. Squamous cell carcinoma antigen-immunoglobulin M complexes as novel biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2005; 103(12): 2558–2565, <https://doi.org/10.1002/cncr.21106>.
74. Kim J., Ki S.S., Lee S.D., Han C.J., Kim Y.C., Park S.H., Cho S.Y., Hong Y.J., Park H.Y., Lee M., Jung H.H., Lee K.H., Jeong S.H. Elevated plasma osteopontin levels in patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2006; 101(9): 2051–2059, <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00679.x>.
75. Shang S., Plymoth A., Ge S., Feng Z., Rosen H.R., Sangrajang S., Hainaut P., Marrero J.A., Beretta L. Identification of osteopontin as a novel marker for early hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; 55(2): 483–490, <https://doi.org/10.1002/hep.24703>.
76. Wan H.G., Xu H., Gu Y.M., Wang H., Xu W., Zu M.H. Comparison osteopontin vs AFP for the diagnosis of HCC: a meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2014; 38(6): 706–714, <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2014.06.008>.
77. Ge T., Shen Q., Wang N., Zhang Y., Ge Z., Chu W., Lv X., Zhao F., Zhao W., Fan J., Qin W. Diagnostic values of alpha-fetoprotein, dickkopf-1, and osteopontin for hepatocellular carcinoma. *Med Oncol* 2015; 32(3): 59, <https://doi.org/10.1007/s12032-014-0367-z>.
78. Ji N.Y., Park M.Y., Kang Y.H., Lee C.I., Kim D.G., Yeom Y.I., Jang Y.J., Myung P.K., Kim J.W., Lee H.G., Kim J.W., Lee K., Song E.Y. Evaluation of annexin II as a potential serum marker for hepatocellular carcinoma using a

developed sandwich ELISA method. *Int J Mol Med* 2009; 24(6): 765–771, <https://doi.org/10.3892/ijmm.00000290>.

79. Sun Y., Gao G., Cai J., Wang Y., Qu X., He L., Liu F., Zhang Y., Lin K., Ma S., Yang X., Qian X., Zhao X. Annexin A2 is a discriminative serological candidate in early hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2013; 34(3): 595–604, <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs372>.

80. Shaker M.K., Abdel Fattah H.I., Sabbour G.S., Montasser I.F., Abdelhakam S.M., El Hadidy E., Yousry R., El Dorry A.K. Annexin A2 as a biomarker for hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. *World J Hepatol* 2017; 9(9): 469–476, <https://doi.org/10.4254/wjh.v9.i9.469>.

81. Toyoda H., Kumada T., Tada T., Kaneoka Y., Maeda A., Kanke F., Satomura S. Clinical utility of highly sensitive lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma patients with alpha-fetoprotein <20 ng/ml. *Cancer Sci* 2011; 102(5): 1025–1031, <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2011.01875.x>.

82. Oda K., Ido A., Tamai T., Matsushita M., Kumagai K., Mawatari S., Saishoji A., Kure T., Ohno K., Toyokura E., Imanaka D., Moriuchi A., Uto H., Oketani M., Hashiguchi T., Tsubouchi H. Highly sensitive lens culinaris agglutinin-reactive α -fetoprotein is useful for early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease. *Oncol Rep* 2011; 26(5): 1227–1233, <https://doi.org/10.3892/or.2011.1425>.

83. Tung E.K., Ng I.O. Significance of serum DKK1 as a diagnostic biomarker in hepatocellular carcinoma. *Future Oncol* 2012; 8(12): 1525–1528, <https://doi.org/10.2217/fon.12.147>.

84. Shen Q., Fan J., Yang X.R., Tan Y., Zhao W., Xu Y., Wang N., Niu Y., Wu Z., Zhou J., Qiu S.J., Shi Y.H., Yu B., Tang N., Chu W., Wang M., Wu J., Zhang Z., Yang S., Gu J., Wang H., Qin W. Serum DKK1 as a protein biomarker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a large-scale, multicentre study. *Lancet Oncol* 2012; 13(8): 817–826, [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(12\)70233-4](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(12)70233-4).

85. Zhang J., Zhao Y., Yang Q. Sensitivity and specificity of dickkopf-1 protein in serum for diagnosing hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Int J Biol Markers* 2014; 29(4): 403–410, <https://doi.org/10.5301/ijbm.5000101>.

86. Van Hees S., Michielsen P., Vanwollegem T. Circulating predictive and diagnostic biomarkers for hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2016; 22(37): 8271–8282, <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i37.8271>.

87. Qin Q.F., Weng J., Xu G.X., Chen C.M., Jia C.K. Combination of serum tumor markers dickkopf-1, DCP and AFP for the diagnosis of primary hepatocellular carcinoma. *Asian Pac J Trop Med* 2017; 10(4): 409–413, <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.03.016>.

88. Reichl P., Fang M., Starlinger P., Staufer K., Nenutil R., Muller P., Greplova K., Valik D., Dooley S., Brostjan C., Gruenberger T., Shen J., Man K., Trauner M., Yu J., Gao C.F., Mikulits W. Multicenter analysis of soluble Axl reveals diagnostic value for very early stage hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2015; 137(2): 385–394, <https://doi.org/10.1002/ijc.29394>.

89. Dengler M., Staufer K., Huber H., Stauber R., Bantel H., Weiss K.H., Starlinger P., Pock H., Klöters-Plachky P., Gotthardt D.N., Rauch P., Lackner C., Stift J., Brostjan C., Gruenberger T., Kumada T., Toyoda H., Tada T., Weiss T.S., Trauner M., Mikulits W. Soluble Axl is an

accurate biomarker of cirrhosis and hepatocellular carcinoma development: results from a large scale multicenter analysis. *Oncotarget* 2017; 8(28): 46234–46248, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17598>.

90. Zhu W.-W., Guo J.-J., Guo L., Jia H.L., Zhu M., Zhang J.B., Loffredo C.A., Forgues M., Huang H., Xing X.J., Ren N., Dong Q.Z., Zhou H.J., Ren Z.G., Zhao N.Q., Wang X.W., Tang Z.Y., Qin L.X., Ye Q.H. Evaluation of midkine as a diagnostic serum biomarker in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2013; 19(14): 3944–3954, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-12-3363>.

91. Shaheen K.Y., Abdel-Mageed A.I., Safwat E., AlBreedy A.M. The value of serum midkine level in diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Int J Hepatol* 2015; 2015: 146389, <https://doi.org/10.1155/2015/146389>.

92. Vongsuvan R., van Der Poorten D., Iseli T., Strasser S.I., McCaughan G.W., George J. Midkine increases diagnostic yield in AFP negative and NASH-related hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2016; 11(5): e0155800, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155800>.

93. Zheng T., Chen M., Han S., Zhang L., Bai Y., Fang X., Ding S.Z., Yang Y. Plasma minichromosome maintenance complex component 6 is a novel biomarker for hepatocellular carcinoma patients. *Hepatol Res* 2014; 44(13): 1347–1356, <https://doi.org/10.1111/hepr.12303>.

94. Li J., Cheng Z.J., Liu Y., Yan Z.L., Wang K., Wu D., Wan X.Y., Xia Y., Lau W.Y., Wu M.C., Shen F. Serum thioredoxin is a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6(11): 9551–9563, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3314>.

95. Chounta A., Ellinas C., Tzanetakou V., Pliarhopoulou F., Mplani V., Oikonomou A., Leventogiannis K., Giamarellos-Bourboulis E.J. Serum soluble urokinase plasminogen activator receptor as a screening test for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2015; 35(2): 601–607, <https://doi.org/10.1111/liv.12705>.

96. Gupta S., Bent S., Kohlwes J. Test characteristics of alpha-fetoprotein for detecting hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C. A systematic review and critical analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139(1): 46–50, <https://doi.org/10.7326/0003-4819-139-1-200307010-00012>.

97. Yang J.D., Dai J., Singal A.G., Gopal P., Addissie B.D., Nguyen M.H., Befeler A.S., Reddy K.R., Schwartz M., Harnois D.M., Yamada H., Gores G.J., Feng Z., Marrero J.A., Roberts L.R. Improved performance of serum alpha-fetoprotein for hepatocellular carcinoma diagnosis in HCV cirrhosis with normal alanine transaminase. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2017; 26(7): 1085–1092, <https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-16-0747>.

98. Sauzay C., Petit A., Bourgeois A.M., Barbare J.C., Chauffert B., Galmiche A., Houesson A. Alpha-foetoprotein (AFP): a multi-purpose marker in hepatocellular carcinoma. *Clin Chim Acta* 2016; 463: 39–44, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.10.006>.

99. Yen C.W., Kuo Y.H., Wang J.H., Chang K.C., Kee K.M., Hung S.F., Chen Y., Tsai L.S., Chen S.C., Hung C.H., Lu S.N. Did AFP-L3 save ultrasonography in community screening? *Kaohsiung J Med Sci* 2018; 34(10): 583–587, <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2018.05.005>.

100. McMahon B.J., Bulkow L., Harpster A., Snowball M., Lanier A., Sacco F., Dunaway E., Williams J. Screening for hepatocellular carcinoma in Alaska natives infected with chronic hepatitis B: a 16-year population-based study.

- Hepatology* 2000; 32(4 Pt 1): 842–846, <https://doi.org/10.1053/jhep.2000.17914>.
- 101.** Sterling R.K., Jeffers L., Gordon F., Venook A.P., Reddy K.R., Satomura S., Kanke F., Schwartz M.E., Sherman M. 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(1): 104–113, <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2008.08.041>.
- 102.** Unić A., Derek L., Duvnjak M., Patrlj L., Rakić M., Kujundžić M., Renjić V., Štoković N., Dinjar P., Jukić A., Grgurević I. Diagnostic specificity and sensitivity of PIVKAlI, GP3, CSTB, SCCA1 and HGF for the diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Ann Clin Biochem* 2018; 55(3): 355–362, <https://doi.org/10.1177/0004563217726808>.
- 103.** Hemken P.M., Sokoll L.J., Yang X., Dai J., Elliott D., Gawel S.H., Lucht M., Feng Z., Marrero J.A., Srivastava S., Chan D.W., Davis G.J. Validation of a novel model for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Clin Proteomics* 2019; 16: 2, <https://doi.org/10.1186/s12014-018-9222-0>.
- 104.** Yamashiki N., Sugawara Y., Tamura S., Kaneko J., Yoshida H., Aoki T., Hasegawa K., Akahane M., Ohtomo K., Fukayama M., Koike K., Kokudo N. Diagnostic accuracy of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin in screening for hepatocellular carcinoma in liver transplant candidates. *Hepatal Res* 2011; 41(12): 1199–1207, <https://doi.org/10.1111/j.1872-034x.2011.00871.x>.
- 105.** Best J., Bilgi H., Heider D., Schotten C., Manka P., Bedreli S., Gorray M., Ertle J., van Grunsven L.A., Dechene A. The GALAD scoring algorithm based on AFP, AFP-L3, and DCP significantly improves detection of BCLC early stage hepatocellular carcinoma. *Z Gastroenterol* 2016; 54(12): 1296–1305, <https://doi.org/10.1055/s-0042-119529>.
- 106.** Wu J., Xiang Z., Bai L., He L., Tan L., Hu M., Ren Y. Diagnostic value of serum PIVKA-II levels for BCLC early hepatocellular carcinoma and correlation with HBV DNA. *Cancer Biomark* 2018; 23(2): 235–242, <https://doi.org/10.3233/cbm-181402>.
- 107.** Yu R., Tan Z., Xiang X., Dan Y., Deng G. Effectiveness of PIVKA-II in the detection of hepatocellular carcinoma based on real-world clinical data. *BMC Cancer* 2017; 17(1): 608, <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3609-6>.
- 108.** Shuang Z., Mao Y., Lin G., Wang J., Huang X., Chen J., Duan F., Li S. Alpha-L-fucosidase serves as a prognostic indicator for intrahepatic cholangiocarcinoma and inhibits its invasion capacity. *Biomed Res Int* 2018; 2018: 8182575, <https://doi.org/10.1155/2018/8182575>.
- 109.** López Vivancos J., Segura R.M., Oliva G., Vives L., Pascual C., Vilaseca J. Value of the serum measurement of alpha-L-fucosidase in the diagnosis of hepatocarcinoma. *Med Clin (Barc)* 1989; 93(7): 241–243.
- 110.** Ishizuka H., Nakayama T., Matsuoka S., Gotoh I., Ogawa M., Suzuki K., Tanaka N., Tsubaki K., Ohkubo H., Arakawa Y., Okano T. Prediction of the development of hepato-cellular-carcinoma in patients with liver cirrhosis by the serial determinations of serum alpha-L-fucosidase activity. *Intern Med* 1999; 38(12): 927–931, <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.38.927>.
- 111.** Gotoh M., Nakatani T., Masuda T., Mizuguchi Y., Sakamoto M., Tsuchiya R., Kato H., Furuta K. Prediction of invasive activities in hepatocellular carcinomas with special reference to alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxyprothrombin. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33(10): 522–526, <https://doi.org/10.1093/jcco/hyg096>.
- 112.** Attallah A.M., El-Far M., Omran M.M., Abdelrazek M.A., Attallah A.A., Saeed A.M., Farid K. GPC-HCC model: a combination of glypican-3 with other routine parameters improves the diagnostic efficacy in hepatocellular carcinoma. *Tumor Biol* 2016; 37(9): 12571–12577, <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5127-6>.
- 113.** Majeed S., Mushtaq S., Azam M., Akhtar N., Hussain M., Loya A. Diagnostic accuracy of glypican-3 in differentiating hepatocellular carcinoma from metastatic liver tumours. *J Pak Med Assoc* 2018; 68(7): 1029–1031.
- 114.** Liang R., Liu Z., Piao X., Zuo M., Zhang J., Liu Z., Li Y., Lin Y. Research progress on GP73 in malignant tumors. *Onco Targets Ther* 2018; 11: 7417–7421, <https://doi.org/10.2147/ott.s181239>.
- 115.** Ismail M.M., Morsi H.K., Abdulateef N.A., Noaman M.K., Abou El-Ella G.A. Evaluation of prothrombin induced by vitamin K absence, macrophage migration inhibitory factor and Golgi protein-73 versus alpha fetoprotein for hepatocellular carcinoma diagnosis and surveillance. *Scand J Clin Lab Invest* 2017; 77(3): 175–183, <https://doi.org/10.1080/00365513.2017.1286684>.
- 116.** Farag R.M.A., Al Ayobi D., Alsaleh K.A., Kwon H.J., EL-Ansary A., Dawoud E.A. Studying the impact of Golgi protein 73 serving as a candidate biomarker in early diagnosis for hepatocellular carcinoma among Saudi patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2019; 20(1): 215–220, <https://doi.org/10.31557/apjcp.2019.20.1.215>.
- 117.** Xu W.J., Guo B.L., Han Y.G., Shi L., Ma W.S. Diagnostic value of alpha-fetoprotein-L3 and Golgi protein 73 in hepatocellular carcinomas with low AFP levels. *Tumor Biol* 2014; 35(12): 12069–12074, <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2506-8>.
- 118.** Guarino M., Di Costanzo G.G., Gallotta A., Tortora R., Paneghetti L., Auriemma F., Tuccillo C., Fassina G., Caporaso N., Morisco F. Circulating SCCA-IgM complex is a useful biomarker to predict the outcome of therapy in hepatocellular carcinoma patients. *Scand J Clin Lab Invest* 2017; 77(6): 448–453, <https://doi.org/10.1080/00365513.2017.1336569>.
- 119.** Guido M., Roskams T., Pontisso P., Fassan M., Thung S.N., Giacomelli L., Sergio A., Farinati F., Cillo U., Rugge M. Squamous cell carcinoma antigen in human liver carcinogenesis. *J Clin Pathol* 2008; 61(4): 445–447, <https://doi.org/10.1136/jcp.2007.051383>.
- 120.** Anwar S.L., Lehmann U. MicroRNAs: emerging novel clinical biomarkers for hepatocellular carcinomas. *J Clin Med* 2015; 4(8): 1631–1650, <https://doi.org/10.3390/jcm4081631>.
- 121.** Cabiati M., Gaggini M., Cesare M.M., Caselli C., De Simone P., Filippini F., Basta G., Gastaldelli A., Del Ry S. Osteopontin in hepatocellular carcinoma: a possible biomarker for diagnosis and follow-up. *Cytokine* 2017; 99: 59–65, <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.07.004>.
- 122.** Hao C., Cui Y., Owen S., Li W., Cheng S., Jiang W.G. Human osteopontin: potential clinical applications in cancer (review). *Int J Mol Med* 2017; 39(6): 1327–1337, <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.2964>.
- 123.** Zhao H., Chen Q., Alam A., Cui J., Suen K.C., Soo A.P., Eguchi S., Gu J., Ma D. The role of osteopontin in the progression of solid organ tumour. *Cell Death Dis* 2018; 9(3): 356, <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0391-6>.
- 124.** Bruha R., Jachymova M., Petryl J., Dvorak K.,

Lenicek M., Urbanek P., Svestka T., Vitek L. Osteopontin: a non-invasive parameter of portal hypertension and prognostic marker of cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2016; 22(12): 3441–3450, <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i12.3441>.

125. Fouad S.A., Mohamed N.A.G., Fawzy M.W., Moustafa D.A. Plasma osteopontin level in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Hepat Mon* 2015; 15(9): e30753, <https://doi.org/10.5812/hepatmon.30753>.

126. Yahya S.M.M., Fathy S.A., El-Khayat Z.A., El-Toukhy S.E., Hamed A.R., Hegazy M.G.A., Nabih H.K. Possible role of microRNA-122 in modulating multidrug resistance of hepatocellular carcinoma. *Indian J Clin Biochem* 2018; 33(1): 21–30, <https://doi.org/10.1007/s12291-017-0651-8>.

127. Lokman N.A., Ween M.P., Oehler M.K., Ricciardelli C. The role of annexin A2 in tumorigenesis and cancer progression. *Cancer Microenviron* 2011; 4(2): 199–208, <https://doi.org/10.1007/s12307-011-0064-9>.

128. Tressler R.J., Updyke T.V., Yeatman T., Nicolson G.L. Extracellular annexin II is associated with divalent cation-dependent tumor cell-endothelial cell adhesion of metastatic RAW117 large-cell lymphoma cells. *J Cell Biochem* 1993; 53(3): 265–276, <https://doi.org/10.1002/jcb.240530311>.

129. Díaz V.M., Hurtado M., Thomson T.M., Reventós J., Paciucci R. Specific interaction of tissue-type plasminogen activator (t-PA) with annexin II on the membrane of pancreatic cancer cells activates plasminogen and promotes invasion in vitro. *Gut* 2004; 53(7): 993–1000, <https://doi.org/10.1136/gut.2003.026831>.

130. Sharma M.R., Koltowski L., Ownbey R.T., Tuszyński G.P., Sharma M.C. Angiogenesis-associated protein annexin II in breast cancer: selective expression in invasive breast cancer and contribution to tumor invasion and progression. *Exp Mol Pathol* 2006; 81(2): 146–156, <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2006.03.003>.

131. Shiozawa Y., Havens A.M., Jung Y., Ziegler A.M., Pedersen E.A., Wang J., Wang J., Lu G., Roodman G.D., Loberg R.D., Pienta K.J., Taichman R.S. Annexin II/annexin II receptor axis regulates adhesion, migration, homing, and growth of prostate cancer. *J Cell Biochem* 2008; 105(2): 370–380, <https://doi.org/10.1002/jcb.21835>.

132. Lozada M.E., Chaiteerakij R., Roberts L.R. Screening for hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma: can biomarkers replace imaging? *Curr Hepatol Rep* 2015; 14(2): 128–138, <https://doi.org/10.1007/s11901-015-0261-y>.

133. Li J., Gong W., Li X., Wan R., Mo F., Zhang Z., Huang P., Hu Z., Lai Z., Lu X., Zhao Y. Recent progress of Wnt pathway inhibitor dickkopf-1 in liver cancer. *J Nanosci Nanotechnol* 2018; 18(8): 5192–5206, <https://doi.org/10.1166/jnn.2018.14636>.

134. Zhou Y., Li W., Tseng Y., Zhang J., Liu J. Developing slow-off dickkopf-1 aptamers for early-diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Talanta* 2019; 194: 422–429, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.014>.

135. Pinato D.J., Mauri F.A., Lloyd T., Vaira V., Casadio C., Boldorini R.L., Sharma R. The expression of Axl receptor tyrosine kinase influences the tumour phenotype and clinical outcome of patients with malignant pleural mesothelioma. *Br J Cancer* 2013; 108(3): 621–628, <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.9>.

136. Axelrod H., Pienta K.J. Axl as a mediator of cellular growth and survival. *Oncotarget* 2014; 5(19): 8818–8852, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2422>.

137. Byers L.A., Diao L., Wang J., Saintigny P., Girard L., Peyton M., Shen L., Fan Y., Giri U., Tumula P.K., Nilsson M.B., Gudikote J., Tran H., Cardnell R.J., Bearss D.J., Warner S.L., Foulks J.M., Kanner S.B., Gandhi V., Krett N., Rosen S.T., Kim E.S., Herbst R.S., Blumenschein G.R., Lee J.J., Lippman S.M., Ang K.K., Mills G.B., Hong W.K., Weinstein J.N., Wistuba I.I., Coombes K.R., Minna J.D., Heymach J.V. An epithelial-mesenchymal transition gene signature predicts resistance to EGFR and PI3K inhibitors and identifies Axl as a therapeutic target for overcoming EGFR inhibitor resistance. *Clin Cancer Res* 2013; 19(1): 279–290, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-12-1558>.

138. D'Alfonso T.M., Hannah J., Chen Z., Liu Y., Zhou P., Shin S.J. Axl receptor tyrosine kinase expression in breast cancer. *J Clin Pathol* 2014; 67(8): 690–696, <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2013-202161>.

139. Dunne P.D., McArt D.G., Blayney J.K., Kalimutho M., Greer S., Wang T., Srivastava S., Ong C.W., Arthur K., Loughrey M., Redmond K., Longley D.B., Salto-Tellez M., Johnston P.G., Van Schaeuybroeck S. AXL is a key regulator of inherent and chemotherapy-induced invasion and predicts a poor clinical outcome in early-stage colon cancer. *Clin Cancer Res* 2014; 20(1): 164–175, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-13-1354>.

140. Paccez J.D., Vogelsang M., Parker M.I., Zerbini L.F. The receptor tyrosine kinase Axl in cancer: biological functions and therapeutic implications. *Int J Cancer* 2014; 134(5): 1024–1033, <https://doi.org/10.1002/ijc.28246>.

141. Hodeib H., ELshora O., Selim A., Sabry N.M., El-Ashry H.M. Serum midkine and osteopontin levels as diagnostic biomarkers of hepatocellular carcinoma. *Electron Physician* 2017; 9(1): 3492–3498, <https://doi.org/10.19082/3492>.

142. Mashaly A.H., Anwar R., Ebrahim M.A., Eissa L.A., El Shishtawy M.M. Diagnostic and prognostic value of talin-1 and midkine as tumor markers in hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2018; 19(6): 1503–1508.

143. Lindner K., Gregán J., Montgomery S., Kearsey S.E. Essential role of MCM proteins in premeiotic DNA replication. *Mol Biol Cell* 2002; 13(2): 435–444, <https://doi.org/10.1091/mbc.01-11-0537>.

144. Liu M., Hu Q., Tu M., Wang X., Yang Z., Yang G., Luo R. MCM6 promotes metastasis of hepatocellular carcinoma via MEK/ERK pathway and serves as a novel serum biomarker for early recurrence. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; 37(1): 10, <https://doi.org/10.1186/s13046-017-0669-z>.

145. Liu Z., Li J., Chen J., Shan Q., Dai H., Xie H., Zhou L., Xu X., Zheng S. MCM family in HCC: MCM6 indicates adverse tumor features and poor outcomes and promotes S/G2 cell cycle progression. *BMC Cancer* 2018; 18(1): 200, <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4056-8>.

146. Laurent T.C., Moore E.C., Reichard P. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleotides. IV. Isolation and characterization of thioredoxin, the hydrogen donor from *Escherichia coli* B. *J Biol Chem* 1964; 239: 3436–3444.

147. Mollbrink A., Jawad R., Vlamis-Gardikas A., Edenvik P., Isaksson B., Danielsson O., Stål P., Fernandes A.P. Expression of thioredoxins and glutaredoxins in human hepatocellular carcinoma: correlation to cell proliferation, tumor size and metabolic syndrome. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2014; 27(2): 169–183, <https://doi.org/10.1177/039463201402700204>.

148. Gunes A., Bagirsakci E., Iscan E., Cakan-Akdogan G., Aykutlu U., Senturk S., Ozhan G., Erdal E., Nart D., Barbet F.Y.,

- Atabay N. Thioredoxin interacting protein promotes invasion in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2018; 9(96): 36849–36866, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26402>.
- 149.** Cho S.Y., Kim S., Son M.J., Rou W.S., Kim S.H., Eun H.S., Lee B.S. Clinical significance of the thioredoxin system and thioredoxin-domain-containing protein family in hepatocellular carcinoma. *Dig Dis Sci* 2019; 64(1): 123–136, <https://doi.org/10.1007/s10620-018-5307-x>.
- 150.** Fox R., Berhane S., Teng M., Cox T., Tada T., Toyoda H., Kumada T., Kagebayashi C., Satomura S., Johnson P.J. Biomarker-based prognosis in hepatocellular carcinoma: validation and extension of the BALAD model. *Br J Cancer* 2014; 110(8): 2090–2098, <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.130>.
- 151.** Johnson P.J., Pirrie S.J., Cox T.F., Berhane S., Teng M., Palmer D., Morse J., Hull D., Patman G., Kagebayashi C., Hussain S., Graham J., Reeves H., Satomura S. The detection of hepatocellular carcinoma using a prospectively developed and validated model based on serological biomarkers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; 23(1): 144–153, <https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-13-0870>.
- 152.** Berhane S., Toyoda H., Tada T., Kumada T., Kagebayashi C., Satomura S., Schweitzer N., Vogel A., Manns M.P., Benckert J., Berg T., Ebker M., Best J., Dechêne A., Gerken G., Schlaak J.F., Weinmann A., Wörns M.A., Galle P., Yeo W., Mo F., Chan S.L., Reeves H., Cox T., Johnson P. Role of the GALAD and BALAD-2 serologic models in diagnosis of hepatocellular carcinoma and prediction of survival in patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14(6): 875–886, <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.12.042>.
- 153.** Kotha S., Neong S., Patel K. Serum biomarkers for diagnosis and monitoring viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Expert Rev Mol Diagn* 2018; 18(8): 713–722, <https://doi.org/10.1080/14737159.2018.1496020>.