

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA  
CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO QUIRÚRGICAS**

**VALOR DIAGNÓSTICO DE LA  $\alpha$ -FETOPROTEÍNA EN  
EL CARCINOMA HEPATOCELULAR**

**Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas**

**Dr. Julio César Hernández Perera**

**La Habana**

**2009**



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA  
CENTRO DE INVESTIGACIONES MÉDICO QUIRÚRGICAS**

**VALOR DIAGNÓSTICO DE LA  $\alpha$ -FETOPROTEÍNA EN  
EL CARCINOMA HEPATOCELULAR**

**Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas**

**Autor: Dr. Julio César Hernández Perera**

**Tutor: Dr.C. Carlos Gutiérrez Gutiérrez**

**Asesores: Dra. Irma Fernández Maderos**

**Dr.C. Eduardo Fermín Hernández**

**La Habana**

**2009**



## **AGRADECIMIENTOS**

Me siento en el deber de mencionar a cada una de las personas, que de una manera directa o indirecta, han intervenido desde el primer momento en que se emprendió esta investigación, colmada de esfuerzo, dedicación y rigor científico. Con todos me siento comprometido y la relación de sus nombres se haría interminable, con el riesgo adicional de olvidar a alguien o algunos. Sin aludirlos personalmente, hago extensiva mi gratitud a todos los que me ayudaron material y espiritualmente.

No obstante, hago un agradecimiento diferenciado para el Dr. Carlos Gutiérrez, quien aceptó ser el tutor riguroso y exigente que quería, la Dra. Marcia Samada, por ser amiga y con quien he compartido la tensión del trabajo diario, la Dra. Irma Fernández, por su ayuda con la bioestadística, y a todos los profesores que me dieron ideas y sugerencias para lograr lo que en estos momentos presento.

Sería inadmisibile que no hiciera un agradecimiento muy especial para mis padres, por haberme dado la vida y ser los primeros en encauzar mi formación personal y profesional, a mi esposa e hijos, por soportar tantas privaciones, alentarme y ser inspiración perenne para la vida.

A todos en general.

Muchas gracias.

Dr. Julio César Hernández Perera



## DEDICATORIA

A mi abuela y mis padres

A mi querida esposa Yirka,

A mis maravillosos hijos Denise y Julito

A todos mis pacientes





## SÍNTESIS

En el mundo el hepatocarcinoma (CHC) es la quinta a sexta neoplasia más frecuente. En Cuba se avizora un incremento de su incidencia como consecuencia del envejecimiento poblacional y el incremento de la morbi-mortalidad por la cirrosis hepática (CH). En este trabajo se empleó la  $\alpha$ -fetoproteína (AFP) por técnica SUMA<sup>®</sup> como marcador tumoral en 189 pacientes cirróticos evaluados en el CIMEQ, entre enero de 1999 y septiembre de 2005. Los principales factores que se asociaron a una elevación de la AFP fueron el CHC, la cirrosis viral y la edad de 50 años o más. Presentaron CHC 22 enfermos (11,64%), quienes tuvieron una edad promedio de 55 años y el sexo predominante fue el masculino (86,36%). La causa más importante asociada a esta enfermedad maligna fue la CH viral, principalmente el virus de la hepatitis C. Este marcador tumoral mostró una sensibilidad y especificidad de 68,18% y 92,17%, respectivamente. Al combinarlo con la ecografía abdominal se logró incrementar la sensibilidad a 86,36% y la especificidad a 100%. Los niveles elevados de AFP se asociaron a factores de mal pronóstico tumoral. Se puede concluir que la AFP tuvo valor en el diagnóstico del CHC. Este trabajo es el primero de su tipo que se realiza en Cuba, y permite el diseño de una estrategia factible para la pesquisa, vigilancia y pronóstico del CHC, al disponer de una amplia red de laboratorios SUMA<sup>®</sup>, con un bajo costo por cada determinación.



## GLOSARIO DE ABREVIATURAS EMPLEADAS EN LA TESIS

- **AASLD:** Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas (del inglés American Association for the Study of Liver Disease)
- **ADN:** ácido dexosirribonucleico
- **AFB<sub>1</sub>:** aflatoxina B<sub>1</sub>
- **AFP:**  $\alpha$ -fetoproteína
- **anti-VHC:** anticuerpo contra el virus de la hepatitis C
- **CH:** cirrosis hepática
- **CHC:** carcinoma hepatocelular, hepatocarcinoma
- **CIMEQ:** Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas
- **DE:** desviación estándar
- **DTN:** defecto del tubo neural
- **EASL:** Asociación Europea para el Estudio del Hígado (del inglés European Association for Study of the Liver)
- **EEUU:** Estados Unidos de Norteamérica
- **EHNA:** enfermedad hepática no alcohólica
- **HH:** hemocromatosis hereditaria
- **IC:** intervalo de confianza
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud
- **OR:** probabilidad de productos cruzados (del inglés odds ratio)
- **RNM:** resonancia nuclear magnética

- **ROC:** características operacionales del receptor (del inglés: receiver operating characteristic)
- **SUMA:** Sistema Ultramicro Analítico
- **TC:** tomografía computarizada helicoidal
- **TH:** trasplante hepático
- **UMELISA<sup>®</sup> AFP:** reactivo empleado por el laboratorio SUMA<sup>®</sup> para la determinación de  $\alpha$ -fetoproteína sérica
- **US:** ultrasonido, ecografía
- **VHB:** virus de la hepatitis B
- **VHC:** virus de la hepatitis C
- **VIH:** virus de inmunodeficiencia humana
- **VPN:** valor predictivo negativo
- **VPP:** valor predictivo positivo

## ÍNDICE

	<b><u>Pág.</u></b>
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
I.1. Contexto histórico del carcinoma hepatocelular	3
I.2. Breve recuento histórico relacionado con la $\alpha$ -fetoproteína	4
I.3. Situación actual del carcinoma hepatocelular en el mundo	5
I.4. Situación actual en Cuba	6
I.5. Enunciación del problema	8
I.6. Planteamiento de la hipótesis	9
I.7. Campo de aplicación de la hipótesis	10
I.8. Objetivos	10
I.8.1. Objetivo general	10
I.8.2. Objetivos específicos	10
I.9. Actualidad y novedad científica de los resultados	11
I.10. Importancia científica y social de los resultados	11
I.11. Nivel de introducción en la práctica	12
<b>CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO</b>	<b>13</b>
II.1. Factores de riesgo para el desarrollo del carcinoma hepatocelular	15
II.1.1. La cirrosis hepática	15
II.1.2. El virus de la hepatitis B	15
II.1.3. El virus de la hepatitis C	16
II.1.4. El alcoholismo	17
II.1.5. La enfermedad hepática no alcohólica	18
II.1.6. La sobrecarga de hierro	18

**Pág.**

II.1.7. La aflatoxina B <sub>1</sub>	18
II.1.8. El sexo masculino	19
II.2. Mecanismos moleculares relacionados con la hepatocarcinogénesis	19
II.3. Diagnóstico del CHC	21
II.3.1. Aspectos clínicos	22
II.3.2. Criterios diagnósticos del carcinoma hepatocelular	22
II.3.3. Pesquisa y vigilancia del CHC	23
II.3.3.1. El dilema del costo-beneficio de los programas de pesquisa del carcinoma hepatocelular	24
II.3.4. Utilidad del ultrasonido en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular	25
II.3.5. La $\alpha$ -fetoproteína	26
II.3.5.1. La $\alpha$ -fetoproteína como marcador tumoral	26
II.3.5.2. La utilidad de la $\alpha$ -fetoproteína como factor de riesgo y pronóstico para el CHC	27
II.3.5.3. Nuevo futuro vinculado con la $\alpha$ -fetoproteína	28
II.4. Laboratorio SUMA <sup>®</sup>	28
II.4.1. Fundamento de estudio con UMELISA <sup>®</sup> AFP	30

---

**CAPÍTULO 3. DISEÑO METODOLÓGICO****31**

---

III.1. Tipo de investigación según las posibilidades de aplicación de los resultados	33
III.2. Tipo de estudio	33
III.3. Período y lugar donde se desarrolla la investigación	33
III.4. Pacientes estudiados	33
III.4.1. Criterios de exclusión	33

	<b><u>Pág.</u></b>
III.4.2. Distribución según sexo y edad	34
III.5. Métodos	35
III.5.1. Obtención de muestras y registro de datos	35
III.5.2. Variables estudiadas	36
III.5.3. Procedimientos	37
III.5.3.1. Recolección de los datos clínicos (entrevista y examen físico)	37
III.5.3.2. Realización del ultrasonido y la tomografía computarizada	37
III.5.3.3. Protocolo para la realización de la determinación de $\alpha$ -fetoproteína sérica por técnica SUMA <sup>®</sup>	38
III.5.4. Métodos estadísticos	38
III.6. Aspectos éticos	40
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS</b>	<b>43</b>
IV.1. Pacientes estudiados	45
IV.2. $\alpha$ -fetoproteína sérica	47
IV.3. Valor predictivo de la $\alpha$ -fetoproteína sérica	49
IV.4. Comportamiento de las concentraciones séricas de $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes con hepatocarcinoma	52
IV.5. Valor predictivo del ultrasonido junto a la $\alpha$ -fetoproteína sérica en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular	53
IV.6. Evaluación de riesgo	54
IV.6.1. Riesgo de elevación de $\alpha$ -fetoproteína	54
IV.6.2. Riesgo de desarrollo de carcinoma hepatocelular en los pacientes cirróticos	55
<b>CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN</b>	<b>57</b>

	<b><u>Pág.</u></b>
V.1. Cirrosis hepática	59
V.1.1. Etiología de la cirrosis hepática	59
V.1.2. Particularidades demográficas de los pacientes cirróticos	63
V.2. Carcinoma Hepatocelular	65
V.2.1. Etiología relacionada con el carcinoma hepatocelular	65
V.2.1.1. Hepatitis viral	65
V.2.1.2. Cirrosis criptogénica	67
V.2.1.3. Alcoholismo	68
V.2.2. Factores demográficos y clínicos relacionados con el carcinoma hepatocelular	69
V.2.2.1. Edad	70
V.2.2.2. Sexo	70
V.3. Valor de la $\alpha$ -fetoproteína en el diagnóstico y pronóstico del carcinoma hepatocelular	72
V.3.1. Factores asociados a concentraciones elevadas de $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes cirróticos	72
V.3.2. Valor diagnóstico de la $\alpha$ -fetoproteína en el hepatocarcinoma	74
V.3.3. Valor pronóstico de la $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes con hepatocarcinoma	77
V.3.4. Combinación de la $\alpha$ -fetoproteína y la ecografía abdominal en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular	81
V.4. Propuesta de algoritmo para la pesquisa y vigilancia del CHC en Cuba en pacientes cirróticos	83
V.5. Consideraciones finales	85
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>87</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>91</b>



	<b><u>Pág.</u></b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>95</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA</b>	<b>133</b>
<b>NIVEL DE PRESENTACIÓN Y DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA TESIS</b>	<b>137</b>
Actividad científica y trabajos	139
Publicaciones relacionadas directamente con los resultados de la tesis	143
Publicaciones relacionadas indirectamente con el tema de la tesis	144
Otras actividades y reconocimientos	147
<b>ANEXOS</b>	<b>149</b>
Anexo 1. Procedimientos diagnósticos ante un nódulo hepático detectado por ultrasonido durante la pesquisa o seguimiento de pacientes cirróticos	151
Anexo 2. Algoritmo diagnóstico recomendado para la investigación de un nódulo detectado en la ecografía abdominal en un paciente cirrótico (adaptada de Bruix y Sherman)	152
Anexo 3. Criterios de Milán	153
Anexo 4. Instructivo del UMELISA-AFP	154
Anexo 5. Hoja de información para un posible participante en el protocolo de investigación científica: “Diagnóstico del CHC mediante la determinación de $\alpha$ -fetoproteína por la técnica del Sistema Ultramicroanalítico (SUMA)”	164
Anexo 6. Modelo de Consentimiento Informado	166
Anexo 7. Propuesta de algoritmo para la vigilancia del CHC	167



## **CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN**



## CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

### I.1. Contexto histórico del carcinoma hepatocelular

El carcinoma hepatocelular (CHC), conocido también como hepatocarcinoma, es un tumor maligno de origen epitelial, derivado de las células del parénquima hepático. Declarado como una enfermedad reciente, si se tiene en cuenta que se empezó a describir de manera apropiada a inicios del siglo XX, pero en esos momentos fue definida como una enfermedad rara. En 1901, cuando Egge<sup>1</sup> revisó 163 autopsias descritas en la literatura, relacionó aspectos patológicos comunes de este tumor y planteó por primera vez la clasificación anatómica de nodular, masiva y difusa. En 1915, se propuso la clasificación de hepatoma y colangioma, basado en el origen de la célula cancerígena.<sup>2</sup> Posteriormente, a mediados del siglo XX, se apreció que la enfermedad no era del todo rara al ser más prevalente fuera de Europa. Se llegó a esta conclusión a partir de una publicación realizada por Berman<sup>3</sup>, quién reseñó algunos datos epidemiológicos del CHC en jóvenes de la etnia Bantú al poco tiempo de ser empleados en las minas de oro, próximas a la ciudad de Johannesburgo, Sudáfrica. A partir de ese momento, empezaron a reportarse otros estudios epidemiológicos, como el de Higginson<sup>4</sup> en 1963, cuando declaró una elevada incidencia del CHC entre la población joven mozambicana.

Para finales de los años 70, Okuda y colaboradores<sup>5</sup> reconocieron diferencias anatomopatológicas entre pacientes japoneses y los descritos por Berman; los primeros tenían en su gran mayoría tumores rodeados por una cápsula fibrosa, y fueron clasificados como expansivos. Poco tiempo después, se identificaron también disimilitudes con pacientes de Estados Unidos de Norteamérica (EEUU), quienes

generalmente padecían de una variedad descrita como infiltrativa, y por primera vez se estableció la estrecha relación de esta enfermedad maligna con la cirrosis hepática (CH).<sup>6</sup>

El vínculo entre el CHC y la CH ha sido por mucho tiempo un enigma. Ya desde 1915 se empezaron a llevar a cabo estudios experimentales con carcinógenos químicos en modelos animales, una herramienta científica que buscaba desentrañar los mecanismos vinculados con la transformación maligna afines al CHC.<sup>7</sup> La identificación del virus de la hepatitis B (VHB) como causa de hepatopatías crónicas y su posterior caracterización como carcinógeno, demostrado por primera vez en 1972 por Ohbayashi y colaboradores,<sup>8</sup> constituyó un paso trascendental en aras de ampliar los conocimientos relacionados con la enfermedad. A este descubrimiento se sucedió la identificación de otros factores etiológicos como la Aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), el alcohol y el virus de la hepatitis C (VHC).<sup>9</sup>

## **I.2. Breve recuento histórico relacionado con la $\alpha$ -fetoproteína**

La  $\alpha$ -fetoproteína (AFP) fue descubierta por Bergstrand y Czar<sup>10</sup> en 1956 al realizar estudios de electroforesis en suero fetal humano, pero ganó interés médico a partir de 1963, después que Abelev y colaboradores,<sup>11</sup> del Instituto de Epidemiología y Microbiología de Moscú, revelaron su relación con el CHC. Posteriormente, su impacto en la práctica médica se realzó desde que Tatarinov<sup>12</sup> la detectó en el suero de pacientes con CHC, y a partir de ese momento se convirtió en el marcador tumoral más empleado para el diagnóstico de esta lesión maligna. La asociación entre la AFP sérica y el CHC ha sido ampliamente descrita en la literatura médica y

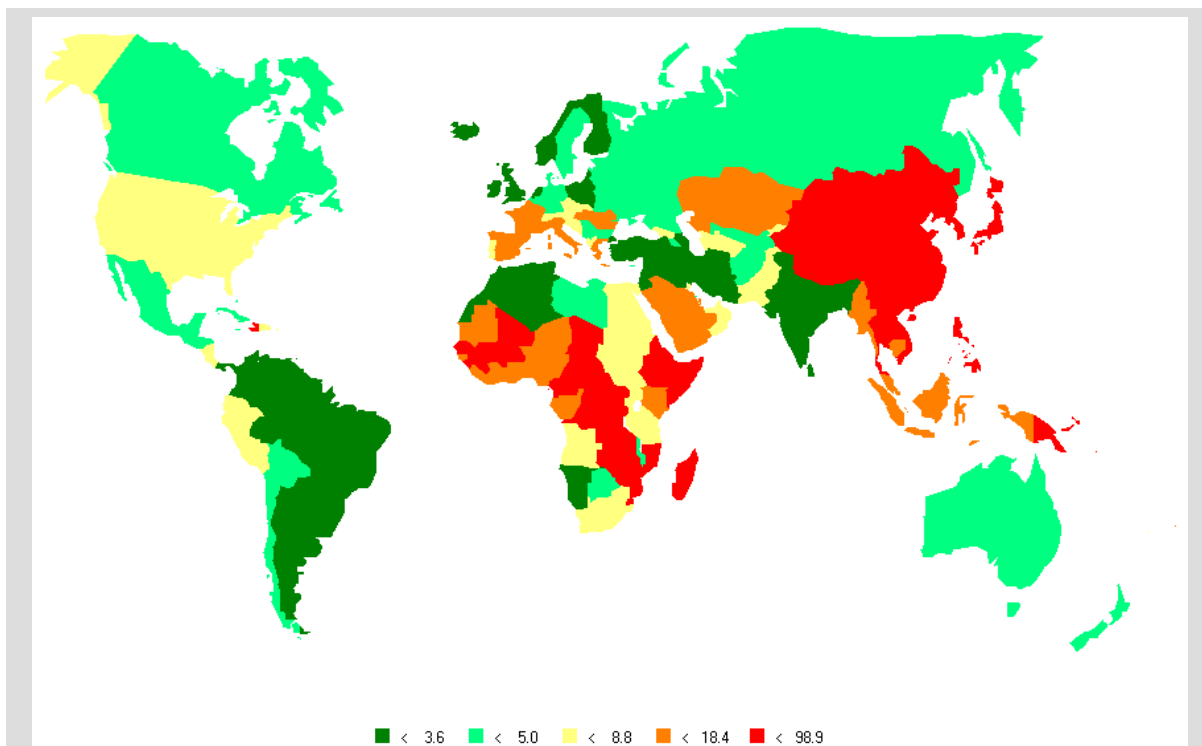
ha sido objeto de estudio por muchos grupos.<sup>13-14</sup> En la actualidad todavía es empleada ampliamente como prueba diagnóstica y de vigilancia.<sup>15-18</sup>

### **I.3. Situación actual del carcinoma hepatocelular en el mundo**

En la actualidad, las estadísticas clasifican al CHC como el principal responsable de la mortalidad en personas con CH compensada, la quinta a sexta neoplasia más frecuente (500 000 a 700 000 casos nuevos por año), con tasas de supervivencia juzgadas como muy bajas (entre 3 a 5% anual), y por esta última razón es la tercera causa de mortalidad por cáncer en el planeta.<sup>19-22</sup>

En la incidencia de este tumor se han advertido diferencias geográficas significativas, determinadas por los distintos factores de riesgo. Por ejemplo, la incidencia es elevada en los países del sudeste asiático y el África subsahariana, quienes contribuyen con más de 80% de los casos, solamente en China acontece 55% de estos.<sup>19</sup> Japón y los países europeos del área mediterránea, muestran incidencias intermedias, mientras que países del norte de Europa y EEUU manifiestan por su parte tasas muy bajas (figura 1).<sup>19</sup>

Actualmente se plantea que el CHC dejó de ser una enfermedad exclusiva de limitadas zonas geográficas tropicales y subtropicales. Su incidencia ha empezado a disminuir en algunas áreas distinguidas habitualmente por sus tasas muy elevadas, como Taiwán, Shangai, Singapur, Hong-Kong, Malasia, Gambia y Alaska, gracias a los programas efectivos de vacunación contra el VHB y el mejor control de la exposición de la AFB<sub>1</sub>.<sup>23-25</sup>



**Figura 1.** Tasas ajustadas de incidencia del hepatocarcinoma entre los hombres. Estimados del año 2002 (fuente: J. Ferlay, et al. GLOBOCAN 2002 Cancer Incidence,

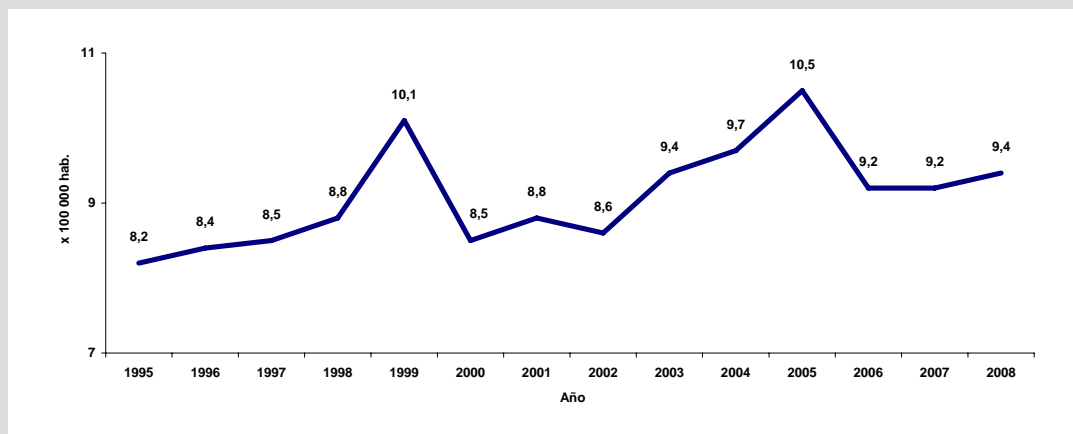
La tendencia opuesta se ha reportado en regiones de Europa, América del Norte y Oceanía.<sup>26-31</sup> Este último comportamiento es atribuido al incremento de la prevalencia de las hepatopatías provocadas por el VHC, la inmigración de personas desde países con alta endemicidad de infección por el VHB y probablemente la enfermedad hepática no alcohólica (EHNA).<sup>30,31</sup>

#### **I.4. Situación actual en Cuba**

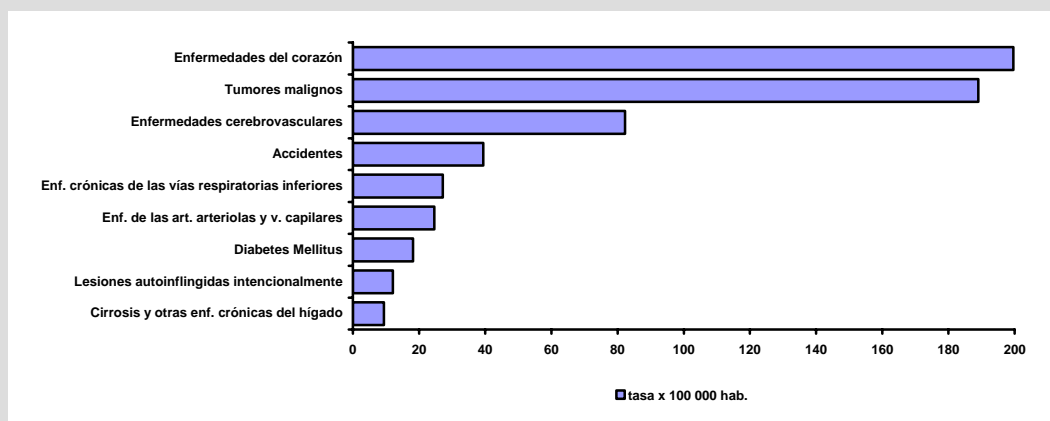
Desde hace varias décadas, Cuba comenzó a exhibir patrones de salud propios de países desarrollados, donde las enfermedades crónicas no transmisibles empezaron a ocupar un peso importante de la morbilidad de su población. Las enfermedades hepáticas crónicas y la CH constituyen la novena a décima causa de



muerte, con tasas que oscilan entre 8,2 y 10,5 x 100 000 habitantes (ver figuras 2 y 3).<sup>32-44</sup>



**Figura 2.** Mortalidad por enfermedades hepáticas crónicas y cirrosis en Cuba entre los años 1995 a 2008 (Fuentes: Anuario estadístico de salud de Cuba (años 1996 a 2008)).



**Figura 3.** Principales causas de muerte en Cuba. Año 2008 (Fuente: Anuario estadístico de salud en Cuba. 2008).

El cáncer es la segunda causa de muerte en la población cubana, y al revisar sus etiologías no se encuentra al CHC dentro de estas. Según los datos aportados por la Oficina Central de Registro Nacional de Cáncer de Cuba, la incidencia del CHC en el quinquenio 2000-2004 fue de 0,6 y 0,3 por 100 000 habitantes en el sexo masculino

y femenino, respectivamente.<sup>i</sup> Como se puede ver en la tabla 1 esta incidencia se incrementa de manera importante a partir de los 55 años de edad.

**Tabla 1.** Tasa de incidencia del carcinoma hepatocelular en Cuba, según sexo y grupos etáreos. Años 2000-2004.

	0-14*	15-24*	25-34*	35-44*	45-54*	55-64*	65+*	Total	
	te	te	te	te	te	te	te	tc	tam
Masculino	0,1	0,1	0,1	0,1	0,8	1,7	2,9	<b>0,6</b>	<b>0,5</b>
Femenino	0,0	0,0	0,1	0,1	0,2	0,7	2,0	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>

\* años, te: tasa específica (por 100 000 habitantes), tc: tasa cruda (por 100 000 habitantes), tam: tasa ajustada a la población mundial

Fuente: Oficina Central del Registro Nacional del Cáncer de Cuba<sup>i</sup>

## I.5. Enunciación del problema

En el año 1998 se empezó a desarrollar un nuevo programa de trasplante hepático (TH) en el Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas (CIMEQ) y se hizo necesaria, como parte obligada de la evaluación de los enfermos cirróticos, descartar la presencia de un CHC. Esta enfermedad puede constituir con frecuencia una contraindicación absoluta para el trasplante. No obstante, si se puede diagnosticar en un estadio temprano, el trasplante representa la opción terapéutica de elección encaminada a la curación.

Para alcanzar este objetivo se requería contar con la determinación de AFP sérica, que por razones de disponibilidad de recursos sólo fue factible realizar mediante técnica SUMA<sup>®</sup>. Uno de los inconvenientes que enfrentó el grupo de TH, fue la ausencia de experiencia en el país y en el resto del mundo, en el uso de este marcador tumoral detectado por la técnica cubana SUMA<sup>®</sup> para la pesquisa y vigilancia del CHC.

<sup>i</sup> Datos suministrados el 2 de agosto de 2008 por la MCs Yaima Galán, jefa del Registro Nacional de Cáncer de Cuba. Unidad Nacional para el control del Cáncer. Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología.

Si es útil esta prueba en el diagnóstico del CHC, se podría diseñar en Cuba un programa de detección precoz de esta enfermedad maligna en los pacientes cirróticos y con ello la posibilidad de disminuir la mortalidad de estos enfermos. Cabe señalar, que gracias a una de las fortalezas de la Salud Pública cubana, la atención primaria, la inmensa mayoría de la población está dispensarizada. Los medios diagnósticos, como por ejemplo el ultrasonido (US) abdominal, están al alcance de toda la población, al igual que una eficiente red de laboratorios SUMA<sup>®</sup> distribuidos a lo largo de toda la isla.

Aunque el CHC no se distingue como una de las principales causas de muerte por enfermedades malignas en Cuba, estos datos no necesariamente pueden reflejar con fidelidad el contexto actual. Si tenemos en cuenta sólo dos factores, sobrarían motivos para sospechar una mayor tasa de incidencia del CHC. El primero, está relacionado con el factor de riesgo más importante, la CH, que representa una de las diez primeras causas de mortalidad en Cuba. La segunda, es la edad. En el año 1985 el 11,3% de la población cubana era de 60 o más años, y al concluir el año 2007, este grupo alcanzó el 16,6%.<sup>45</sup> En los próximos años se estima que se mantenga esta tendencia al envejecimiento de la población.

## **I.6. Planteamiento de la Hipótesis**

La determinación de los niveles séricos de AFP mediante la técnica cubana SUMA<sup>®</sup> (UMELISA<sup>®</sup>AFP) en pacientes cirróticos, puede tener utilidad para el diagnóstico del CHC y asociarse a factores del mal pronóstico tumoral.

## **I.7. Campo de aplicación de la hipótesis**

Esta hipótesis es aplicable para la instauración de un programa de pesquisa y vigilancia del CHC en una población con riesgo de desarrollo de CHC. Puede ser empleada en todos los niveles de atención médica, con el fin de lograr la detección de esta neoplasia, y así poderle brindar a estos pacientes las mejores opciones de tratamiento.<sup>46-51</sup>

Con esta acción se lograría tener un mayor conocimiento de esta enfermedad maligna en Cuba.

## **I.8. Objetivos**

### **I.8.1. Objetivo general**

- Determinar la utilidad de la  $\alpha$ -fetoproteína en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular en pacientes cirróticos.

### **I.8.2. Objetivos específicos**

- Determinar la asociación de la edad, el sexo y la etiología de la cirrosis hepática con el desarrollo del carcinoma hepatocelular.
- Determinar los factores asociados a una elevación de la  $\alpha$ -fetoproteína en la población cirrótica.
- Determinar la sensibilidad y la especificidad la  $\alpha$ -fetoproteína en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular en pacientes con cirrosis hepática.
- Analizar la asociación de la  $\alpha$ -fetoproteína con factores de mal pronóstico del carcinoma hepatocelular.

- Analizar la utilidad de la combinación del ultrasonido abdominal junto a la  $\alpha$ -fetoproteína en el diagnóstico del hepatocarcinoma.

### **I.9. Actualidad y novedad científica de los resultados**

No se han presentado publicaciones en Cuba donde se estudie en su población la utilización de la AFP sérica en el diagnóstico y el pronóstico del CHC. Por otra parte, tampoco se conocen publicaciones donde se haya empleado este marcador tumoral determinado por técnica SUMA<sup>®</sup>, en el diagnóstico de esta enfermedad maligna.

Relacionado con el CHC, son muy escasas las investigaciones realizadas en Cuba, por lo que se puede decir que es una enfermedad poco estudiada. Como se ha mencionado anteriormente, si se tiene en cuenta la creciente mortalidad asociada a la cirrosis y el envejecimiento de la población, es factible pensar que la incidencia de esta enfermedad tumoral sea mayor.

### **I.10. Importancia científica y social de los resultados**

Los resultados que se exponen determinarán la importancia científica y social. Ampliará el nivel de conocimiento, relacionado en este caso con la utilidad que nos puede ofrecer la determinación sérica de AFP mediante técnica SUMA<sup>®</sup>, en el diagnóstico y el pronóstico del CHC.

Aparte de la posibilidad de trazar en un futuro estrategias de salud encaminadas a la población cubana y apoyadas principalmente con la atención primaria de salud, se lograría indudablemente un impacto positivo al tener un mayor y mejor conocimiento

de esta enfermedad maligna en Cuba, y la posibilidad real de ofrecer una mejor atención médica para estos pacientes, traducida en una mejor calidad de vida y disminución de la mortalidad.

Gracias al desarrollo científico alcanzado en Cuba, la aplicación de la determinación de AFP mediante la técnica SUMA<sup>®</sup>, permitiría que todas estas acciones puedan ser factibles, si se tiene en cuenta, que en todo el país se disponen de estos laboratorios y el costo de la prueba es bajo (0,425 CUP por cada determinación)<sup>ii</sup>. Por otras técnicas, el costo de la prueba es muy superior, y puede oscilar entre 3,00 y 40,00 USD por determinación, uno de los elementos que indudablemente limita su aplicación en programas de pesquisa y vigilancia en otras partes del mundo.<sup>52-54</sup>

### **I.11. Nivel de introducción en la práctica**

Desde el reinicio del programa de TH en el CIMEQ en el año 1998, la evaluación de los pacientes con CH incluyó el estudio de la AFP por SUMA<sup>®</sup>, encaminado a la pesquisa y vigilancia del CHC.<sup>48</sup> Esta experiencia se ha extendido de manera habitual a lo largo de estos años y se aplica de igual manera en el seguimiento y evaluación de los pacientes que son atendidos por CHC.

---

<sup>ii</sup> Los datos del costo de cada determinación fueron ofrecidos por el laboratorio clínico del CIMEQ y el Centro de Inmunonsayo de Cuba.

## **CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO**





## **CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO**

### **II.1. Factores de riesgo para el desarrollo del carcinoma hepatocelular**

Todos los pacientes con enfermedad hepática crónica, independientemente de su etiología, tienen riesgo aumentado de desarrollar CHC

#### **II.1.1. La cirrosis hepática**

Más del 80% de los casos con CHC tienen lugar en pacientes con enfermedades hepáticas crónicas y CH.<sup>55</sup> Entre las principales causas de CH en pacientes con CHC encontramos el VHB, el VHC y la enfermedad hepática alcohólica.<sup>56</sup> Algunos estudios prospectivos han reportado que una vez que se desarrolla la CH, la incidencia del CHC es de aproximadamente 2 a 8% anual, independientemente de su causa.<sup>53,57,58</sup>

La hepatitis autoinmune, la enfermedad de Wilson, el déficit de  $\alpha_1$ -antitripsina, la porfiria, la cirrosis biliar primaria y la EHNA son otras de las causas menos importantes de enfermedad hepática crónica asociada al CHC en el contexto de una CH.<sup>59-61</sup>

#### **II.1.2. El virus de la hepatitis B**

Los recientes reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) han estimado que en todo el mundo, 2 000 millones de personas tienen evidencias serológicas de infección pasada o actual por el VHB; de ellos, entre 350 y 400 millones tienen hepatitis crónica.<sup>24,62-65</sup> Aproximadamente el 60% de la población mundial vive en zonas donde el VHB es altamente endémico; entre estas se encuentra China

(población: 1 318 millones), Indonesia (población: 232 millones) y Nigeria (población: 144 millones).<sup>66</sup> Como consecuencia de esta infección, cada año mueren entre 600 000 a un millón de personas por insuficiencia hepática y CHC.<sup>24,62-65</sup> Diversos estudios han señalado que los portadores de este virus tienen un riesgo para el CHC de aproximadamente 100 veces mayor, comparado con individuos no infectados.<sup>67</sup> El estadio de la enfermedad también influye en el riesgo anual, y así vemos que es de 0,3 a 0,6% en los portadores crónicos, se incrementa a 1% en pacientes con hepatitis activa, y de 2 a 3% en los cirróticos.<sup>68</sup> Del mismo modo, algunos estados virales han demostrado significar un mayor riesgo, como por ejemplo el genotipo C del VHB.<sup>69</sup> Si bien la mayoría de los casos con VHB tienen de base una CH, por ser un virus oncogénico que se integra al genoma humano, entre 30 y 50% de los CHC puede desarrollarse en ausencia de CH.<sup>67,70,71</sup>

Algunos otros factores se han asociado también con un incremento significativo de este riesgo, como son: el consumo de alimentos contaminados con AFB<sub>1</sub>, la infección conjunta con el virus de la hepatitis D y/o el VHC y el alcoholismo.<sup>72</sup>

### **II.1.3. El virus de la hepatitis C**

La infección por VHC, ha sido la génesis principal del desarrollo del CHC en Japón y otros países del continente europeo y América del Norte.<sup>21,62,73,74</sup> Se ha logrado estimar que ante esta enfermedad viral, el CHC puede acontecer después de dos o más décadas de adquirida, y este peligro está principalmente limitado a enfermos con CH o fibrosis avanzada, con un riesgo anual estimado entre 2 y 8%, y entre 7 a 14% a los 5 años.<sup>75-78</sup> En los pacientes con VHC, la rapidez con que ocurre la

progresión hacia la CH está influenciada por múltiples factores como son: la edad del paciente, el tiempo de adquisición de la enfermedad viral, el sexo masculino, el alcoholismo, la vía de adquisición del virus, la obesidad, la diabetes mellitus y las coinfecciones por el VHB y el virus de inmunodeficiencia humana (VIH).<sup>79-82</sup>

Con todos estos datos se han podido crear pronósticos epidemiológicos interesantes, como por ejemplo en los EEUU, donde muchas fuentes de infección por el VHC estuvieron vinculadas a transfusiones de hemoderivados e inyecciones de drogas entre los años 1960 y 1980; por lo tanto, se ha logrado advertir que para el año 2030, la incidencia del CHC relacionado con la infección por el VHC puede alcanzar en ese país un pico máximo.<sup>83,84</sup>

#### **II.1.4. El alcoholismo**

Se ha comprobado, que el alcoholismo, una causa importante de CH en muchos países desarrollados, puede contribuir con 15 a 45% de los casos de CHC, todo ello a pesar de la dificultad que supone separar los efectos del alcohol, de aquellos que pudieran estar relacionados con las hepatitis crónicas virales.<sup>85,86</sup> En los EEUU, el abuso del alcohol es cinco veces más prevalente que la infección por el VHC, y por algunas estimaciones es posible establecer que haya sido el mayor responsable del CHC.<sup>57</sup>

El alcohol tiene un efecto sinérgico con la infección por el VHC para promover el desarrollo de CH y CHC, con un riesgo que aumenta en la medida que se incrementa el consumo diario de este.<sup>29,87</sup> Se sabe del mismo modo, que la CH está casi siempre presente cuando se desarrolla un CHC como resultado del consumo de bebidas

alcohólicas, y que este riesgo no disminuye en estos enfermos aún con la abstinencia.

### **II.1.5. La enfermedad hepática no alcohólica**

En el caso de la EHNA, se ha valorado que afecta aproximadamente a 30% de los norteamericanos y de ellos, 5,7% pueden progresar en el daño hepático, donde el riesgo de desarrollo de CHC es de aproximadamente 0,5%.<sup>88,89</sup> Por otra parte, se ha reportado que el riesgo relativo para el CHC es de 4,52 en personas obesas, y puede duplicarse en presencia de diabetes mellitus.<sup>90-92</sup> Otras de las conclusiones a las que se ha llegado es que el síndrome metabólico tiene también un efecto sinérgico en el incremento del CHC en quienes padecen de una hepatitis viral o enfermedad hepática secundaria al consumo de alcohol.<sup>93,94</sup>

### **II.1.6. La sobrecarga de hierro**

Estudios iniciales en pacientes con sobrecarga de hierro secundario a una hemocromatosis hereditaria (HH), estimaron un incremento del riesgo de CHC en cerca de 200 veces, comparados con grupos controles.<sup>95</sup> La gran mayoría de los pacientes con HH que han desarrollado esta enfermedad maligna presentan también una CH de base.<sup>95-98</sup> Existe también la evidencia del incremento del riesgo del CHC en condiciones donde existe sobrecarga de hierro por otras causas de CH.<sup>99-101</sup>

### **II.1.7. La aflatoxina B<sub>1</sub>**

En países de Asia y África la AFB<sub>1</sub> representa, junto a la infección por el VHB, la principal causa de CHC.<sup>102</sup> La AFB<sub>1</sub> es una micotoxina derivada de un hongo de la

especie de los *Aspergillus*. En modelos experimentales se ha demostrado que tiene un efecto carcinogénico muy potente en el hígado, por lo que en 1987, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer la declaró como un carcinógeno, basada en evidencias.<sup>103</sup>

#### **II.1.8. El sexo masculino**

Independiente de los factores antes mencionados, el CHC es una enfermedad que es más frecuente en el sexo masculino, y comparada con el femenino, muestra una relación que oscila entre 2:1 y 5:1. Las causas de esta distribución no están bien esclarecidas, pero se plantea que algunos de estos tumores presentan receptores androgénicos, lo que eleva la posibilidad de que los andrógenos puedan promover el desarrollo y el crecimiento del tumor.<sup>104-106</sup> También es cierto que existe una mayor predisposición de las personas del sexo masculino a estar vinculadas a otros factores de riesgo bien conocidos, como la hepatitis crónica viral, el alcoholismo y el hábito de fumar.<sup>107</sup>

#### **II.2. Mecanismos moleculares relacionados con la hepatocarcinogénesis**

A la luz de los nuevos conocimientos de genética y biología molecular, se ha logrado establecer que la hepatocarcinogénesis es un evento muy complejo inducido por la interacción de factores etiológicos, como la infección viral, y factores genéticos propios de cada individuo o grupos poblacionales, que determina la magnitud de la respuesta inflamatoria y regenerativa de los hepatocitos, así como la susceptibilidad para acumular mutaciones genéticas y alteraciones reguladoras implicadas en el

proceso tumoral.<sup>108-112</sup> Sin embargo, el provecho que se puede obtener de estos conocimientos está limitado por disímiles factores. En primer lugar, el análisis conjunto de tumores con diferentes etiologías y supuestamente diferentes patogenias, puede complicar su comprensión. En segundo lugar, el estudio genómico debe integrar los distintos estadios evolutivos, si se considera que aun con una patogenia común, la evolución de la neoplasia induce alteraciones estructurales y disregulaciones de las vías de señalización no presentes en estadios iniciales.<sup>113</sup>

En el desarrollo del CHC, los nódulos displásicos que se desarrollan en un hígado cirrótico, progresan hacia el CHC con una acumulación importante de mutaciones genéticas. Para que esto ocurra, se demanda de algunos mecanismos como la capacidad para generar autoestímulos de crecimiento, insensibilidad ante las señales inhibitorias de crecimiento, evasión de la apoptosis, potencial replicativo ilimitado, metástasis y angiogénesis sostenida.<sup>9,114-116</sup>

La activación de sistemas inflamatorios y de regeneración del hepatocito se han implicado en el desarrollo del CHC en un número importante de hepatopatías crónicas.<sup>117</sup> Adicionalmente, muchas causas de enfermedades hepáticas producen stress oxidativo que inducen señales de crecimiento, a la vez que provocan la aparición de mutaciones genéticas relacionadas con el cáncer o modificaciones de proteínas reguladoras del ciclo celular, de la apoptosis y de la reparación del ADN.<sup>96</sup>

Las alteraciones genéticas pueden variar desde mutaciones puntuales hasta la pérdida o ganancia de brazos cromosómicos. Los genes mutados que más se han descritos en el CHC, son el gen supresor tumoral p53, presente en 30 a 60% de los CHC que se presentan en zonas con alta incidencia y la B-catenina.<sup>109,111</sup> La

mutación del p53 puede ser provocada directamente por oncoproteínas celulares o virales, como por ejemplo la AFB<sub>1</sub> y la proteína HBx del VHB.<sup>72,116,118-120</sup>

De igual manera, se han encontrado gran variedad de oncogenes, que son capaces de provocar mutaciones en el CHC y dentro de estos encontramos el c-Myc, el factor de crecimiento de hepatocitos y la familia de receptores ErbB.<sup>119</sup>

Muchos de los avances recientes han estado encaminados a la identificación de señales moleculares específicas vinculadas al CHC, con el fin de distinguir diferentes patrones de malignidad asociados también a las diferentes etiologías.

### **II.3. Diagnóstico del CHC**

Hasta hace pocos años el diagnóstico del CHC se realizaba en fases avanzadas, cuando el paciente mostraba síntomas afines al tumor y este había alcanzado gran tamaño, lo que impedía la aplicación de un tratamiento con finalidad curativa; por tanto, el pronóstico a corto plazo era malo.<sup>121,122</sup> La sobrevida media estimada después del diagnóstico se encuentra entre 4,3 y 20 meses, y en aquellos pacientes con CHC sintomático puede ser como promedio menor de un mes.<sup>123,124</sup> El pronóstico de los pacientes con CHC depende no sólo de la extensión tumoral, de la existencia de metástasis y de la invasión vascular, sino también de la función hepática, ya que ésta condiciona en muchos casos la supervivencia y la aplicabilidad de los tratamientos.

Sin embargo, en los últimos años la introducción de la ecografía, los avances en las técnicas de imagen y la inclusión de los pacientes con un riesgo elevado en un programa de pesquisa y vigilancia, han permitido el diagnóstico de tumores

pequeños, en el que es posible la aplicación de un tratamiento con intención curativa.<sup>125,126</sup>

### **II.3.1. Aspectos clínicos**

Con frecuencia se describe que los pacientes con CHC no presentan síntomas que no sean aquellos mismos que están relacionados con una hepatopatía crónica. La sospecha de un CHC muchas veces se establece en pacientes, que con una CH compensada, desarrollan diferentes signos o síntomas.<sup>127</sup> Entre estos se encuentran: el dolor abdominal, la pérdida de peso, la saciedad temprana, la fiebre, la presencia de una masa tumoral palpable, la ascitis y el íctero; estos dos últimos como manifestaciones frecuentes asociadas a una descompensación de la CH. Entre los menos frecuentes encontramos: los dolores óseos, la disnea y el hemoperitoneo.<sup>29,128</sup>

### **II.3.2. Criterios diagnósticos del carcinoma hepatocelular**

Las pruebas que pueden ser empleadas en el diagnóstico del CHC incluyen las técnicas imagenológicas, la determinación sérica de AFP y la biopsia hepática.<sup>129</sup> La decisión de cuáles de estas pruebas emplear, depende del contexto. Algunas técnicas imagenológicas, como la TC o la RNM, siempre serán necesarias para establecer el estadiamiento de la enfermedad.

Por las características exclusivas del CHC en los pacientes con CH, se hizo cada vez más frecuente la tendencia de no incorporar la biopsia en el diagnóstico.<sup>130,131</sup> En el año 2000, durante la Conferencia de la Asociación Europea para el Estudio del Hígado (EASL), se establecieron los criterios diagnósticos no invasivos (no requiere



de una biopsia positiva) para pacientes con CH y lesiones nodulares mayores de 2 cm.<sup>132</sup> Con posterioridad, se introdujo el concepto del lavado de la fase portal después de la hipervascularización arterial, como parte del patrón diagnóstico característico del CHC, y se actualizaron los criterios diagnósticos en el año 2005 por la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas (AASLD).<sup>129</sup> En esta oportunidad, ante la detección de una lesión nodular en un hígado cirrótico, se han advertido diferentes estrategias de acuerdo al tamaño tumoral (anexo 1 y 2). Si el CHC se diagnostica histológicamente sin el patrón típico de hipervascularización arterial en las técnicas imagenológicas, se clasifican como CHC hipovasculares. Esta alteración acontece en 8,3% de CHC menores de 3 cm y en 17% de los tumores de 1 a 2 cm. Aproximadamente 38% de los CHC de 1 a 2 cm no pueden ser diagnosticados basados solamente en las técnicas imagenológicas.<sup>133,134</sup>

### **II.3.3. Pesquisa y vigilancia del CHC**

Por definición, la pesquisa es la aplicación de una prueba en un preciso momento para detectar una enfermedad, mientras que la vigilancia persigue disminuir la mortalidad mediante la aplicación repetida de esta prueba a lo largo del tiempo.<sup>135</sup> En principio, ambas estrategias dirigidas al CHC pueden ser aplicables si se tiene en cuenta que es una causa notable de mortalidad en el mundo y la población de riesgo es identificable.<sup>132</sup> Por otra parte, la demostración de un CHC durante el seguimiento de los pacientes con CH compensada, es considerada una de las conductas médicas obligadas.<sup>55,129,136,137</sup> Esta acción se ha fortalecido, desde que se introdujeron los criterios de Milán (ver anexo 3) por Mazzaferro y colaboradores<sup>138</sup>, como norma para

la indicación de TH, con lo que se mejoró de manera significativa la tasa de supervivencia de los pacientes con CHC, y se instituyó finalmente este proceder como un tratamiento curativo.<sup>139-141</sup>

Por lo tanto, la estrategia de la vigilancia y cribaje para el CHC, debe estar dirigida al diagnóstico temprano, que también ha ganado popularidad creciente por el desarrollo sostenido de las capacidades diagnósticas, y la ejecución de múltiples estudios, algunos de ellos aleatorizados, que han apoyado la extensión de estos programas en las poblaciones de alto riesgo.<sup>102,137,142</sup>

### **II.3.3.1. El dilema del costo-beneficio de los programas de pesquisa del carcinoma hepatocelular**

De acuerdo a la OMS existen 10 criterios para evaluar el costo-beneficio de los programas de pesquisa: (a) la condición debe ser un problema importante de salud, (b) deben existir opciones de tratamiento, (c) disponibilidad de facilidades para el diagnóstico y tratamiento, (d) la condición debe ser reconocible en un estadio temprano o latente, (e) disponibilidad de pruebas de pesquisa, (f) aceptación de la prueba de pesquisa por la población, (g) conocimiento adecuado de la historia natural de la enfermedad, (h) reconocimiento de la población de riesgo, (i) el costo del diagnóstico y el tratamiento debe estar económicamente balanceada con los gastos médicos, (j) los casos estudiados deben ser seguidos.<sup>143</sup> La pesquisa del CHC cumple con casi la totalidad de estos criterios, con la excepción del costo de la prueba y el tratamiento que permanece como tema de debate en el mundo.<sup>15,54,144,145</sup>

### **II.3.4. Utilidad del ultrasonido en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular**

El US abdominal es un estudio imagenológico simple, no invasivo y en tiempo real, cualidades atrayentes que han servido de complemento a su gran utilidad en la detección del CHC.<sup>146</sup> Es empleado con frecuencia junto a la AFP en programas de pesquisa y seguimiento, y hasta el presente permanece como el método de elección.<sup>15,147,148</sup> Para los pacientes de riesgo, la sensibilidad, la especificidad y el valor predictivo del US han revelado resultados controversiales, por lo que es inadecuado emitir una conclusión determinante por el momento.<sup>145,149,150</sup> La sensibilidad disminuye drásticamente en pacientes con CH avanzada, y al mismo tiempo, se ha observado una clara variabilidad entre las tasas de detección en diferentes zonas geográficas, posiblemente determinado por diferencias poblacionales.<sup>151</sup>

En la actualidad han surgido nuevas potencialidades de estudio relacionadas con la TC y la RNM que han demostrado mayor sensibilidad.<sup>150</sup> No obstante, se presentan problemas de diseño de los estudios que imponen una gran dificultad en la evaluación de la sensibilidad del US comparada con otras técnicas imagenológicas, empleadas en la pesquisa y la vigilancia. Así, por el momento el US sigue catalogado como el de mayor utilidad para estos programas, determinado principalmente por su bajo costo y no invasividad.<sup>150,152</sup> Si se tiene en cuenta que como promedio un CHC requiere 6 meses para doblar su tamaño, se ha aceptado el intervalo bianual y anual, como tiempo de seguimiento para los pacientes con alto riesgo.<sup>153</sup>

### **II.3.5. La $\alpha$ -fetoproteína**

Desde el punto de vista estructural, la AFP es una glicoproteína oncofetal de 72 kDa, conformado por 591 aminoácidos.<sup>154</sup> El gen de la AFP humana está relacionado con el cromosoma 4 (4q11-q13) y es parte de la familia de genes albuminoides, responsables también de la síntesis de albúmina y la proteína transportadora de vitamina D.<sup>155</sup> La AFP es producida normalmente durante la vida fetal, inicialmente en el saco vitelino y con posterioridad por el hígado fetal. Su síntesis alcanza una máxima concentración desde las 12 a 16 semanas de gestación, y después del nacimiento, cae rápidamente dentro de los primeros 18 meses. En adultos, bajo condiciones normales, la AFP sérica es de aproximadamente 5 a 10 ng/mL.<sup>156</sup>

La función biológica de la AFP es desconocida por el momento. Como consecuencia de su similitud con la albúmina, se ha sugerido que tiene función transportadora de algunas sustancias como: bilirrubina, ácidos grasos, retinoides, esteroides, metales pesados, flavonoides, fitoestrógenos, dioxina y algunas drogas.<sup>154,157</sup> Por otra parte, también se ha sugerido que tiene actividad inmunosupresora y cierto papel en la proliferación celular.<sup>157</sup> A pesar de todo lo anterior, hasta el presente solo se le ha demostrado la importancia diagnóstica y pronóstica.

#### **II.3.5.1. La $\alpha$ -fetoproteína como marcador tumoral**

A pesar de la clara asociación entre la AFP y el CHC, la sensibilidad y la especificidad de esta prueba es variable, con cifras que oscilan de 39 a 73% y de 65 a 96%, respectivamente, y un valor predictivo positivo entre 9 y 50%.<sup>14,15,16,55,132,150,158-164</sup> Las variaciones reportadas son dependientes de la técnica

empleada, el diseño del estudio, las características de la población y el nivel de corte empleado. De todas estas, posiblemente la más importante está relacionada con la heterogeneidad de la población, determinadas principalmente por el grado de afectación tumoral, de la infección viral, y de la CH.<sup>165</sup>

En la vida adulta, la síntesis de AFP está reprimida. Solo se observan niveles elevados en determinadas condiciones como: el embarazo, en presencia de algunas neoplasias (como por ejemplo: CHC, carcinoma gástrico, testicular, cáncer de pulmón y de páncreas), y condiciones no tumorales (como por ejemplo CH y hepatitis crónica).<sup>166</sup> Relacionado con esta última circunstancia, se ha reportado la presencia de altos niveles séricos en pacientes con VHC, como resultado del proceso natural de progresión de la enfermedad.<sup>167</sup>

Basadas en las evidencias disponibles hasta el presente, se ha instituido que la vigilancia y la pesquisa a pacientes de riesgo, basada en la utilización de US abdominal y determinación de AFP sérica, se haga cada 6 a 12 meses, con los que se pueden obtener resultados que son favorables en términos de supervivencia.<sup>129,137,168</sup> De igual manera, se empiezan a mostrar estudios donde se combina la AFP no solo con el US, sino con otros marcadores serológicos con el fin de incrementar la sensibilidad y la especificidad en el diagnóstico del CHC, todos con resultados por el momento discordantes.<sup>169-171</sup>

#### **II.3.5.2. La utilidad de la $\alpha$ -fetoproteína como factor de riesgo y pronóstico para el CHC**

En los últimos tiempos también se ha adoptado como una de las pruebas con valor predictivo en la supervivencia de los enfermos con CHC, al demostrarse que los

pacientes con niveles elevados de este marcador tienen peor pronóstico, que aquellos con niveles bajos o normales.<sup>172-180</sup> Algunos estudios han establecido que aproximadamente el 80% de los casos con CHC pequeños no muestran elevación de los niveles de AFP. Vemos así, que cuando la lesión es  $\leq 3$  cm, la sensibilidad disminuye de 52 a 25%.<sup>165,181</sup>

Por otra parte, se ha señalado que los pacientes con CH que presentan niveles elevados de AFP tienen mayor posibilidad de desarrollo de CHC, y se acepta este como un factor de riesgo adicional, junto a otros como la existencia de grandes nódulos regenerativos y la presencia de displasia celular.<sup>182-184</sup>

#### **II.3.5.3. Nuevo futuro vinculado con la $\alpha$ -fetoproteína**

Desde hace años se ha tratado de dilucidar las funciones y la influencia de la AFP en el comportamiento del CHC. Se ha planteado, que es capaz de regular por mecanismos no bien conocidos, el crecimiento de varias estirpes celulares, entre las que se encuentran las linfáticas, fagocíticas, de ovario, placenta, médula ósea, útero e hígado.<sup>185</sup> Estas funciones estimuladoras también se han encontrado en las estirpes de células neoplásicas, posiblemente mediante la estimulación de la resistencia a la apoptosis a través de la disfunción del gen p53.<sup>185</sup>

#### **II.4. Laboratorio SUMA®**

Desde 1980, los especialistas cubanos buscaron a partir de los principios básicos de los ensayos inmunoenzimáticos, nuevos procedimientos tecnológicos sostenibles

para estudios masivos de la población y describieron una versión ultramicroanalítica que denominaron Sistema Ultra Micro Analítico, comúnmente conocido como SUMA. El objetivo de este programa fue formar un sistema de laboratorio semiautomático con un soporte analítico-instrumental sin que se afectaran los criterios de reproducibilidad establecidos para los ensayos clásicos y los niveles esenciales de la calidad interna y externa.

En Cuba, la primera aplicación de la tecnología SUMA<sup>®</sup> fue en la década de los 80 del siglo pasado, con el pesquisaje de malformaciones congénitas dentro del Programa Materno Infantil. A medida que este instrumento diagnóstico se desarrollaba y consolidaba, se diversificó su uso dentro del Sistema Nacional de Salud Pública, con la formación de una amplia red nacional, que cuenta con una infraestructura de más de 100 laboratorios distribuidos a lo largo del país y con la consecuente contribución en el aumento del bienestar de la población. Actualmente, la tecnología SUMA<sup>®</sup> se utiliza en los siguientes programas de salud:

- Programa Materno-Infantil
- Programa de Certificación de sangre
- Programa de Vigilancia Epidemiológica

Dentro del Programa Materno-Infantil, el laboratorio SUMA<sup>®</sup> asume la cuantificación de AFP (el reactivo que emplea el laboratorio se denomina UMELISA<sup>®</sup>AFP) en suero materno entre las 15 y 19 semanas de embarazo, como prueba para la pesquisa prenatal de defectos del tubo neural (DTN) y otras malformaciones congénitas no

vinculadas directamente al sistema nervioso central, con resultados satisfactorios.<sup>186-</sup>

188

#### **II.4.1. Fundamento de estudio con UMELISA® AFP**

El UMELISA® AFP, es un ensayo inmunoenzimático heterogéneo tipo sándwich, que utiliza como fase sólida tiras de ultramicro-ELISA (10 µL por pocillo) revestidas previamente con anticuerpos contra la AFP (anti-AFP), lo cual garantiza la especificidad del ensayo.<sup>189</sup>

La muestra se incuba en los pocillos de la tira, donde se fija la AFP presente a los anticuerpos que revisten la tira. La realización de un lavado posterior elimina los componentes no fijados, mientras permanece en el pocillo el complejo anti-AFP/AFP. Se añade entonces un conjugado anti-AFP/fosfatasa alcalina, que se une a la AFP fijada en la reacción anterior. Un nuevo lavado de las tiras elimina el conjugado en exceso. Al añadir un sustrato fluorogénico (4-Metilumbeliferil fosfato) en los pocillos de la tira, este resultará hidrolizado por la enzima del conjugado y la intensidad de la fluorescencia emitida será proporcional a la concentración de AFP presente en la muestra.



## **CAPÍTULO 3: DISEÑO METODOLÓGICO**



## **CAPÍTULO 3: DISEÑO METODOLÓGICO**

### **III.1. Tipo de investigación según las posibilidades de aplicación de los resultados**

Proyecto de investigación donde se valora la utilidad de la determinación de las concentraciones séricas de AFP mediante la técnica cubana SUMA<sup>®</sup> en el diagnóstico y pronóstico del CHC en pacientes cirróticos.

### **III.2. Tipo de estudio**

Estudio descriptivo, prospectivo y longitudinal.

### **III.3. Período y lugar donde se desarrolla la investigación**

La investigación se realizó en el CIMEQ, desde enero de 1999 hasta septiembre de 2005.

### **III.4. Pacientes estudiados**

Se estudiaron 191 pacientes portadores de CH de diferentes etiologías, atendidos por el grupo de TH del CIMEQ.

#### **III.4.1. Criterios de exclusión**

- Embarazo.
- Antecedentes de otras neoplasias.
- No aceptación del paciente a ser incluido en este estudio.

Se excluyeron dos pacientes del sexo femenino, por tener otras neoplasias en su evaluación (colangiocarcinoma y neoplasia de cuello de útero).

### III.4.2. Distribución según sexo y edad

De los 189 pacientes incluidos en el estudio, 120 (63,49%) fueron del sexo masculino y 69 (36,51%) del femenino (figura 4)

La edad promedio fue de 44,61 años ( $\pm 13,01$ ); la edad menor fue de 12 años y la mayor de 78. Las décadas con mayor número de pacientes fueron la cuarta y la quinta, con 53 pacientes (28,04%) cada uno, seguido por la segunda con 38 enfermos (20,11%) y la sexta con 18 (9,52%) (figura 5).

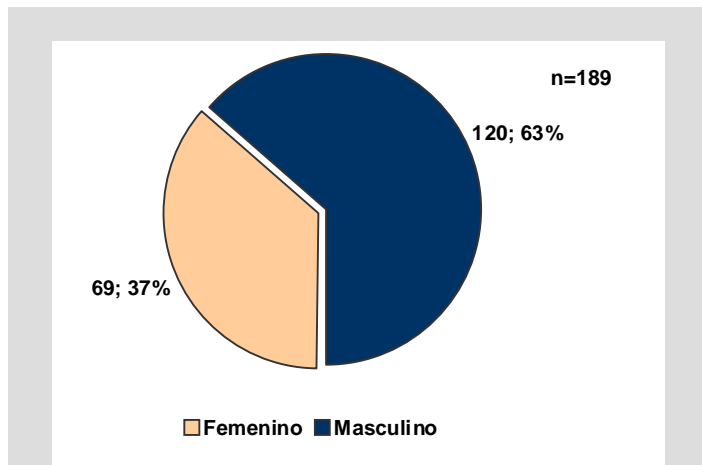


Figura 4. Distribución de los pacientes evaluados según el sexo.

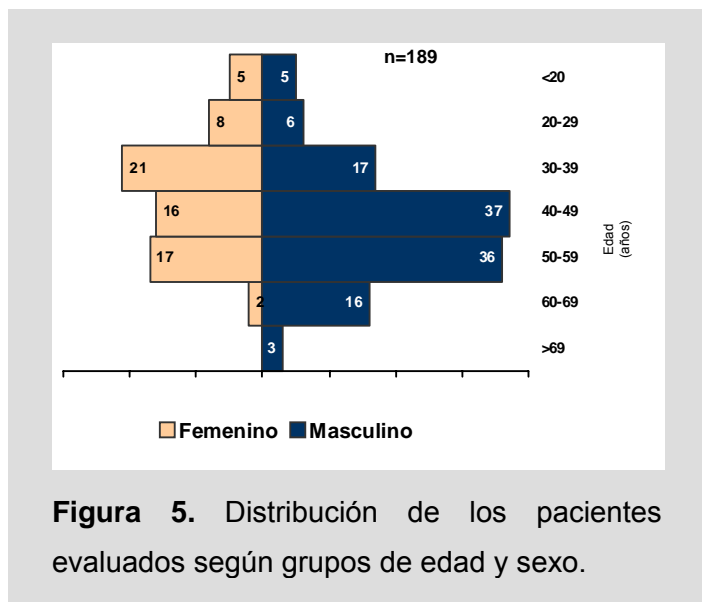


Figura 5. Distribución de los pacientes evaluados según grupos de edad y sexo.

### **III.5. Métodos**

#### **III.5.1. Obtención de muestras y registro de datos**

Para la recolección de los datos de la investigación se recurrió a la evaluación clínica de los pacientes por medio de la entrevista, el examen físico y los resultados de los estudios complementarios; todos plasmados en la historia clínica de cada enfermo.

En la entrevista médica se recogieron cuidadosamente en cada uno de ellos los datos personales y demográficos.

Se recolectaron los resultados de los estudios complementarios de laboratorio y específicamente los de AFP por técnica de SUMA<sup>®</sup>. De igual manera se reunieron y se evaluaron los resultados de los estudios imagenológicos indicados, especialmente los estudios de US abdominal y TC.

El diagnóstico de CH se estableció por medio de la presencia de al menos uno de los siguientes criterios:

- Histológico (a través de una biopsia hepática).
- Laparoscopia.
- Elementos clínicos inequívocos de la enfermedad, establecidos principalmente por medio del examen físico, los elementos imagenológicos recogidos en el US y los resultados de la endoscopia digestiva alta.

Para el diagnóstico de CHC se tuvo en cuenta el criterio establecido por la EASLD para pacientes con CH y lesiones tumorales mayores de 2 cm, al demostrarse un patrón característico de hipervascularización arterial mediante técnicas imagenológicas.<sup>132</sup>

### III.5.2. Variables estudiadas

Las variables estudiadas en la siguiente investigación se recogen en la tabla 3.

**Tabla 3.** Variables estudiadas.

Variables	Unidades de medida
1. Edad	Años
2. Sexo	Masculino Femenino
3. Causa de la cirrosis	Viral (VHB, VHC, VHC+VHB, VHC+alcohol) Alcohólica Criptogénica Otras (HAI, Wilson, CBP, CBS, CEP)
4. Diagnóstico de Carcinoma Hepatocelular	Sí No
5. Tipo de tumor	Múltiple (más de uno) Único
6. Tamaño del tumor	≤ 5cm > 5cm
7. Criterios de Milán (ver anexo 3)	Sí No
8. α-fetoproteína	UI/mL

VHB: virus de la hepatitis B, VHC: virus de la hepatitis C, HAI: hepatitis autoinmune, Wilson: enfermedad de Wilson, CBP: cirrosis biliar primaria, CBS: cirrosis biliar secundaria, CEP: colangitis esclerosante

Para la caracterización de los CHC diagnosticados, se evaluaron a través de las técnicas imagenológicas (US y TC contrastada) las siguientes características:

- Número de lesiones.
- Tamaño del tumor.
- La posibilidad de infiltración vascular por el tumor.
- Si cumplían con los criterios de Milán (ver anexo 3).

Se tomaron en cuenta los valores de referencia de AFP por técnica SUMA® establecidos por el Centro de Inmuno-Ensayo de Cuba, fabricante de este producto (ver anexo 4). Estos, aunque se ofrecieron por el laboratorio y se trabajó en UI/mL, se convirtieron a ng/mL (factor de conversión: 1 UI/mL = 1,24 ng/mL) para lograr uniformidad en la discusión del presente trabajo. Se considera la prueba normal, si las concentraciones de AFP son menores de 15 UI/mL (<18,60 ng/mL)

Para los pacientes cirróticos con CHC se consideraron como factores de riesgo las siguientes variables:

- La edad mayor de 50 años.
- El sexo masculino.
- El diagnóstico de hepatitis crónica viral.

### **III.5.3. Procedimientos**

#### **III.5.3.1. Recolección de los datos clínicos (entrevista y examen físico)**

Se realizaron por el investigador dentro del CIMEQ, ya fuera en las consultas externas o internados.

#### **III.5.3.2. Realización del ultrasonido y la tomografía computarizada**

Las pruebas imagenológicas se realizaron en el Departamento de Imagenología del CIMEQ. Estos fueron realizados e informados por especialistas, entrenados y preparados. Para la realización del US se emplearon los equipos Sonoline Versa Pro y el Alfa V de las firmas Siemens y Aloka, respectivamente. El estudio de TC fue realizado con equipo multicorte de la marca Siemens y para el mismo se aplicó

protocolo establecido, que contempló un estudio simple, seguido de la administración de contraste a través de bomba perfusora con toma de imágenes durante la fase arterial y la fase portal hepática.

#### **III.5.3.3. Protocolo para la realización de la determinación de $\alpha$ -fetoproteína sérica por técnica SUMA<sup>®</sup>**

Las muestras de suero de los pacientes estudiados, se obtuvieron en ayunas y se procesaron por medio del UMELISA<sup>®</sup> AFP en el laboratorio SUMA<sup>®</sup> del Departamento de Laboratorio Clínico del CIMEQ. La prueba se realizó, en correspondencia del instructivo del producto brindado por el Centro de Inmunoensayo (anexo 4).

Las determinaciones se realizaron en la primera consulta de evaluación de los pacientes y con posterioridad cada seis meses.

El nivel sérico de AFP relacionado con el diagnóstico del CHC se correspondió con el primer valor de este marcador tumoral al momento del diagnóstico de esta enfermedad maligna.

#### **III.5.4. Métodos estadísticos**

Los datos fueron procesados mediante los programas SPSS versión 13,0 y EPIDAT versión 3,1.

Se emplearon como medidas descriptivas de resumen, la media, la desviación estándar (DE) y la mediana para las variables cuantitativas, y para las cualitativas los porcentajes.



La sensibilidad, la especificidad, el VPP y VPN se calcularon mediante las fórmulas que se describen en la tabla 2. Con estos datos se calculó el índice Youden, donde un resultado mayor de 0,8 indica que la prueba es útil.<sup>190,191</sup>

Para la comparación de variables categóricas se emplearon las pruebas de ji-cuadrado y probabilidad exacta de Fisher.

**Tabla 2.** Fórmulas para el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo.

	CHC	No CHC	Total
<b>Prueba positiva</b>	a	b	a+b
<b>Prueba negativa</b>	c	d	c+d
<b>Total</b>	a+c	b+d	a+b+c+d
Sensibilidad: $a / (a + c)$			
Especificidad: $d / (b + d)$			
Valor predictivo positivo: $a / (a + b)$			
Valor predictivo negativo: $d / (c + d)$			

Para la comparación de variables cuantitativas entre dos grupos independientes se utilizó la prueba de U de Mann Whitney, la prueba de Kruskal Wallis para la comparación de más de dos grupos y la prueba de Tamhane en el caso de que las diferencias fueran significativas.

Para determinar la sensibilidad y la especificidad de los diferentes niveles de corte de la AFP sérica en el diagnóstico del CHC, se construyeron curvas ROC. El área bajo la curva ROC (ABROC) fue calculado y comparado entre los diferentes grupos de estudio. Un área mayor de 0,7 se considera de utilidad clínica, y si esta cifra se encuentra entre 0,8 y 0,9 revela una predicción diagnóstica excelente.<sup>192</sup>

Para estudiar la asociación entre los factores de riesgo que se asocian a una AFP elevada, se calculó la razón de productos cruzados de probabilidad (OR) para un

intervalo de confianza del 95%, la prueba de ji-cuadrado y se realizó análisis de regresión logística en las variables que resultaron significativas.

Para todas las pruebas, un valor p menor de 0,05 fue considerado significativo.

### **III.6. Aspectos éticos**

La investigación se realizó según los preceptos establecidos en el Código Internacional de Ética Médica<sup>193</sup> y los que competen a las investigaciones biomédicas en humanos contemplados en la Declaración de Helsinki, adoptada por la 18ª Asamblea de la Asociación Médica Mundial en junio de 1964 y enmendadas en los años 1975, 1983, 1989, 1996 y 2000, junto a las notas de clarificación agregadas en el año 2002 y 2004.<sup>194</sup>

Toda la información utilizada en el estudio se conservó bajo los principios de máxima confiabilidad y en ningún caso se reflejó la identidad de las personas. Solo ha sido empleada esta información con fines científicos.

Para realizar el examen clínico y los estudios complementarios se solicitaron a los pacientes el consentimiento verbal e informado del mismo en presencia de familiares allegados (anexos 5 y 6), tratado en un medio apropiado y con el nivel de privacidad requerida para estos fines.

La selección de los medios diagnósticos que se indicaron se hizo bajo los principios de la máxima beneficencia, donde se tuvo en cuenta el precepto de no hacer daño, las pautas internacionales y nacionales establecidas y la accesibilidad financiera y material.

Las tomas de muestra de sangre se realizaron bajo los principios de máxima seguridad para el paciente y el personal de salud.

En todos los casos los pacientes resultaron beneficiados, pues se les realizó examen clínico, de laboratorio e imagenológicos, que posibilitaron confirmar o establecer su diagnóstico y estadio. Basados en ello se le ofrecieron las mejores opciones de tratamiento disponibles en el centro, lo cual contribuyó a la mejoría del estado de salud y calidad de vida.

El protocolo de investigación de esta tesis recibió una revisión previa y aprobación por el Comité de Ética y el Consejo Científico del CIMEQ.



## **CAPÍTULO 4: RESULTADOS**



## CAPÍTULO 4: RESULTADOS

### IV.1. Pacientes estudiados

En la tabla 4 se presenta las características demográficas y clínicas de los 189 pacientes que fueron incluidos en el estudio.

**Tabla 4.** Características demográficas y clínicas de los pacientes.

		Total de pacientes	Con CHC	Sin CHC
		n = 189 (100%)	n = 22 (11,64%)	n = 167 (88,36%)
<b>Sexo</b>	M	<b>120 (63,49%)</b>	19 (86,36%)	101 (60,48%)
	F	<b>69 (36,51%)</b>	3 (13,64%)	66 (39,52%)
	M/F	<b>1,74</b>	6,33	1,53
<b>Edad*</b>	Promedio	<b>44,61</b>	55,00	43,24
	DE	<b>± 13,01</b>	± 11,99	± 12,54
<b>Etiología de la CH</b>	<b>Viral</b>	<b>83 (43,92%)</b>	<b>13 (59,09%)</b>	<b>70 (41,92%)</b>
	VHC	50	7	43
	VHB	24	5	19
	VHB+VHC	2	1	1
	VHC+Alcohol	7	0	7
	<b>Alcohólica</b>	<b>36 (19,05%)</b>	<b>4 (18,18%)</b>	<b>32 (19,16%)</b>
	<b>Criptogénica</b>	<b>31 (16,40%)</b>	<b>5 (22,73%)</b>	<b>26 (15,57%)</b>
	<b>Otras causas</b>	<b>39 (20,63%)</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>39 (23,35%)</b>
	HAI	16	0	16
	CBP	10	0	10
	CEP	6	0	6
CBS	3	0	3	
Wilson	4	0	4	

\* Edad en años, CBP: cirrosis biliar primaria, CBS: cirrosis biliar secundaria, CEP: colangitis esclerosante primaria, CH: cirrosis hepática, CHC: carcinoma hepatocelular, DE: desviación estándar, F: femenino, HAI: hepatitis autoinmune, M: masculino, VHC: virus de la hepatitis C, VHB: virus de la hepatitis B.

La principal causa de CH estuvo relacionada con las hepatitis virales, presentes en 83 casos (43,92%); dentro de ellas, el VHC fue el más frecuente, con 59 enfermos, dos de ellos presentaban coinfección con el VHB y siete tenían vínculo con el consumo de alcohol como factor etiológico asociado. Como segunda causa de afectación hepática se encontró la alcohólica, seguida de la criptogénica, con 36 (19,05%) y 31 (16,40%) pacientes, respectivamente. El resto de las etiologías

(hepatitis autoinmune, la cirrosis biliar primaria, la colangitis esclerosante primaria, cirrosis biliar secundaria y la enfermedad de Wilson) fueron agrupadas como otras causas y estuvo compuesta por 39 enfermos (20,63%).

Como se puede distinguir en la tabla 5, el sexo masculino prevaleció en los grupos donde la causa principal de la CH fue la viral y la alcohólica;

**Tabla 5.** Distribución del sexo en dependencia de la causa principal de la cirrosis hepática.

Diagnóstico	Sexo		Total
	Masculino (%)	Femenino (%)	
Hepatitis Viral	64 (77,10%)	19 (22,89%)	<b>83</b>
Alcohol	36 (100%)	0 (0%)	<b>36</b>
Criptogénica	12 (38,71%)	19 (61,29%)	<b>31</b>
Otras causas	8 (20,51%)	31 (79,49%)	<b>39</b>
<b>Total</b>	<b>120 (63,49%)</b>	<b>69 (36,51%)</b>	<b>189</b>

p<0,001

mientras que en el grupo conformado por la CH criptogénica y otras causas, el sexo predominante fue el femenino (p<0,001).

Los promedios de edades de los pacientes estudiados (tabla 6) fueron superiores en las etiologías virales y alcohólicas (49,84 y 47,50 años), comparadas con las

**Tabla 6.** Distribución de la edad, en dependencia de la causa principal de la cirrosis hepática.

Diagnóstico	Edad media* (DE)	Mediana*
Hepatitis viral (n: 83)	49,84 (± 9,66)	51
Alcohol (n: 36)	47,50 (± 10,63)	49
Criptogénica (n: 31)	38,71 (± 15,26)	35
Otras causas (n: 39)	37,08 (± 13,06)	35
<b>Total (n = 189)</b>	<b>44,61 (± 13,01)</b>	<b>47</b>

p<0,001

\* En años

criptogénicas y otras causas (38,71 y 37,08 años) (p<0,001).

El diagnóstico de CHC se estableció en 22 (11,64%) enfermos, el sexo masculino predominó con una relación de 6,33 con respecto al femenino. La causa principal se correspondió con la CH viral, presente en 13 enfermos (59,09%), y dentro de ellas la más importante fue la infección por el VHC, manifestada en ocho casos, uno de ellos



tenía coinfección con el VHB. Las otras causas presentes en este grupo fueron la CH alcohólica y criptogénica, presente en cuatro (18,18%) y cinco (22,73%) enfermos, respectivamente. La edad media de este grupo de pacientes fue de 55 años ( $\pm 11,99$ ) (tabla 4).

En los restantes 167 pacientes, el sexo predominante fue también el masculino con una relación con respecto al femenino de 1,53. La edad media (43,24 años  $\pm 12,54$ ) fue inferior, comparada con la de los pacientes con CHC. Con respecto a las etiologías también predominaron las hepatitis virales, seguidas de la alcohólica, otras causas y la criptogénica. Siete de los enfermos tenían al mismo tiempo un VHC junto al alcoholismo, como causa de la CH (tabla 4).

#### **IV.2. $\alpha$ -fetoproteína sérica**

En el estudio se realizaron 252 determinaciones de AFP sérica por técnica SUMA<sup>®</sup>, las que mostraron un valor medio de 16,43 UI/mL ( $\pm 42,26$ ). En la tabla 7 se describen los valores medios de AFP en dependencia de la etiología de la CH y la edad, donde se evidencia que los niveles fueron marcadamente superiores en los que tenían hepatitis viral ( $p < 0,001$ ) y en los que tenían 50 o más años ( $p = 0,001$ ).

Al realizar el estudio de comparaciones múltiples (tabla 8), sólo exhibieron diferencias significativas los valores medios de AFP de los pacientes con CH viral con los de otras causas ( $p < 0,001$ ).

Como se puede valorar en la tabla 9, en los pacientes con CHC, los niveles de AFP fueron muy superiores al compararlos con la de los pacientes que no tenían esta enfermedad (110,78 UI/mL vs 7,40 UI/mL) ( $p < 0,001$ ).

**Tabla 7.** Valores medios de  $\alpha$ -fetoproteína en toda la población, agrupados según etiología y edad.

		AFP*			
		Promedio	(DE)	Mediana	p
<b>Etiología de la cirrosis</b>	Hepatitis viral	26,48	( $\pm$ 48,46)	4,89	<b>&lt;0,001</b>
	Alcohol	9,87	( $\pm$ 36,89)	1,72	
	Criptogénica	14,08	( $\pm$ 48,12)	0,93	
	Otras causas	2,30	( $\pm$ 3,92)	0,69	
<b>Edad</b>	$\geq$ 50 años	30,41	( $\pm$ 58,60)	3,20	<b>0,001</b>
	< 50 años	7,67	( $\pm$ 23,87)	1,60	
<b>Total</b>		<b>16,43</b>	<b>(<math>\pm</math> 42,26)</b>	2,20	

\*valores medidos en UI/mL, AFP:  $\alpha$ -fetoproteína sérica, DE: desviación estándar

**Tabla 8.** Análisis de comparaciones múltiples de los niveles medios de  $\alpha$ -fetoproteína de los pacientes según etiología.

(i)	Etiología	(j)	Diferencia media (i-j)	p
Hepatitis viral		Alcohol	16,612	0,101
		Criptogénica	12,395	0,625
		Otras causas	24,175	<b>&lt;0,001</b>
Alcohol		Criptogénica	-4,216	0,998
		Otras causas	7,563	0,617
Criptogénica		Otras causas	11,780	0,499

**Tabla 9.** Valores medios de  $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes con y sin hepatocarcinoma.

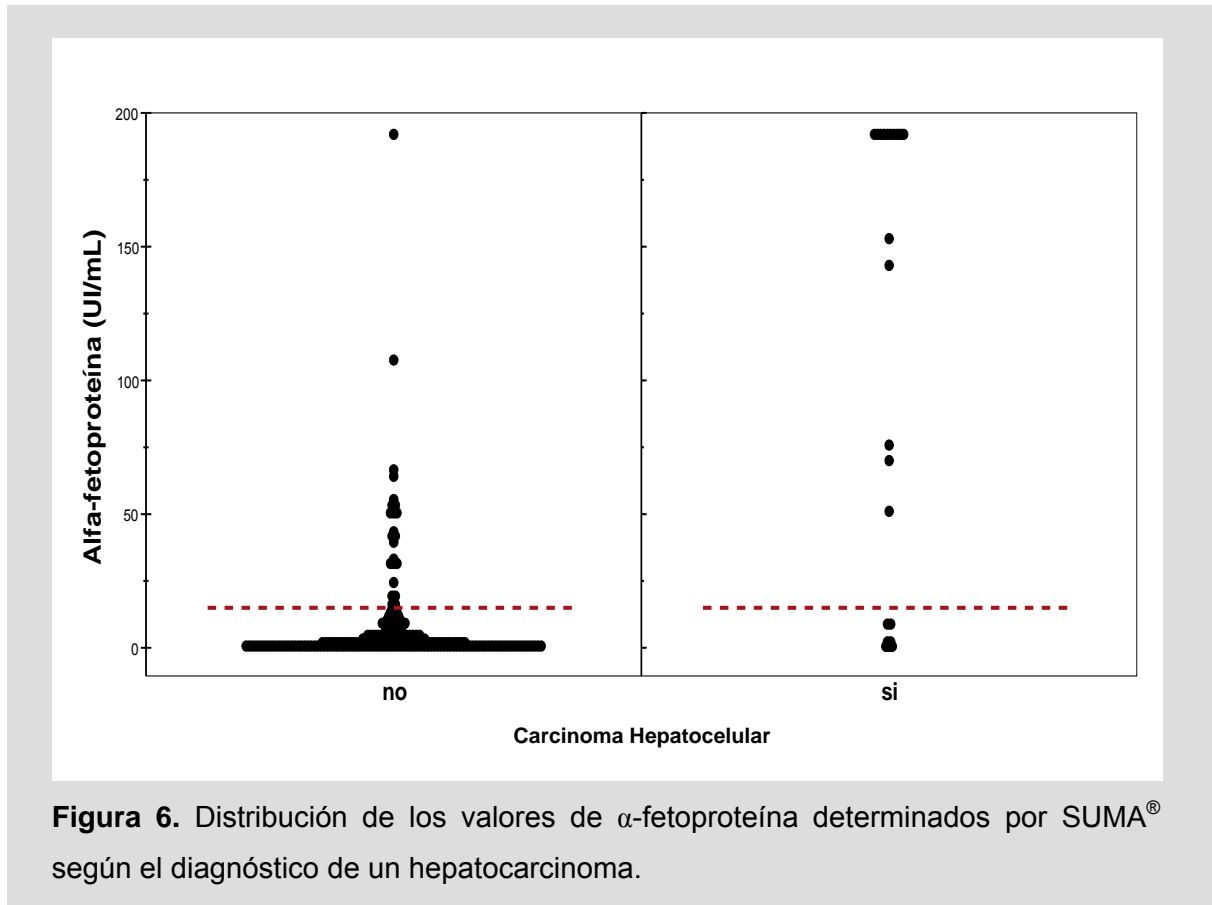
Hepatocarcinoma	AFP*		
	Promedio	(DE)	Mediana
Sí	110,78	( $\pm$ 86,17)	147,99
No	7,40	( $\pm$ 18,43)	1,90
<b>Total</b>	<b>16,43</b>	<b>(<math>\pm</math> 42,26)</b>	<b>2,20</b>

p<0,001

\* valores medidos en UI/mL, AFP:  $\alpha$ -fetoproteína, DE: desviación estándar

En la figura 6 se representa la distribución de los niveles séricos de AFP, donde se puede percibir que en los pacientes con CHC los valores estaban más dispersos y la

mayoría por encima del nivel de referencia. La línea discontinua representa el valor de referencia (15 UI/mL) establecido por el laboratorio.



**Figura 6.** Distribución de los valores de  $\alpha$ -fetoproteína determinados por SUMA<sup>®</sup> según el diagnóstico de un hepatocarcinoma.

### IV.3. Valor predictivo de la $\alpha$ -fetoproteína sérica

La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de la AFP para el diagnóstico del CHC, fue de 68,18%, 92,17%, 45,45% y 96,80% respectivamente. El índice de Youden fue bajo, con un valor de 0,60 (tabla 10).

**Tabla 10.** Capacidad de la  $\alpha$ -fetoproteína para el diagnóstico del hepatocarcinoma.

AFP	CHC		Total
	Sí	No	
Positivo	15	18	33
Negativo	7	212	219
Total	22	230	252
		Valor	IC (95%)
Sensibilidad (%)		68,18	46,45-89,92
Especificidad (%)		92,17	88,49-95,86
Índice de validez (%)		90,08	86,19-93,97
VPP (%)		45,45	26,95-63,96
VPN (%)		96,80	94,25-99,36
Índice de Youden		0,60	0,41-0,80
Razón de verosimilitud +		8,71	5,14-14,76
Razón de verosimilitud -		0,35	0,19-0,64

AFP:  $\alpha$ -fetoproteína, CHC: hepatocarcinoma, VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo.

Los resultados, conforme a las causas de la CH, se representan en la tabla 11. En la CH viral, la sensibilidad fue de 76,92%, la especificidad de 81,25%, el VPP de 35,71% y el VPN de 96,30%. En el caso de la CH alcohólica la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN fue de 50, 100, 100 y 96%, respectivamente. En la criptogénica fue de 60, 100, 100 y 95,24%, respectivamente. El índice Youden fue bajo para todos los grupos de pacientes, con valores de 0,58, 0,50 y 0,60 correspondientes de manera respectiva con los pacientes con CH viral, alcohólica y criptogénica.

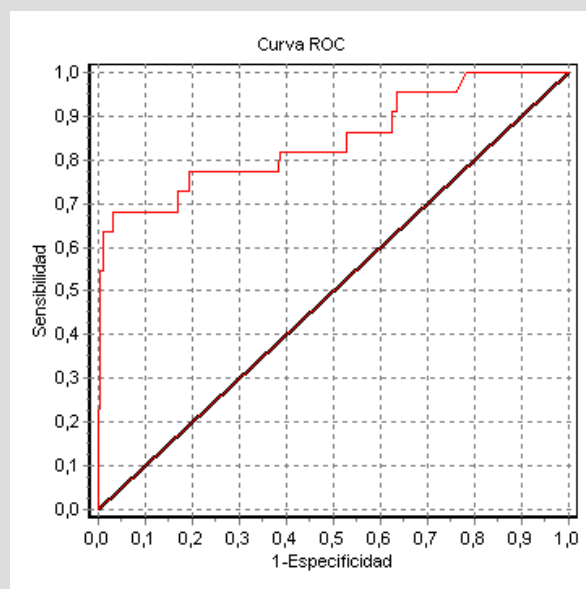
**Tabla 11.** Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, e índice Youden de la  $\alpha$ -fetoproteína para el diagnóstico del hepatocarcinoma, según la etiología de la cirrosis.

	Virales (n = 83)	Alcohólica (n = 36)	Criptogénica (n = 31)
<b>Sensibilidad</b> (IC*)	76,92% (50,17-100,00)	50% (0,00-100,00)	60% (7,06-100,00)
<b>Especificidad</b> (IC*)	81,25% (72,92-89,58)	100% (98,96-100,00)	100% (98,75-100,00)
<b>Índice de validez</b> (IC*)	80,73% (72,87-88,60)	96,15% (89,97-100,00)	95,56% (88,42-100,00)
<b>VPP</b> (IC*)	35,71% (16,18-55,25)	100% (75,00-100,00)	100% (83,33-100,00)
<b>VPN</b> (IC*)	96,30% (91,57-100,00)	96% (89,57-100,00)	95,24% (87,61-100,00)
<b>Índice Youden</b> (IC*)	0,58 (0,10-0,77)	0,50 (0,01-0,99)	0,60 (0,17-1,03)

\* Intervalo de confianza para un 95%, VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo.

La figura 7 muestra la curva ROC de la AFP en el diagnóstico del CHC, la que muestra un área bajo la curva de 0,846 (0,74-0,95).

En la tabla 12 se presentan la sensibilidad, especificidad, VPP, VPN e índice de Youden para los diferentes niveles de corte. Para cada uno de estos grupos el índice de Youden fue también bajo.



**Figura 7.** Curva ROC de la  $\alpha$ -fetoproteína en el diagnóstico del hepatocarcinoma.

**Tabla 12.** Sensibilidad, especificidad e índice de Youden para diferentes niveles de corte de la  $\alpha$ -fetoproteína en el diagnóstico del hepatocarcinoma.

Nivel de corte*	Sensibilidad	Especificidad	Índice de Youden
15,38 UI/mL	68,2%	90,0%	0,582
31,50 UI/mL	68,2%	92,6%	0,608
50,37 UI/mL	68,2%	96,1%	0,643
91,71 UI/mL	54,5%	99,1%	0,536
172,5 UI/mL	45,5%	99,6%	0,451

\*Valor de referencia normal establecido por el laboratorio: 30 UI/mL

#### IV.4. Comportamiento de las concentraciones séricas de $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes con hepatocarcinoma

Como se puede apreciar en la tabla 13, en los pacientes con CHC, los niveles medios de AFP no mostraron diferencias significativas entre los pacientes agrupados según etiología viral (112,83 UI/mL), alcohólica (98,06 UI/mL) y criptogénica (115,61 UI/mL) ( $p=0,934$ ).

**Tabla 13.** Valores de la  $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes con hepatocarcinoma, según etiología.

Diagnóstico	AFP*		
	Promedio	(DE)	Mediana
Hepatitis viral (n: 13)	112,83	( $\pm$ 79,60)	142,98
Alcohol (n: 4)	98,06	( $\pm$ 108,52)	100,11
Criptogénica (n: 5)	115,61	( $\pm$ 104,60)	192,00
<b>Total (n:22)</b>	<b>110,78</b>	<b>(<math>\pm</math> 86,17)</b>	<b>147,99</b>

$p=0,934$

\* valores medidos en UI/mL, AFP:  $\alpha$ -fetoproteína, DE: desviación estándar

En la tabla 14 se presentan los niveles promedios de AFP de acuerdo a las características clínicas de los pacientes con CHC. Como se puede apreciar en esta tabla, los factores de mal pronóstico para el CHC, en este caso descritos como un

tamaño tumoral mayor de 5 cm, el aspecto de tumor multicéntrico y la ausencia de los criterios de Milán, se asociaron de forma significativa con mayores niveles de AFP sérica.

**Tabla 14.** Valores de la  $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes con hepatocarcinoma en dependencia de las características tumorales.

		AFP*			p
		n	Promedio	(DE)	
<b>Tumor multicéntrico</b>	Sí	13	86,55	( $\pm$ 95,91)	<b>0,028</b>
	No	9	79,15	( $\pm$ 78,37)	
<b>Tamaño tumoral</b>	> 5 cm	7	87,97	( $\pm$ 95,82)	<b>0,003</b>
	$\leq$ 5 cm	15	73,98	( $\pm$ 71,11)	
<b>Criterios de Milán</b>	No	15	87,97	( $\pm$ 95,82)	<b>0,003</b>
	Sí	7	73,98	( $\pm$ 71,11)	

\*valores medidos en UI/mL, AFP:  $\alpha$ -fetoproteína sérica, DE: desviación estándar.

#### **IV.5. Valor predictivo del ultrasonido junto a la $\alpha$ -fetoproteína sérica en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular**

En todos los casos se realizaron pruebas imagenológicas, que sirvieron además para establecer el diagnóstico de CHC según los criterios implantados.

En el diagnóstico del CHC, la ecografía abdominal mostró una sensibilidad de 86,36%, una especificidad y VPP de 100% y un VPN de 98,71%. El índice de Youden fue muy bueno (0,86) (tabla 15).

Al combinar el US y la AFP se logró incrementar la sensibilidad hasta 90,91% y el VPN hasta 99,14%. En índice de Youden fue nuevamente muy bueno de 0,91 (tabla 15).

**Tabla 15.** Sensibilidad, especificidad e índice de Youden del US solo y junto a la  $\alpha$ -fetoproteína, para el diagnóstico del hepatocarcinoma.

	US		US+AFP*	
	(IC)		(IC)	
<b>Sensibilidad</b>	86,36%	(69,75-100,00)	90,91%	(76,62-100,00)
<b>Especificidad</b>	100%	(99,78-100,00)	100%	(99,78-100,00)
<b>Índice de Validez</b>	98,81%	(97,27-100,00)	99,21%	(97,91-100,00)
<b>VPP</b>	100%	(97,37-100,00)	100%	(97,50-100,00)
<b>VPN</b>	98,71%	(97,05-100,00)	99,14%	(97,73-100,00)
<b>Índice de Youden</b>	0,86	(0,72-1,01)	0,91	(0,79-1,03)

\*Valor de referencia normal establecido por el laboratorio: 15 UI/mL, AFP:  $\alpha$ -fetoproteína, US: ultrasonido, VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo.

## IV.6. Evaluación de riesgo

### IV.6.1. Riesgo de elevación de $\alpha$ -fetoproteína

El análisis univariado demostró que se asociaron de modo significativo con el riesgo de tener una AFP mayor de 15 UI/mL, la CH viral ( $p < 0,001$ ), el sexo masculino ( $p = 0,001$ ), la edad mayor de 50 años ( $p = 0,001$ ) y el CHC ( $p < 0,001$ ) (tabla 16).

**Tabla 16.** Análisis univariado de factores que se asocian a una  $\alpha$ -fetoproteína mayor de 15 UI/mL.

Variable	OR	IC*	p
<b>Cirrosis viral</b>	8,44	3,36-22,06	<b>&lt;0,001</b>
<b>Sexo masculino</b>	4,10	1,56-11,39	<b>0,001</b>
<b>Hepatocarcinoma</b>	17,57	5,98-53,34	<b>&lt;0,001</b>
<b>Edad &gt; 50 años</b>	3,24	1,53-6,93	<b>0,001</b>

\*Intervalo de confianza para el 95%, OR: Razón de productos cruzados de probabilidad

Al realizar el análisis de regresión logística múltiple, el CHC y la CH viral resultaron ser los factores más importantes relacionados con el riesgo de presentar una AFP sérica mayor de 15 UI/mL (tabla 17).



**Tabla 17.** Análisis de regresión logística múltiple de factores asociados a una  $\alpha$ -fetoproteína mayor de 15 UI/mL.

Variable	OR	IC*	p
<b>Cirrosis viral</b>	9,547	3,359-27,136	<b>&lt;0,001</b>
<b>Hepatocarcinoma</b>	19,447	5,413-69,858	<b>&lt;0,001</b>

\*Intervalo de confianza para el 95%, OR: Razón de productos cruzados de probabilidad

#### IV.6.2. Riesgo de desarrollo de carcinoma hepatocelular en los pacientes cirróticos

En el presente estudio resultaron factores de riesgo para el desarrollo de un CHC la edad mayor de 50 años ( $p < 0,001$ ) y el sexo masculino ( $p = 0,018$ ) (tabla 18).

**Tabla 18.** Análisis univariado de factores que se asocian con el riesgo de presentar un hepatocarcinoma.

Variables	OR	IC*	p
<b>Cirrosis viral</b>	1,85	0,83-4,11	0,170
<b>Sexo masculino</b>	3,64	1,12-11,86	<b>0,018</b>
<b>Edad &gt; 50 años</b>	6,99	2,46-19,85	<b>&lt;0,001</b>

\*Intervalo de confianza para el 95%, OR: Razón de productos cruzados de probabilidad, VHB: virus de la hepatitis B, VHC: virus de la hepatitis C.

En el análisis multivariado, la edad mayor de 50 años resultó ser el factor de riesgo más importante para el desarrollo del CHC con una significación  $p = 0,001$  (tabla 19).

**Tabla 19.** Análisis de regresión logística múltiple de factores asociados con el riesgo de presentar un hepatocarcinoma.

Variable	OR	IC*	p
<b>Edad mayor de 50 años</b>	7,310	3,356-22,685	<b>0,001</b>

\*Intervalo de confianza para el 95%, OR: Razón de productos cruzados de probabilidad



## **CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN**



## CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN

### V.1. Cirrosis hepática

#### V.1.1. Etiología de la cirrosis hepática

En la actualidad se desconoce cuál es la prevalencia real de la CH en el mundo y cualquier dato que se pueda ofrecer no estará libre de una concebida subestimación suscitada por la alta prevalencia de pacientes cirróticos no diagnosticados, principalmente con VHC y EHNA. La principal razón de este fenómeno está determinada porque la enfermedad compensada, sin síntomas o signos manifiestos de insuficiencia hepática y/o hipertensión portal, puede mantenerse bajo estas condiciones durante un considerable período de tiempo.<sup>195</sup>

Las causas de la CH pueden ser identificadas con frecuencia, y dentro de ellas, las más importantes en los países desarrollados, son la infección por el VHC y la enfermedad hepática alcohólica.<sup>196-199</sup> En otras partes del mundo, como el sudeste asiático y el África subsaharasiana, el VHB es la causa determinante.<sup>200</sup>

Se puede afirmar que los resultados del presente trabajo fueron los esperados. La etiología viral, principalmente el VHC, y el alcohol fueron la primera y segunda causa de CH, respectivamente, y como se enunció en el párrafo anterior, este patrón se corresponde con el que se observa en zonas geográficas donde la infección por el VHB no es endémica.<sup>196-199</sup> En Cuba, el creciente predominio del VHC sobre el VHB es resultado de la aplicación de un programa de control en donantes de sangre, y sobre todo, por el impacto del Programa Nacional de Vacunación contra el VHB, que comenzó en 1991 con la administración de una efectiva vacuna de producción nacional (Heber-BioVacHB®) a los hijos de madres portadoras del virus, y

posteriormente, en el año 1992, se amplió a todos los recién nacidos, junto a la vacunación de las cohortes de los niños con 8 y 14 años de edad, a partir de 1994.<sup>201</sup> Con estas estrategias, en Cuba no se han reportado desde el año 2000 nuevos casos de hepatitis B aguda en niños menores de 5 años, y se arribó al año 2006 con la noticia de haber eliminado el referido virus en la población menor de 25 años.<sup>201,202</sup> Así la nación caribeña entra dentro del selecto grupo de países que se proponen a largo plazo, la erradicación total y definitiva de esta enfermedad.<sup>201</sup>

Respecto al VHC, se estima que existen en el mundo entre 123 a 180 millones de personas infectadas por este virus (ver tabla 20), una cifra que atañe aproximadamente a 3% de

**Tabla 20.** Prevalencia estimada de la hepatitis C por región geográfica.

Región	Población infectada (millón)	Prevalencia (%)
Europa	8,9	1,0
América	13,1	1,7
Sudeste de Asia	32,3	2,2
Pacífico occidental	62,2	3,9
Mediterráneo oriental	21,3	4,6
África	31,9	5,3

Datos tomados de: Wkly Epidemiol Rec.1999;74:425-7 (referencia 203)

la población mundial.<sup>203-205</sup> De estos, 2 a 30% van a evolucionar a la CH.<sup>206</sup> Con todos estos datos, se ha estimado que a nivel mundial el 27% de los pacientes cirróticos y el 25% de los CHC, tienen lugar en personas con VHC.<sup>207</sup> En la gran mayoría de los países desarrollados la prevalencia de esta infección viral muestra una propensión a la disminución, con tasas inferiores al 3%, mientras que en las zonas geográficas con alta prevalencia de VHC, como por ejemplo Egipto, las tasas muestran un rango entre 10 a 30%.<sup>208</sup> La progresión a la CH tiene generalmente un curso silente y muchos enfermos no saben que padecen la infección hasta que no

presentan complicaciones relacionadas con una enfermedad hepática terminal o un CHC.

En Cuba, los datos epidemiológicos relacionados con el VHC, provienen fundamentalmente de estudios obtenidos de los donantes de sangre, y como ha ocurrido en otras partes del mundo, la principal fuente de adquisición de la infección está relacionada con las transfusiones de hemoderivados antes de la mitad de la década del 90 del siglo pasado, momento en que se introdujo el programa de pesquisa de VHC en los bancos de sangre por técnica SUMA<sup>®</sup>. La prevalencia del VHC en los donantes de sangre se mantiene en un rango entre 0,9 y 1,5%.<sup>210</sup> Si se tiene en cuenta estos datos, la evolución natural de la enfermedad viral y la tendencia creciente hacia el envejecimiento de la población, se puede pronosticar, un máximo probable de complicaciones relacionadas con la CH y el CHC entre los años 2020 y 2030, aspecto que requiere de la atención y preparación oportuna por parte de nuestro Sistema Nacional de Salud.

Con respecto a la etiología alcohólica, varios estudios han demostrado que en algunas zonas geográficas el alcohol llega a ser la principal causa de CH. En muchos países desarrollados, entre 5 y 66% de todas las enfermedades hepáticas crónicas, están relacionadas con el consumo de alcohol.<sup>197</sup> En la tabla 21 se representa una estimación del consumo per cápita de bebidas alcohólicas en diferentes regiones del mundo, donde Cuba exhibe hábitos que no dejan de ser despreciables.<sup>210</sup> Estos datos estadísticos son suficientes por sí mismos, para explicar por qué la etiología alcohólica se encuentra entre las principales causas de CH en la población estudiada (tabla 4).

**Tabla 21.** Consumo de bebidas alcohólicas en el mundo.

Región*		Consumo total de alcohol <sup>†</sup> (L/a)	% de bebedores entre los hombres	% de bebedores entre las mujeres	Consumo de alcohol por bebedor <sup>‡</sup> (L/a)
África	D (ej: Nigeria, Argelia)	4,9	47	27	13,3
	E (ej: Etiopía, Sudáfrica)	7,1	55	30	16,6
<b>América</b>	<b>A (Canadá, <u>Cuba</u>, EEUU)</b>	<b>9,3</b>	<b>73</b>	<b>58</b>	<b>14,3</b>
	B (ej: Brasil, México)	9,0	75	53	14,1
	D (ej: Bolivia, Perú)	5,1	74	60	7,6
Medit. oriental	B (ej: Irán, Arabia S.)	1,3	18	4	11,0
	D (ej: Afganistán)	0,6	17	1	6,0
Europa	A (ej: Alemania, RU)	12,9	90	81	15,1
	B (ej: Bulgaria, Polonia)	8,3	72	52	13,4
	C (ej: Rusia, Ucrania)	13,9	89	81	16,5
Sudeste de Asia	B (ej: Indonesia, Tailandia)	3,1	35	9	13,7
	C (ej: India, Bangladesh)	2,0	26	4	12,9
Pacif. occidental	A (ej: Australia, Japón)	8,5	87	77	10,4
	B (ej: China, Filipinas)	5,0	84	30	8,8

\* Según la OMS, <sup>†</sup> Estimado de consumo total de alcohol por residente mayor de 15 años (registrado y sin registrar),

<sup>‡</sup> Estimado de consumo total de alcohol por bebedor adulto, L/a: litros de alcohol por año, Medit: Mediterráneo, Pacif: Pacífico

Tomado y adaptado de: Rehm J, et al. Eur Addict Res. 2003;9:147-56 (referencia 210)

La tercera causa de CH en este estudio fue la criptogénica (ver tabla 4). Su diagnóstico se hace después de una evaluación extensiva que ha excluido etiologías reconocibles. En el mundo, la prevalencia de esta entidad tiene rangos que oscilan entre 5 y 30% entre los pacientes cirróticos y por ejemplo en los EEUU, constituye la cuarta causa de TH. Las posibles enfermedades relacionadas con este grupo incluyen: el consumo de bebidas alcohólicas de forma oculta, las infecciones virales desconocidas (no A, no B, no C), la hepatitis autoinmune y la EHNA.<sup>211</sup> La EHNA ha ganado la atención de muchos investigadores, una enfermedad crónica caracterizada por esteatosis, inflamación celular, degeneración hepatocitaria focal y fibrosis, en ausencia de causas atribuibles al consumo de bebidas alcohólicas, infección viral o drogas.<sup>211</sup> La estimación exacta de la incidencia, prevalencia e historia natural no son



del todo conocidas, en estos momentos es la principal causa de atención médica por los hepatólogos en muchas regiones.<sup>212</sup> Con frecuencia es asintomática y puede progresar de manera silente hacia la CH.<sup>213</sup>

### V.1.2. Particularidades demográficas de los pacientes cirróticos

Estudios epidemiológicos han identificado algunos factores que favorecen la evolución hacia la CH. Entre estos, encontramos la edad mayor de 50 años y el sexo masculino, que se suman a otros mejores conocidos, como el consumo regular de bebidas alcohólicas, la EHNA y el VHC (tabla 22).<sup>214-218</sup>

**Tabla 22.** Estudios donde se relacionan la edad y el sexo como factores de riesgo independientes asociados al desarrollo de cirrosis.

Autor (año)	Referencia bibliográfica	Diagnóstico	n	Factor
Poynard (1997)	215	VHC	2235	Edad > 40 años Sexo masculino
Bellentani (1997)	214	Alcohol	6917	Edad > 50 años Sexo masculino
Angulo (1999)	216	EHNA	144	Edad > 45 años
Ratziu (2000)	217	EHNA	93	Edad ≥ 50 años

VHC: virus de la hepatitis C, EHNA: esteatohepatitis no alcohólica

Como era de esperar en este estudio, el sexo masculino fue predominante entre los pacientes con CH viral y CH alcohólica (ver tabla 5). Las causas de esta distribución es motivo de investigación en la actualidad.<sup>219</sup>

En busca de una explicación a este fenómeno, se han propuesto varios mecanismos, aparte de los conocidos factores histórico-sociales que se pueden ver con más frecuencia entre los pacientes del sexo masculino, sobre todo vinculados al consumo de bebidas alcohólicas y la infección viral.<sup>210,219</sup> La hipótesis del probable efecto

protector de los estrógenos en la severidad de la respuesta inflamatoria y la fibrogénesis hepática frente a una hepatitis viral, ha sido un tema muy atrayente que intenta explicar mediante mecanismos biológicos esta notoria diferencia entre los sexos.<sup>219</sup>

Con respecto a la edad, se ha llegado a la conclusión de que constituye uno de los factores principales de riesgo asociados a una progresión acelerada de la enfermedad en pacientes con hepatitis crónica viral. A medida que aumenta la edad de adquisición de la enfermedad, mayor es la tasa de progresión de la fibrosis. Los mecanismos responsables de esta asociación, son también desconocidos, y se ha planteado que posiblemente los factores inmunes juegan un rol trascendental junto a los ya mencionados factores relativos al sexo.<sup>219</sup> En este sentido se ha llegado a sugerir que a mayor edad, el hígado puede ser más vulnerable a la fibrosis como consecuencia de una mayor sensibilidad al estrés oxidativo y una reducción del flujo sanguíneo.<sup>219</sup>

La edad promedio en este estudio se comportó dentro de los valores reportados en la literatura (tabla 6 y 20), a pesar de que la investigación fue realizada por un grupo de TH, al que con frecuencia solo le remiten pacientes menores de 60 años (figura 5). Los pacientes mayores de este límite de edad tienen con frecuencia contraindicaciones para el TH.

Por su parte, la edad fue mayor y el sexo predominante fue el masculino en los pacientes con CH viral y alcohólica, comparada con los pacientes con CH criptogénica y otras etiologías, (ver tablas 5, 6 y 7). Este resultado es el esperado, si se tiene en cuenta que estamos en presencia de enfermedades donde se ha

reportado con más frecuencia estas características demográficas al momento del diagnóstico.<sup>211</sup>

## **V.2. Carcinoma Hepatocelular**

### **V.2.1. Etiología relacionada con el carcinoma hepatocelular**

Desde hace mucho tiempo se ha identificado a la CH como el factor de riesgo más importante para el desarrollo del CHC.<sup>102,132,221</sup> El riesgo anual de desarrollo de esta enfermedad maligna en los pacientes con CH es de 3 a 5%, independientemente de la causa.<sup>55,222</sup> Por su parte, 70 a 90% de los casos con CHC tienen de base una CH.<sup>223</sup>

En el presente estudio, se demostró que 11,64% de la población estudiada desarrolló el CHC (tabla 4). Las principales causas se relacionaron, por orden de frecuencia, con la CH viral, principalmente el VHC, la CH criptogénica y la alcohólica. Estos datos se comportan de forma similar con lo que se reporta en la literatura en países con una baja tasa de incidencia y prevalencia del VHB.<sup>132,133,224</sup>

#### **V.2.1.1. Hepatitis viral**

Dentro de las causas del CHC, la etiología viral fue la más importante y entre ellas, el VHC jugó un papel trascendental, al ser realizado este estudio en una zona geográfica con baja incidencia de VHB. A nivel mundial el VHC es la segunda causa de hepatitis crónica, CH y CHC. El riesgo anual para el CHC es de 1 a 4%, aunque puede ser mayor en algunas zonas geográficas como Japón.<sup>225</sup> A diferencia del VHB, se ha demostrado que ocurre casi exclusivamente en pacientes cirróticos. En este

caso la transformación maligna ocurre principalmente en el sitio de un daño hepático crónico, regeneración y fibrosis; por lo que el incremento de la inflamación y los daños del ADN celular facilitan la activación de oncogenes, inactivación de genes supresores y la estimulación exagerada de factores de crecimiento y angiogénesis.<sup>226</sup>

Recientes estudios han investigado el probable papel oncogénico directamente relacionado con el VHC. Se ha demostrado que la proteína del core del VHC es capaz de inducir transformación maligna en ratones transgénicos y por estos resultados se ha propuesto que pueden tener un papel importante en el desarrollo de CHC en estos pacientes. Esta misma proteína viral puede contribuir al desarrollo de la esteatosis hepática, otro de los factores de riesgo que contribuyen con la hepatocarcinogénesis.<sup>22,226</sup>

Por su parte, aunque en este estudio el VHB fue una etiología menos frecuente comparada con los portadores de VHC, la proporción de pacientes con CHC fue mayor (tabla 4). En estos casos el riesgo no solo está relacionado con factores del huésped, que de manera similar al VHC, están vinculados con la necrosis e inflamación crónica, y el correspondiente desarrollo de fibrosis y proliferación de los hepatocitos. El virus puede codificar proteínas oncogénicas, como por ejemplo el HBx. Ambos factores, el viral y el huésped, pueden contribuir con la hepatocarcinogénesis, ya sea de manera individual o sinérgica.<sup>22,227</sup>

A nivel mundial el VHB es la causa más frecuente de CHC, con una incidencia anual de aproximadamente 0,5% en los portadores del virus. Esta cifra se incrementa a 1% en pacientes de 70 años o más, y puede alcanzar el 2,5% en pacientes cirróticos. Comparada con la población que no tiene el virus, el riesgo es 5 a 15 veces superior.

Este riesgo elevado se aplica principalmente en zonas donde el virus tiene un patrón endémico desde el punto de vista epidemiológico.<sup>22,226</sup>

#### **V.2.1.2. Cirrosis criptogénica**

La CH criptogénica también se encontró entre las causas principales de CHC en el presente estudio (ver tabla 4) y al igual que el VHC, los mecanismos que favorecen la transformación maligna están relacionados principalmente con fenómenos vinculados con el huésped (fibrosis y regeneración hepatocitaria).

En este aspecto haremos un comentario que tiene trascendencia por su actualidad. Cada vez es más frecuente encontrar referencias donde se establece la estrecha relación entre la EHNA, una de las entidades más importantes asociadas a la CH criptogénica y el CHC. En el mundo se ha incrementado el número de personas con sobrepeso y obesidad, promovido principalmente por el incremento del sedentarismo y la globalización de malos hábitos nutricionales.

Por ejemplo, en los EEUU se estima que existen 60 millones de personas que sufren de EHNA, un país donde, según datos ofrecidos por la OMS, en el año 2005 el 42% de la población femenina y el 37% de la población masculina, mayores de 15 años, son obesas.<sup>66,228</sup> Otros países que mostraron niveles bajos de obesidad en años anteriores, experimentan en la actualidad un crecimiento alarmante, como por ejemplo Italia, lugar donde el 13% de la población masculina y femenina mayores de 15 años son obesas, con un estimado de 12 a 15 millones de personas que sufren de EHNA.<sup>66,228</sup>

Se ha documentado el desarrollo de CHC en pacientes obesos. Esta condición, generalmente se distingue por el desarrollo de esteatosis hepática, que se ha asociado con una actividad necroinflamatoria y fibrosis más severa.<sup>22</sup> En una reciente publicación presentada por Larsson y Wolk,<sup>229</sup> se reportó que en pacientes con índice de masa corporal entre 25 y 30 Kg/m<sup>2</sup> (sobrepeso) y mayor de 30 Kg/m<sup>2</sup> (obeso), el riesgo relativo para el desarrollo del CHC fue de 1,17 (95% IC = 1,02-1,34) y 1,89 (95% IC = 1,51-2,36), respectivamente.

Muy relacionada con la obesidad, se ha descrito la presencia de la diabetes mellitus, que también ha sido propuesta como un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad hepática crónica y CHC.<sup>230</sup> Si se tiene en cuenta que estas dos enfermedades (la obesidad y la diabetes mellitus) son problemas crecientes de salud a nivel mundial, se puede pronosticar que la EHNA, la CH y el CHC se incrementarán en los próximos años de manera notoria.<sup>22,231,232</sup>

### **V.2.1.3. Alcoholismo**

Cuando valoramos la etiología alcohólica, primeramente se debe recordar que el consumo excesivo de alcohol ha constituido un factor importante para el desarrollo del CHC en algunas zonas geográficas, como América del Norte y el oeste de Europa. El alcoholismo representa en los momentos actuales un creciente problema de salud. Muchas regiones ven con alarma el aumento de sus niveles de consumo y la disminución de las edades en que se empieza a beber.<sup>228</sup>

El mecanismo más importante por el que se produce la transformación maligna, es a través del desarrollo de la CH, un aspecto que ha sido bien documentado y que junto

a otros factores, como la hepatitis crónica viral y la exposición a la AFB<sub>1</sub>, contribuyen de manera directa con la potenciación de la fibrogénesis y la hepatocarcinogénesis.<sup>22,230,233,234</sup> En las últimas tres décadas, la reducción del consumo de alcohol observada en algunos países de Europa ha contribuido con la disminución de la incidencia de la CH, con el consecuente impacto favorable en la mortalidad por CHC.<sup>230</sup>

### V.2.2. Factores demográficos y clínicos relacionados con el carcinoma hepatocelular

En este trabajo el sexo masculino y la edad mayor de 50 años se asociaron a un riesgo importante de desarrollo del CHC (tabla 18). En el análisis multivariado la edad mayor de 50 años fue la variable más importante (ver tabla 19). Estos resultados concuerdan con lo que se reporta en otras publicaciones (tabla 23).<sup>77,174,235-237</sup>

**Tabla 23.** Estudios donde se relacionan la edad y el sexo como factores independientes asociados con el desarrollo de carcinoma hepatocelular.

Autor (año)	Referencia Bibliográfica	Diagnóstico	n	Factor
Degos (2000)	77	CH por VHC	416	Sexo masculino Edad > 57 años
Marrero (2005)	236	CH con sospecha de lesión	94	Edad > 50 años
Donato (2001)	237	CH	208	Edad > 50 años

VHC: virus de la hepatitis C, CH: cirrosis hepática

A continuación abordaremos el análisis de estos factores de manera separada.

### **V.2.2.1. Edad**

El CHC es una enfermedad que raramente se presenta antes de los 40 años de edad. Después de este límite, su incidencia se incrementa progresivamente y alcanza un pico máximo entre 70 y 75 años.<sup>22,31</sup> Este parámetro también tiene una distribución geográfica característica, relacionada principalmente con la etiología de la enfermedad. En países con bajas tasas de CHC, como por ejemplo Canadá, EEUU y Reino Unido, la mayor afectación tiene lugar en pacientes cirróticos mayores de 75 años de edad.<sup>22</sup> Patrón similar se puede apreciar en la mayoría de las poblaciones asiáticas de alto riesgo, como por ejemplo Hong-Kong y Shanghai.<sup>22</sup> Sin embargo, en poblaciones del continente africano con alto riesgo de desarrollo de CHC, el pico máximo de edad tiene lugar en edades más tempranas.<sup>22</sup> Estas diferencias están relacionadas principalmente con los factores etiológicos, la edad de adquisición de la infección viral y la existencia de otros factores de riesgo. Los pacientes afectados con el VHC, adquieren principalmente la enfermedad en edades adultas, mientras que en las zonas endémicas de VHB, la vía de transmisión de la enfermedad es principalmente vertical (de madre a hijo), por lo que se infectan desde edades muy tempranas.<sup>22</sup>

### **V.2.2.2. Sexo**

Se conoce que el sexo masculino predomina más en los pacientes con CHC con una proporción dos a cuatro veces superior, con respecto al femenino.<sup>22</sup> Son bien conocidas las diferencias establecidas por los factores ambientales ya descritos previamente (ver acápite V.1.2.); sin embargo, en los últimos años los factores



genéticos y hormonales, como factores de riesgo de desarrollo de CHC, ha constituido un incentivo para el desarrollo de importantes investigaciones.

El hígado es un órgano que manifiesta receptores estrogénicos y androgénicos. Este hallazgo puede explicar en parte, por qué este órgano es modulado funcional y morfológicamente por hormonas sexuales. Basado en los resultados de diferentes estudios epidemiológicos, se ha planteado que el uso de esteroides androgénicos anabólicos y algunos anticonceptivos orales pueden inducir tumores hepáticos benignos (hemangioma, adenoma e hiperplasia nodular focal) y CHC.<sup>105,106</sup>

También, a partir de los resultados de diferentes investigaciones realizadas en modelos animales, se ha llegado a la conclusión de la estrecha relación que existe entre la exposición mantenida de las hormonas sexuales y el desarrollo de CHC. Este fenómeno puede ocurrir como consecuencia de los diferentes daños en el ADN que tiene lugar después de una elevada estimulación del crecimiento y la proliferación celular, y que puede ser mediada inicialmente por los receptores estrogénicos y androgénicos.<sup>106</sup> En estos estudios preclínicos se ha señalado que los estrógenos tienen un efecto protector contra el desarrollo del CHC, al interferir con la producción de la citocina proinflamatoria interleucina-6 por las células de Kupffer, que a su vez es dependiente de la proteína adaptadora MyD88, que a su vez, muestra una elevada expresión en el sexo masculino.<sup>238</sup>

En las últimas décadas, algunos investigadores estimulados por las evidencias antes señaladas, han iniciado diferentes ensayos clínicos para demostrar la eficacia del tratamiento hormonal en pacientes con CHC.<sup>106</sup>

### **V.3. Valor de la $\alpha$ -fetoproteína en el diagnóstico y pronóstico del carcinoma hepatocelular**

#### **V.3.1. Factores asociados a concentraciones elevadas de $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes cirróticos**

Aunque el incremento de los niveles séricos de AFP se ha asociado con algunos tipos de carcinoma, esta ha sido empleada principalmente como marcador tumoral para el CHC, y para muchos equipos ha sido considerada como la “prueba de oro”.<sup>239,240</sup>

En el trabajo que se expone, se describió que los niveles séricos de AFP determinados por técnica SUMA<sup>®</sup>, fueron significativamente superiores en los pacientes con edades de 50 años o más, en los enfermos con CH viral y en los que tenían CHC (tabla 7 y 9). Estas mismas variables, junto al sexo masculino, se identificaron como factores de riesgo asociados a una elevación de la AFP (>15 UI/mL) en la población estudiada (ver tabla 16).

Como era de esperar, el CHC y la CH viral constituyeron los factores más importantes (ver acápite IV.6.1). Ejemplo de esta asociación fue descrita por Zoli y colaboradores<sup>241</sup>, quienes presentaron un estudio donde realizaron un seguimiento a 164 pacientes cirróticos. Ellos demostraron que los niveles elevados de AFP mostraron diferencias significativas entre los que desarrollaron CHC y los que permanecieron libres de esta enfermedad al final del estudio. Este parámetro, junto al sexo masculino fueron factores pronósticos independientes de desarrollo de CHC (tabla 24).

**Tabla 24.** Análisis univariado del sexo y la  $\alpha$ -fetoproteína relacionados con el desarrollo del hepatocarcinoma, reportado por Zoli y colaboradores.

Variable	n	Pacientes con CHC	p
<b>Sexo:</b> masculino	75	23	<b>0,0057</b>
femenino	89	11	
<b>AFP:</b> $\leq$ 20 ng/mL	132	22	<b>0,0028</b>
> 20 ng/mL	32	12	

AFP: alfa-fetoproteína

Fuente: Zoli M, et al. Cancer. 1996; 78(5): 977-85 (referencia 241)

Los resultados del presente estudio también coinciden con otros que han investigado la influencia de los virus en las concentraciones de AFP. Los niveles elevados de AFP pueden ser vistos en pacientes con hepatitis viral sin CHC detectable. Si se tienen en cuenta los resultados de diferentes investigaciones, se puede aseverar que entre 10 y 43% de las personas que tienen una infección crónica por VHC tienen niveles elevados de AFP.<sup>166,242-244</sup> Se ha intentado buscar una explicación a este fenómeno y en diferentes estudios se ha demostrado una correlación directa entre los niveles elevados de AFP con el grado de actividad inflamatoria demostrada en las biopsias hepáticas.<sup>184,243,244</sup>

Todos estos hallazgos nos ayudan a plantear que la AFP puede ser empleada en la práctica clínica como marcador pronóstico que ayudaría a predecir el grado de fibrosis hepática y la actividad necroinflamatoria asociada a la hepatitis crónica viral. El valor de la edad y el sexo, como variables asociadas a una AFP elevada han sido poco estudiados y no se les ha dado mucha importancia. En un reciente estudio realizado en Taiwán por Tai y colaboradores<sup>244</sup>, se logró demostrar que en pacientes

con hepatitis crónica por VHC, los que tenían más de 55 años, presentaban con frecuencia niveles elevados de AFP sérica.

En otro estudio, en este caso realizado por Bruce y colaboradores<sup>184</sup>, se llegó a un resultado similar. Se logró demostrar en 192 pacientes con VHC, que aquellos que tenían niveles elevados de AFP de manera persistente presentaban una edad media de 51,1 años; significativamente superior al ser comparados con los que tuvieron niveles normales o ligeramente elevados de AFP. En este mismo estudio, el sexo masculino fue predominante en los pacientes que tenían niveles elevados de AFP (57%) con diferencias significativas con respecto al resto de los enfermos.

La presente investigación tuvo similares conclusiones y las posibles explicaciones a este hecho ya han ido abordadas previamente cuando se analizaron las características demográficas de la población estudiada y de los pacientes con CHC (acápites V.1.2 y V.2.2).

### **V.3.2. Valor diagnóstico de la $\alpha$ -fetoproteína en el hepatocarcinoma**

Los diferentes estudios que han estimado la utilidad de la AFP como herramienta de pesquisa y vigilancia, no han tenido uniformidad y difieren de manera importante en su diseño y en las características de los pacientes estudiados (tipo de infección viral, tipo de severidad de la enfermedad hepática y características étnicas). Estas han sido algunas de las explicaciones a esta gran variabilidad; y como se puede observar en la tabla 25, la sensibilidad puede mostrar un rango entre 41 y 69%, y una especificidad entre 75 y 94%.<sup>13,16,150,161,162,165,170,171,239,245-247</sup>

**Tabla 25** Sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y positivo de la  $\alpha$ -fetoproteína en la pesquisa del hepatocarcinoma.

Autor del estudio (año)	Nivel de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Sherman (1995) <sup>246</sup>	20 ng/mL	64,3	91,4
Peng (1999) <sup>247</sup>	20 ng/mL	65,0	87,0
Cedrone (2000) <sup>162</sup>	20 ng/mL	55,0	88,0
Ishii (2000) <sup>245</sup>	20 ng/mL	61,2	78,3
Gambarin-Gelwan (2000) <sup>150</sup>	20 ng/mL	58,0	91,0
	50 ng/mL	47,0	96,0
Tong (2001) <sup>13</sup>	20 ng/mL	41,0	94,0
Trevisani (2001) <sup>16</sup>	20 ng/mL	60,0	89,4
	200 ng/mL	22,4	99,4
	400 ng/mL	17,1	99,4
Nguyen (2002) <sup>161</sup>	20 ng/mL	63,0	79,9
	50 ng/mL	50,6	89,3
	100 ng/mL	41,4	97,3
	200 ng/mL	32,1	100,0
El-Houseini (2005) <sup>171</sup>	19,8 ng/mL	68,2	75,0
Huo (2007) <sup>165</sup>	29 ng/mL	58,0	94,0
Durazo (2008) <sup>170</sup>	25 ng/mL	69,0	87,0
Marrero (2009) <sup>239</sup>	20 ng/mL	59,0	90,0
<b>Presente estudio</b>	<b>19,07 ng/mL (15,38 UI/mL)</b>	<b>68,2</b>	<b>90,0</b>
<b>(tabla 13)</b>	<b>39,06 ng/mL (31,50 UI/mL)</b>	<b>68,2</b>	<b>92,6</b>
	<b>62,46 ng/mL (50,37 UI/mL)</b>	<b>68,2</b>	<b>96,1</b>
	<b>113,72 ng/mL (91,71 UI/mL)</b>	<b>54,5</b>	<b>99,1</b>
	<b>213,90 ng/mL (172,50 UI/mL)</b>	<b>45,5</b>	<b>99,6</b>

En un trabajo presentado por Trevisiani y colaboradores<sup>16</sup> se propuso que el mejor nivel de corte de la AFP se encuentra en un rango entre 16 y 20 ng/mL. Para un nivel de 20 ng/mL, la especificidad fue considerada como alta (89,4%), sin embargo la sensibilidad fue de solamente 60%, lo que representa que un número importante de pacientes con CHC (40%) pueden ser considerados como falsos negativos, o dicho en otras palabras, no pueden ser diagnosticados mediante la AFP sérica (ver tabla 25). La disminución del nivel de corte permite la identificación de más casos (aumenta la sensibilidad), pero también se produce un incremento de falsos

positivos. Con mayores niveles de corte pueden ser detectados menos casos (disminuye la sensibilidad).

En otro estudio realizado por Gambarin-Gelman y colaboradores,<sup>150</sup> al emplear el mismo nivel de corte de 20 ng/mL, obtuvieron una sensibilidad y especificidad de 58% y 91%, respectivamente. En cambio, a niveles superiores de AFP (50 ng/mL) el VPP se incrementó desde 58% a 75%. Es importante señalar, que para este último nivel, también disminuyó la sensibilidad desde 58% a 47% (ver tabla 25).

Trabajos más recientes, en este caso planteados por Durazo y colaboradores<sup>170</sup>, y El-Husseini y colaboradores<sup>171</sup> lograron obtener con niveles de corte entre 19,8 y 25 ng/mL, los mayores valores de sensibilidad reportados en la literatura (69% y 68,2%, respectivamente). La especificidad en estos dos estudios fue discretamente inferior (ver tabla 28).

En la presente investigación, la sensibilidad y la especificidad de la AFP sérica por técnica SUMA<sup>®</sup>, mostraron resultados catalogados como buenos, si lo comparamos con los reportes antes mencionados. Para un nivel de corte de 15,38 UI/mL (equivalente a 19,07 ng/mL), la sensibilidad fue de 68,2%, una cifra que es superior a la media de todos los estudios expuestos en la tabla 25 (60%), y similar a los dos últimos estudios anteriormente descritos. Para este mismo nivel de corte, la especificidad también fue alta, con un valor de 90%, cifra que se encuentra entre los parámetros descritos por los diferentes autores señalados en la tabla 28 (entre 78,3% y 94%).

Se pudo concluir que niveles de 91,71 UI/mL (113,72 ng/mL) o más, tuvieron valor diagnóstico, con una especificidad superior a 99%. En otras palabras, menos de 1%

de los pacientes que no tenían CHC, presentaron niveles muy elevados de AFP (>100 ng/mL). Este resultado fue superior a los estudios de Nguyen y colaboradores<sup>161</sup> (tabla 25), quienes con niveles de AFP de 100 ng/mL, la especificidad alcanzada fue inferior (97,3%) al del presente estudio; sin embargo, al alcanzar 200 ng/mL o más, tuvieron 100% de especificidad. En el trabajo de Trevisani y colaboradores<sup>16</sup>, niveles superiores a 200 ng/mL tuvieron una especificidad de 99,4%.

A manera de conclusión, se puede apoyar la opinión vertida en un reciente artículo presentado por Gómez Senent y colaboradores,<sup>248</sup> quienes plantearon que la alta especificidad que se puede alcanzar con niveles muy elevados de AFP, permite que se pueda emplear con gran utilidad como prueba confirmatoria para el CHC.

### **V.3.3. Valor pronóstico de la $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes con hepatocarcinoma**

Al decidir una conducta eficaz para el tratamiento de una enfermedad maligna, se requiere de una correcta estimación pronóstica de su evolución, acción que es conocida con frecuencia como estadiamiento. La evaluación de la progresión del CHC, que a la vez es proporcional a un pronóstico adverso, se basa principalmente en la estimación del tamaño y el número de nódulos, la presencia de infiltración vascular, como la trombosis de la vena porta, y la presencia de metástasis a distancia.<sup>249-251</sup>

Varios estudios han confirmado que el tamaño tumoral es uno de los factores pronósticos más importantes.<sup>247</sup> La tasa de supervivencia a los 5 años entre los

pacientes con CHC pequeños (menores o iguales a 5 cm) es significativamente mayor que en los que tienen tumores grandes (mayores de 5cm).<sup>252-256</sup> De igual manera, el pronóstico de los pacientes con tumores únicos es mucho mejor que en aquellos con nódulos múltiples.<sup>257</sup>

El TH es considerado la única opción curativa del CHC.<sup>258</sup> La actual tasa de supervivencia al año y a los cinco años, para los pacientes trasplantados por CHC es de 77% y 61%, respectivamente. La supervivencia a los 5 años ha mejorado de manera continua desde 25% en 1987 hasta 61% durante los años 1996 a 2001.<sup>259-262</sup>

La notable mejoría de estos resultados ha sido atribuida, como principal causa, a la incorporación de los criterios de Milán como guía para la selección de los pacientes para TH. Estos criterios fueron publicados por Mazzaferro y colaboradores<sup>138</sup> en 1996 (anexo 4).

La AFP ha sido catalogada últimamente como marcador tumoral asociado a factores pronósticos relativos al tumor. En la actualidad se conoce, que un incremento de los niveles séricos de AFP en los pacientes con CHC, es un predictor de menor supervivencia y por lo tanto, peor pronóstico.<sup>172,179,180,263-265</sup> En la tabla 26 se ejemplifica esta última sentencia mediante los resultados expuestos por Toyoda y colaboradores.<sup>180</sup>

**Tabla 26.** Tasas de supervivencia de acuerdo al nivel de  $\alpha$ -fetoproteína en el momento inicial del diagnóstico de hepatocarcinoma.

	Tasa de supervivencia (%)				
	1 año	3 años	5 años	8 años	10 años
AFP ( $\leq$ 400 ng/mL) (n = 2076)	88,6	64,8	45,3	20,4	14,1
AFP (> 400 ng/mL) (n = 524)	62,6	40,7	25,7	0	0

p < 0,0001

AFP: alfa-fetoproteína

Fuente: Toyoda H, et al. Hepatol Res. 2007;37Suppl2:S166-71 (referencia 180)



De igual manera, se ha comprobado que en los pacientes que reciben una modalidad terapéutica para el CHC con fines curativos, como el trasplante y la resección hepática, los niveles elevados de AFP sérica previos al tratamiento son considerados como factores predictivos de recurrencia tumoral.<sup>183,266-270</sup>

Los fundamentos científicos de este comportamiento, aún no han sido bien dilucidados, aunque se sugiere que puede ser manifestación de un fenotipo tumoral más agresivo. Algunos genes que están expresados de una manera coordinada con la AFP, son responsables del rápido crecimiento tumoral, la trombosis portal y la pérdida de la diferenciación, que es observada con frecuencia en los CHC que muestran una elevación de los niveles de AFP sérica.<sup>172,263</sup>

Cuando se ha intentado correlacionar los niveles de AFP con el tamaño del tumor, se ha concluido que a mayores concentraciones séricas, es mayor la posibilidad de hallar un nódulo de mayor tamaño, y por lo tanto, un estado más avanzado de la enfermedad neoplásica. Con todos estos resultados cada día es más aceptada la posibilidad de emplear la AFP como marcador de recurrencia y peor pronóstico del CHC.<sup>172,183,266-270</sup>

Durazo y colaboradores<sup>170</sup>, reportaron en su trabajo que los niveles elevados de AFP fueron significativamente superiores en los pacientes que excedieron los criterios de Milán. Estudios posteriores han reforzado estos resultados.<sup>271</sup>

En el presente estudio, los niveles más elevados de AFP por técnica SUMA<sup>®</sup>, también se asociaron a factores de mal pronóstico relacionados con el CHC. Entre estos se hallaron las lesiones mayores de 5 cm, los tumores multicéntricos y los que no cumplieron con los criterios de Milán (tabla 14).

Como se puede apreciar, en este acápite se han vertido conclusiones de gran valor científico relacionadas con este marcador tumoral, al ser vinculado a factores pronósticos. Ahora bien, podría el lector plantearse la siguiente interrogación: ¿Cuál es la utilidad y la ventaja que pueden tener la aplicación de estos resultados en la práctica médica?

La posibilidad de emplear y sacar provecho a este comportamiento, nunca suplantaría, por lo menos durante un buen período de tiempo, el papel que desempeñan las técnicas imagenológicas. Al final, la imagenología, al igual que los estudios patológicos, todavía representan una de las herramientas claves e indispensables para realizar el estadiamiento y seguimiento del CHC. Sin embargo, tienen como desventajas principales, el incremento de la exposición radiológica, aspecto que limita su frecuencia de empleo, y las modificaciones que sufren las lesiones por los tratamientos previos.<sup>272</sup> Los marcadores tumorales, como la AFP, tienen en cambio la ventaja de poderse realizar en cualquier momento y de manera frecuente, es menos costosa, y generalmente sus resultados no están influenciados por los tratamientos previos.

Aunque en la actualidad no existe consenso en el empleo de la AFP, en los protocolos habituales de evaluación tumoral (generalmente apoyadas en las pruebas imagenológicas), se puede recomendar su empleo concomitante, porque aportaría información adicional y valiosa, necesaria para el manejo de estos enfermos. Se debe tener en cuenta que la utilización de la técnica SUMA<sup>®</sup> representa una ventaja adicional para Cuba, por ser una tecnología nacional, con una red de laboratorios diseminados por todo el país y con costos muy económicos por cada determinación.

#### **V.3.4. Combinación de la $\alpha$ -fetoproteína y la ecografía abdominal en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular**

En la actualidad se cuestiona con mayor fuerza la verdadera utilidad del US como única prueba diagnóstica empleada en la pesquisa y vigilancia del CHC en pacientes con CH. Esto ocurre como consecuencia de la ausencia de estudios prospectivos, y la amplia variabilidad que muestra la sensibilidad de esta prueba, con un amplio rango que puede ser entre 35 y 84%. Esta gran variabilidad es dependiente de múltiples factores, y dentro de ellos, los más importantes son: la población de estudio, la extensión de la enfermedad hepática, las características morfológicas del tumor, la variabilidad de la frecuencia de vigilancia, la experiencia del operador y la calidad del equipo (equipos más sofisticados producen mejor calidad de imágenes y son capaces de detectar tumores pequeños).<sup>160,273</sup>

Relacionado con esta idea, tomamos como ejemplo una investigación llevada a cabo por Gambarin-Gelwan y colaboradores<sup>150</sup>, en pacientes que se encontraban en lista de espera para TH. Ellos mostraron que el US tuvo una sensibilidad de 58% y una especificidad de 93%.

En el presente estudio, el US mostró una sensibilidad y especificidad para diagnosticar el CHC de 86,36% y 100%, respectivamente, valores que son un poco superiores a lo reportado en el párrafo anterior. Aunque no se puede emitir una conclusión definitiva relacionada con este resultado, se puede inferir que el mismo pudo deberse en primer lugar, a la experiencia de los operadores de los equipos de

US, en este caso todos fueron especialistas en imagenología, con vasta experiencia en ecografía abdominal.

En segundo lugar, y quizás el elemento más importante, por las características morfológicas de las lesiones tumorales diagnosticadas. Se debe recordar que 15 pacientes no cumplían con los criterios de Milán y 13 tuvieron lesiones multicéntricas, estos dos grupos se corresponden con más de la mitad de los casos con CHC. Quiere esto decir, que en la mayoría de los casos las lesiones podían ser mejor identificadas por lo avanzado del estadio tumoral.

La potencial utilidad diagnóstica de la combinación de la AFP y el US ha sido investigada en el mundo, con resultados que pueden ser catalogados como buenos. Esta combinación persigue, como principal objetivo, incrementar la sensibilidad y la especificidad en el diagnóstico del CHC. Incluso, se ha reportado que con esta estrategia se puede incrementar la sensibilidad al 100%.<sup>274</sup>

En esta investigación, al combinar el US y la AFP por técnica SUMA<sup>®</sup>, con un nivel de corte de 15 UI/mL, se logró incrementar la sensibilidad y el VPN a 90,91% y 99,14%, respectivamente. El índice de Youden mostró también una evidente mejoría (tabla 15). Estos datos muestran incremento de la sensibilidad en 5,7%, al comparar la combinación del US y la AFP, con respecto al US. Similar resultado fue reportado por Kang y colaboradores<sup>275</sup>, al lograr incrementar la sensibilidad en 5%.

Hasta el momento no se ha llegado a un consenso a nivel mundial que acredite definitivamente el empleo de la combinación de estas pruebas, principalmente motivadas por los resultados de algunos estudios que juzgan la mejoría alcanzada en

la sensibilidad a expensas del incremento de la tasa de falsos positivos y la elevación de los costos.<sup>276</sup>

No obstante, podemos sugerir que esta combinación es útil y es una estrategia factible que persigue incrementar el diagnóstico oportuno del CHC. No se puede olvidar que la determinación sérica de AFP por la técnica cubana SUMA<sup>®</sup> es menos costosa que el resto de las técnicas diagnósticas empleadas en el mundo. También es importante el entrenamiento del personal médico y hacer una adecuada interpretación de los resultados en cada caso.

#### **V.4. Propuesta de algoritmo para la pesquisa y vigilancia del CHC en Cuba en pacientes cirróticos**

Después de haber analizado detenidamente todos estos acápite, se propone la aplicación de un protocolo para la pesquisa y vigilancia del CHC en la población cubana de riesgo, que en este caso estaría conformada por pacientes cirróticos de cualquier etiología. Este procedimiento se basa en los resultados expuestos en el presente trabajo, la experiencia del grupo de TH del CIMEQ, los actuales criterios diagnósticos establecidos por la AASLD y la “Estrategia japonesa para la pesquisa y vigilancia del CHC”.<sup>129,277</sup>

En el anexo 8 se representa en forma de algoritmo la propuesta antes referida, que se inicia con la determinación semestral de AFP sérica mediante técnica SUMA<sup>®</sup> junto con el US abdominal. Si en un momento determinado aparece por US una lesión nodular, se procederá a realizar acciones que permitan confirmar o descartar la presencia de un CHC. En estos casos, si la lesión es mayor de 2 cm de diámetro,

el diagnóstico se confirmará al demostrarse en una prueba imagenológica dinámica, preferentemente TC, el patrón vascular típico caracterizado por hipervascularización arterial, seguida de lavado del contraste en la lesión, durante la fase portal. De tener el nódulo un diámetro entre 1 a 2 cm, se requiere para el diagnóstico de CHC la presencia del patrón vascular antes descrito, en dos estudios imagenológicos dinámicos. En todos los casos, cuando no se cumplan estos criterios diagnósticos, se debe realizar biopsia hepática de la lesión reportada, con el objetivo de establecer la etiología y proceder en dependencia de los resultados. En los casos donde el US revele la presencia de un nódulo menor de 1 cm de diámetro y en los que se realizó una biopsia de una lesión con resultados que no sean concluyentes, se debe mantener la estrecha vigilancia con US y determinación de AFP sérica por técnica SUMA<sup>®</sup>, con una periodicidad no mayor de seis meses.

Otra de las situaciones que se pueden derivar de la vigilancia y la pesquisa, es el hecho de encontrar una AFP sérica mayor o igual de 92 UI/mL. En esta situación se recurre a la realización de una prueba imagenológica dinámica para establecer el diagnóstico de CHC. Se debe destacar que la presencia de una AFP sérica mayor o igual a 173 UI/mL, establece el diagnóstico de CHC, con una muy elevada certeza; sin embargo, siempre es necesaria la realización de pruebas imagenológicas dinámicas no solo para confirmar el diagnóstico, sino para establecer el estadio de la enfermedad.

El tratamiento del CHC estaría en dependencia del estadiamiento tumoral, para la cual se aplicarán los criterios establecidos internacionalmente. Basados en los resultados expuestos en este trabajo, los valores de AFP por técnica SUMA<sup>®</sup> se

podrían emplear como un elemento más de ayuda en el pronóstico de la enfermedad tumoral durante el inicio y el seguimiento de la terapia.

#### **V.5. Consideraciones finales**

Las principales causas de CH fueron las virales (43,92%) (el más importante fue el VHC), el alcohol (19,05%) y la criptogénica (16,40%). Se estableció el diagnóstico de CHC en 22 enfermos (11,64%); dentro de este grupo las principales etiologías también estuvieron relacionadas con la CH viral (59,09%) (principalmente el VHC), la criptogénica (22,73%) y la alcohólica (18,18%). Este patrón se corresponde con el visto en las zonas geográficas que de manera característica tienen una baja incidencia de infección por el VHB.

Con respecto a los datos demográficos, el sexo masculino fue predominante en los pacientes cirróticos con el 63,49%. Igual tendencia mostraron los enfermos con CHC, en este caso con 86,36%. La edad promedio de los pacientes cirróticos con y sin CHC fue de 55 y 43,24 años, respectivamente.

La edad mayor de 50 años, el sexo masculino, la CH viral y el CHC, constituyeron factores de riesgo asociados a una elevación de las concentraciones séricas de AFP (> 15 UI/mL) por técnica SUMA<sup>®</sup>. Dentro de ellas el CHC y la CH viral fueron las más importantes.

En los pacientes con CHC, se identificaron como factores de riesgo el sexo masculino y la edad mayor de 50 años. Dentro de ellos, la edad mayor de 50 años fue la más importante.

La determinación de AFP sérica mediante la técnica cubana SUMA<sup>®</sup> resultó ser un instrumento útil en la evaluación diagnóstica y pronóstica del CHC en pacientes con CH. Los resultados fueron catalogados como buenos al mostrar, para un nivel de corte de 30 UI/mL (establecido por el laboratorio), una sensibilidad de 68,18% y una especificidad de 92,17%. Para un nivel de corte mayor o igual a 91,71 UI/mL, la prueba tuvo valor diagnóstico, con una especificidad igual o mayor a 99,1%. Por otra parte, los niveles elevados de AFP sérica se asociaron a factores de mal pronóstico tumoral, en este caso identificados como tumores multicéntricos, lesiones mayores de 5 cm de diámetro y no cumplimiento de los criterios de Milán.

Finalmente al combinar la AFP por técnica SUMA<sup>®</sup> con el US abdominal, se logró incrementar el diagnóstico del CHC, con una sensibilidad de 86,36% y una especificidad de 100%.



## **CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

- La determinación de  $\alpha$ -fetoproteína sérica, mostró ser un instrumento útil en el diagnóstico del hepatocarcinoma en los pacientes cirróticos, con una adecuada sensibilidad y especificidad.
- Entre los pacientes con hepatocarcinoma, predominó el sexo masculino y la edad promedio fue mayor de 50 años.
- La causa más importante de carcinoma hepatocelular fue la cirrosis hepática viral, principalmente el virus de la hepatitis C. Este comportamiento es similar al que se reporta en países con bajas tasas de incidencia y prevalencia de la hepatitis B.
- Los principales factores que se asociaron a una elevación de la concentración sérica de  $\alpha$ -fetoproteína en los pacientes cirróticos, fueron el hepatocarcinoma, la cirrosis viral y la edad de 50 años o más.
- En el diagnóstico del carcinoma hepatocelular la  $\alpha$ -fetoproteína sérica mostró una sensibilidad y una especificidad superior al 65 y al 90%, respectivamente.
- Los niveles más elevados de  $\alpha$ -fetoproteína sérica se asociaron a factores de mal pronóstico del carcinoma hepatocelular, dados por el tamaño tumoral, el número de lesiones nodulares y la invasión vascular.
- La combinación de la  $\alpha$ -fetoproteína sérica con la ecografía abdominal, logró incrementar la sensibilidad y la especificidad en el diagnóstico del hepatocarcinoma.



## **RECOMENDACIONES**



## RECOMENDACIONES

- Extender en los diferentes niveles de atención médica, el uso de la  $\alpha$ -fetoproteína por técnica cubana SUMA<sup>®</sup> en la pesquisa y la vigilancia del carcinoma hepatocelular en los pacientes con cirrosis hepática. Para ello se propone el diseño de un algoritmo (ver anexo 7), donde se tiene en cuenta los resultados de este trabajo, la experiencia del grupo de trasplante hepático del CIMEQ, los actuales criterios diagnósticos establecidos por la AASLD y la estrategia japonesa de pesquisa del hepatocarcinoma.<sup>129,277</sup>





## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Egel H. Ueber das primäre carcinom der leber. Beitr Pathol Anat. 1901;30:506-604.
2. But DYK, Lai CL, Yuen MF. Natural history of hepatitis related hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2008;14:1652-6.
3. Berman C. Primary carcinoma of the liver. London: Lewis. 1951;19-36.
4. Higginson J. The geographical pathology of primary liver cancer. Cancer Res. 1963;23:1624-33.
5. Okuda K, Musha H, Nakajima Y, Kubo Y, Shimokawa Y, Nagasaki Y, et al. Clinicopathologic features of encapsulated hepatocellular carcinoma: a study of 26 cases. Cancer. 1977;40:1240-5.
6. Okuda K, Peters RL, Simson IW. Gross anatomic features of hepatocellular carcinoma in three disparate areas: proposal of new classification. Cancer. 1984;54(10):2165-73.
7. Yamagiwa K, Ichikawa K. Experimentelle Studie über die Pathogenese der Epithelialgeschwülste. Mitt Med Fac Kaiserl Univ Tokyo. 1915;15:295-344.
8. Ohbayashi A, Okochi K, Mayumi M. Familial clustering of asymptomatic carriers of Australia antigen and patients with chronic liver disease or primary liver cancer. Gastroenterology. 1972;62:618-25.
9. Dominguez-Malagón H, Gaytan-Graham S. Hepatocellular carcinoma: an update. Ultrastruct Pathol. 2001;25:497-516.
10. Bergstrand CG, Czar B. Demonstration of a new protein fraction in serum from the human fetus. Scand J Clin Lab Invest. 1956;8:174.

11. Abelev GI, Perova SD, Khramkova NI, Postnikova ZA, Irlin IS. Production of embryonal alpha-globulin by transplantable mouse hepatomas. *Transplantation*. 1963;1:174-80.
12. Tatarinov Y. Detection of embryo-specific alpha-globulin in the blood serum of a patient with primary liver cancer. *Vopr Med Khim*. 1964;10:90-1.
13. Tong MJ, Blatt LM, Kao VW. Surveillance for hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis in the United States of America. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001;16:553-9.
14. Sherman M. Alphafetoprotein: An obituary. *J Hepatol*. 2001;34:603-5.
15. Yuen MF, Lai CL. Screening for hepatocellular carcinoma: survival benefit and cost-effectiveness. *Ann Oncol*. 2003;14:1463-7.
16. Trevisani F, D'Intino PE, Morselli-Labate AM, Mazzella G, Accogli E, Caraceni P, et al. Serum alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: influence of HBsAg and anti-HCV status. *J Hepatol*. 2001;34:570-5.
17. Beale G, Chattopadhyay D, Gray J, Stewart S, Hudson M, Day C, et al. AFP, PIVKAI, GP3, SCCA-1 and follistatin as surveillance biomarkers for hepatocellular cancer in non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease. *BMC Cancer*. 2008;8:200.
18. Trape J, Botargues JM, Porta F, Rico's C, Badal JM, Salinas R. Reference change value for  $\alpha$ -fetoprotein and its application in early detection of hepatocellular carcinoma in patients with hepatic disease. *Clin Chem*. 2003;49:1209-11.

19. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005;55:74-108.
20. Sangiovanni A, Del Ninno E, Fasani P, De Fazio C, Ronchi G, Romeo R, et al. Increased survival of cirrhotic patients with a hepatocellular carcinoma detected during surveillance. *Gastroenterology.* 2004;126:1005-14.
21. Bosch FX, Ribes J, Díaz M, Cléries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology.* 2004;127:S5-16.
22. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology.* 2007;132:2557-76.
23. Gomaa AI, Khan SA, Toledano MB, Waked I, Taylor-Robinson SD. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, risk factors and pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2008;14(27):4300-8.
24. Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B Virus Infection: Epidemiology and Vaccination. *Epidemiol Rev.* 2006;28(1):112-25.
25. Zanetti AR, Van Damme P, Shouval D. The global impact of vaccination against hepatitis B: A historical overview. *Vaccine.* 2008;26(49):6266-73.
26. Nair S, Shivakumar KS, Thuluvath PJ. Mortality from hepatocellular and biliary cancers: changing epidemiological trends. *Am J Gastroenterol.* 2002;97:167-71.
27. Espey DK, Wu XC, Swan J, Wiggins C, Jim MA, Ward E, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2004, featuring cancer in American Indians and Alaska Natives. *Cancer.* 2007;110:2119-52.

28. Bosetti C, Levi F, Boffetta P, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Trends in mortality from hepatocellular carcinoma in Europe, 1980-2004. *Hepatology*. 2008;48:137-45.
29. Hussain SA, Ferry DR, El-Gazzaz G, Mirza DF, James ND, McMaster P et al. Hepatocellular carcinoma. *Ann Oncol*. 2001;12:161-72.
30. Michielsen PP, Francque SM, van Dongen JL. Viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *World J Surg Oncol*. 2005;3:27.
31. El Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in USA. *Hepatol Res*. 2007;37:S88-94.
32. Zacca E. Anuario estadístico de salud 2007 [Libro en Internet]. Ciudad de La Habana: Ministerio de Salud Pública. Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud; 2008 [acceso 2 de agosto de 2008]. Disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/dne/anuario\\_estadistico\\_de\\_salud\\_2007\\_e.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/dne/anuario_estadistico_de_salud_2007_e.pdf)
33. Zacca E. Anuario estadístico de salud 2008 [Libro en Internet]. La Habana: Ministerio de Salud Pública. Dirección Nacional de Estadísticas; 2009 [acceso 25 de junio de 2009]. Disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/dne/anuario\\_2008\\_3e.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/dne/anuario_2008_3e.pdf)
34. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 1996 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008]. Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi-bin/wxis/anuario/?IscScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag6000=B&tag5013=GUEST&tag5022=1996>

35. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 1997 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].  
Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi-bin/wxis/anuario/?IsisScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag6000=B&tag5013=GUEST&tag5022=1997>
36. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 1998 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].  
Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi-bin/wxis/anuario/?IsisScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag6000=B&tag5013=GUEST&tag5022=1998>
37. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 1999 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].  
Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi-bin/wxis/anuario/?IsisScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag6000=B&tag5013=GUEST&tag5022=1999>
38. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 2000 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].  
Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi-bin/wxis/anuario/?IsisScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag6000=B&tag5013=GUEST&tag5022=2000>
39. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 2001 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].  
Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi-bin/wxis/anuario/?IsisScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag6000=B&tag5013=GUEST&tag5022=2001>

bin/wxis/anuario/?IscScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag600  
0=B&tag5013=GUEST&tag5022=2001

40. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 2002 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].

Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi->

bin/wxis/anuario/?IscScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag600  
0=B&tag5013=GUEST&tag5022=2002

41. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 2003 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].

Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi->

bin/wxis/anuario/?IscScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag600  
0=B&tag5013=GUEST&tag5022=2003

42. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 2004 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].

Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi->

bin/wxis/anuario/?IscScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag600  
0=B&tag5013=GUEST&tag5022=2004

43. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 2005 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].

Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi->

bin/wxis/anuario/?IscScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag600  
0=B&tag5013=GUEST&tag5022=2005



44. Estadísticas de salud en Cuba. Anuario estadístico 2006 [base de datos en Internet]. Cuba: Biblioteca virtual en salud [acceso 2 de agosto de 2008].  
Disponible en: <http://bvs.sld.cu/cgi-bin/wxis/anuario/?IscScript=anuario/iah.xis&tag5003=anuario&tag5021=e&tag6000=B&tag5013=GUEST&tag5022=2006>
45. Nusa JD. Aplica Cuba medidas para atenuar envejecimiento poblacional. Diario Granma [periódico en Internet]. Jueves 10 de julio de 2008 [acceso 2 de octubre de 2008]. Disponible en: <http://www.granma.cubaweb.cu/nacional/artic25.html>
46. Hernández JC, Samada M, Ramos L, González L, Abdo A. Valoraciones éticas en la selección de pacientes adultos para trasplante hepático. En: Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Actualizaciones en Trasplante 2004. Sevilla: Hospitales Universitarios Virgen del Rocío; 2004. p. 353-9.
47. Hernández JC, González L, Samada M, Ramos L, Abdo A. Valoraciones éticas en la selección de pacientes adultos para trasplante hepático. En: Ruiz de la Cuesta A, coordinador. Bioética y derechos humanos: Implicaciones sociales y jurídicas. Sevilla: Universidad de Sevilla; 2005. p. 371-94.
48. Hernández JC, Samada M, Ramos L, Roque A, Ugarte JC, Jordán J, et al. Experiencia del CIMEQ en la pesquisa del carcinoma hepatocelular en pacientes candidatos a trasplante hepático. En: Actualizaciones en Trasplante 2006. Sevilla: Hospitales Universitarios Virgen del Rocío; 2006. p. 384-6.
49. Hernández JC, Samada M, Cruz Y, Howland I, Roque A, Ramos L, et al. Diagnóstico de hepatocarcinoma y determinación de alfa-fetoproteína por SUMA.

En: Hernández JC, Samada M, editores. Hepatología 2006. Ciudad de La Habana: Editorial CIMEQ; 2006. p. 164-73.

50. González L, Hernández JC, Samada M, Abdo AA, Ramos L, López O, et al. Resultados del Trasplante Hepático en el CIMEQ. En: Hernández JC, Samada M, editores. Hepatología 2006. Ciudad de La Habana: Editorial CIMEQ; 2006. p. 225-31.
51. Perry JF, Poustchi H, George J, Farrell GC, McCaughan GW, Strasser SI. Current approaches to the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma. Clin Exp Med. 2005;5:1-13.
52. Thompson Coon J, Rogers G, Hewson P, Wright D, Anderson R, Cramp M, et al. Surveillance of cirrhosis for hepatocellular carcinoma: systematic review and economic analysis. Health Technol Assess. 2007;11(34):1-206.
53. Andersson KL, Salomon JA, Goldie SJ, Chung RT. Cost effectiveness of alternative surveillance strategies for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2008;6(12):1418-24.
54. Thompson Coon J, Rogers G, Hewson P, Wright D, Anderson R, Jackson S, et al. Surveillance of cirrhosis for hepatocellular carcinoma: a cost-utility analysis. Br J Cancer. 2008;98(7):1166-75.
55. Collier J, Sherman M. Screening for hepatocellular carcinoma. Hepatology. 1998;27:273-8.
56. McGlynn KA, London WT. Epidemiology and natural history of hepatocellular carcinoma. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2005;19:3-23.

57. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology*. 2004;127(5 Suppl 1):S35-50.
58. Taylor-Robinson SD. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology, risk factors and pathogenesis. *World J Gastroenterol*. 2008;14(27):4300-8.
59. Huang WS, Liao LY, Wang CS, Chen PH. Hepatocellular carcinoma presenting with acquired porphyria: a case report and review of the literature. *Chang Keng I Hsueh Tsa Chih*. 1999;22:111-6.
60. Elzouki AN, Eriksson S. Risk of hepatobiliary disease in adults with severe alpha 1-antitrypsin deficiency (PiZZ): is chronic viral hepatitis B or C an additional risk factor for cirrhosis and hepatocellular carcinoma? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1996;8:989-94.
61. Montano-Loza AJ, Carpenter HA, Czaja AJ. Predictive factors for hepatocellular carcinoma in type 1 autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:1-8.
62. Raza SA, Clifford GM, Franceschi S. Worldwide variation in the relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Br J Canc*. 2007;96:1127-34.
63. Dienstag JL. Drug therapy. Hepatitis B infection. *N Engl J Med*. 2008;359:1486-500.
64. Lok As, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2007;45:507-39.
65. Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, Fleisher R, Lok AS. Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop. *Hepatology*. 2007;45:1056-75.

66. Population Reference Bureau [Internet]. Washington: Population Reference Bureau; november 2007 [acceso 21 de diciembre de 2008]. Cuadro de la población mundial 2007 [16 páginas]. [http://www.prb.org/pdf07/wpds07\\_sp.pdf](http://www.prb.org/pdf07/wpds07_sp.pdf).
67. Sakuma K, Saitoh N, Kasai M, Jitsukawa H, Yoshino I, YamaguchiMet al. Relative risks of death due to liver disease among Japanese male adults having various statuses for hepatitis B s and e antigen/antibody in serum: a prospective study. *Hepatology*. 1988;8:1642-6.
68. Chen CH, Chen YY, Chen GH, Yang SS, Tang HS, Lin HH, et al. Hepatitis B virus transmission and hepatocarcinogenesis: a 9 year retrospective cohort of 13676 relatives with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2004;40(4):653-9.
69. Yu MW, Yeh SH, Chen PJ, Liaw YF, Lin CL, Liu CJ, et al. Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97:265-72.
70. Bréchet C. Pathogenesis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: old and new paradigms. *Gastroenterology*. 2004;127(5 Suppl 1):S56-61.
71. Koike K, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Kyoji M. Molecular mechanism of viral hepatocarcinogenesis. *Oncology*. 2002;62(Suppl 1):29-37.
72. Wang XW, Hussain SP, Huo TI, Wu ChG, Forgues M, Hofseth LJ, et al. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Toxicology*. 2002;181:43-7.
73. Ikai I, Arii Sh, Ichida T, Okita K, Omata M, Kojiro M, et al. Report of the 16th follow-up survey of primary liver cancer. *Hepatol Res*. 2005;32:163-72.

74. Kiyosawa K, Umemura T, Ichijo T, Matsumoto A, Yoshizawa K, Gad A, et al. Hepatocellular carcinoma: recent trends in Japan. *Gastroenterology*. 2004;12:S17-26.
75. Tran G. The role of hepatitis C virus in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Bioscience Horizons*. 2008;1:167-75.
76. Colombo M. Hepatitis C infection and hepatocellular carcinoma. *Curr Hep Rep*. 2003;2:166-72.
77. Degos F, Christidis C, Ganne-Carrie N, Farmachidi JP, Degott C, Guettier C, et al. Hepatitis C virus related cirrhosis: time to occurrence of hepatocellular carcinoma and death. *Gut*. 2000;47:131-6.
78. Strauss R, Törner A, Duberg AS, Hultcrantz R, Ekdahl K. Hepatocellular carcinoma and other primary liver cancers in hepatitis C patients in Sweden - a low endemic country. *J Viral Hepat*. 2008;15:531-7.
79. Giordano TP, Kramer JR, Soucek J, Richardson P, El Serag HB. Cirrhosis and hepatocellular carcinoma in HIV-infected veterans with and without the hepatitis C virus: a cohort study, 1992-2001. *Arch Intern Med*. 2004;164:2349-54.
80. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma and hepatitis C in the United States. *Hepatology*. 2002;36:S74-83.
81. Veldt BJ, Chen W, Heathcote EJ, Wedemeyer H, Reichen J, Hofmann WP, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma among patients with hepatitis C cirrhosis and diabetes mellitus. *Hepatology*. 2008;47:1856-62.

82. Miki D, Aikata H, Uka K, Saneto H, Kawaoka T, Azakami T, et al. Clinicopathological features of elderly patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol*. 2008;43:550-7.
83. Davis GL, Albright JE, Cook SF, Rosenberg DM. Projecting future complications of chronic hepatitis C in the United States. *Liver Transplant*. 2003;9:331-8.
84. El-Serag HB, Davila JA, Petersen NJ, McGlynn KA. The continuing increase in the incidence of hepatocellular carcinoma in the United States: an update. *Ann Intern Med*. 2003;139:817-23.
85. Iwasaki Y, Takaguchi K, Ikeda H, Makino Y, Araki Y, Ando M, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in Hepatitis C patients with sustained virologic response to interferon therapy. *Liver Int*. 2004;24:603-10.
86. Seitz HK, Stickel F. Molecular mechanisms of alcohol mediated carcinogenesis. *Nature*. 2007;7:599-612.
87. Yu MC, Yuan JM, Lu SC. Alcohol, cofactors and the genetics of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;23:S92-S7.
88. Nugent C, Younossi ZM. Evaluation and management of obesity-related nonalcoholic fatty liver disease. *Natl Clin Pract Gast Hepatol*. 2007;4:432-41.
89. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129:113-21.
90. El-Serag HB, Hampel H, Javadi F. The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. *Clin Gast Hepatol*. 2006;4:369-80.

91. El Serag HB, Tran T, Everhart JE. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;126:460-8.
92. Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, McGlynn KA, El-Serag HB. Diabetes increases the risk of hepatocellular carcinoma in the United States: a population based case control study. *Gut*. 2005;54:533-9.
93. Yuan JM, Govindarajan S, Arakawa K, Yu MC. Synergism of alcohol, diabetes, and viral hepatitis on the risk of hepatocellular carcinoma in blacks and whites in the U.S. *Cancer*. 2004;101:1009-17.
94. Blonsky JJ, Harrison SA. Review article: nonalcoholic fatty liver disease and hepatitis C virus - partners in crime. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;27:855-65.
95. Kowdley KV. Iron, hemochromatosis, and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127:S79-86.
96. Beaton MD, Adams PC. Prognostic factors and survival in patients with hereditary hemochromatosis and cirrhosis. *Can J Gastroenterol*. 2006;20(4):257-60.
97. Franchini M, Veneri D. Recent advances in hereditary hemochromatosis. *Ann Hematol*. 2005;84(6):347-52.
98. Harrison SA, Bacon BR. Relation of hemochromatosis with hepatocellular carcinoma: epidemiology, natural history, pathophysiology, screening, treatment, and prevention. *Med Clin North Am*. 2005;89(2):391-409.
99. Nahon P, Sutton A, Rufat P, Ziol M, Thabut G, Schischmanoff PO, et al. Liver iron, HFE gene mutations, and hepatocellular carcinoma occurrence in patients with cirrhosis. *Gastroenterology*. 2008;134:102-10.

100. Kew MC, Asare GA. Dietary iron overload in the African and hepatocellular carcinoma. *Liver Int.* 2007;27(6):735-41.
101. von Delius S, Lersch C, Schulte-Frohlinde E, Fend F, Dobritz M, Schmid RM, et al. Hepatocellular carcinoma associated with hereditary hemochromatosis occurring in non-cirrhotic liver. *Z Gastroenterol.* 2006;44(1):39-42.
102. Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet.* 2003;362:1907-17.
103. IARC Monographs. Overall evaluations of carcinogenicity: An updating of IARC monographs. Lyon: IARC Press. 1987;1-42(Suppl 7):83-7.
104. Ma CL, Hsu CL, Wu MH, Wu CT, Wu CC, Lai JJ, et al. Androgen receptor is a new potential therapeutic target for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2008;135(3):947-55.
105. Giannitrapani L, Soresi M, La Spada E, Cervello M, D'Alessandro N, Montalto G. Sex hormones and risk of liver tumor. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1089: 228-36.
106. Di Maio M, Daniele B, Pignata S, Gallo C, De Maio E, Morabito A, et al. Is human hepatocellular carcinoma a hormone-responsive tumor? *World J Gastroenterol.* 2008;14(11):1682-9.
107. Goodman ZD. Neoplasms of the liver. *Mod Pathol.* 2007;20:S49-S60.
108. Thorgeirsson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nat Genet.* 2002;31:339-46.
109. Villanueva A, Newell P, Chiang D, Friedman S, Llovet JM. Genomics and signaling pathways in hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis.* 2007;27(1):55-76.



110. Lemmer E, Friedman S, Llovet JM. Molecular diagnosis of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma: the potential of gene expression profiling. *Sem Liv Dis.* 2006;26:373-84.
111. Bruix J, Boix L, Sala M, Llovet JM. Focus on hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell.* 2004;5:215-9.
112. Farazi P, DePinho R. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment. *Nature Rev.* 2006;6:674-87.
113. Llovet JM. Nuevas terapias moleculares del carcinoma hepatocelular. *Gastroenterol Hepatol.* 2007;30(Supl 1):19-25.
114. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000;100:57-70.
115. Park YN, Chae KJ, Kim YB, Park C, Theise N. Apoptosis and proliferation in hepatocarcinogenesis related to cirrhosis. *Cancer.* 2001;92:2733-8.
116. Pineau P, Marchio A, Battiston C, Cordina E, Russo A, Terris B, et al. Chromosome instability in human hepatocellular carcinoma depends on p53 status and aflatoxin exposure. *Mutat Res.* 2008;653(1-2):6-13.
117. Thorgeirsson SS, Lee JS, Grisham JW. Functional genomics of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2006;43:S145-S50.
118. Su H, Zhao J, Xiong Y, Xu T, Zhou F, Yuan Y, et al. Large-scale analysis of the genetic and epigenetic alterations in hepatocellular carcinoma from Southeast China. *Mutat Res.* 2008;641(1-2):27-35.
119. Pang RW, Joh JW, Johnson PJ, Monden M, Pawlik TM, Poon RT. Biology of Hepatocellular Carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2008;15:962-71.

120. Hussein MR. Alterations of p53, Bcl-2, and hMSH2 protein expression in the cirrhotic, macroregenerative, dysplastic nodules and hepatocellular carcinomas in Upper Egypt. *Liver Int.* 2004;24:552-60.
121. El Serag HB, Siegel AB, Davila JA, Shaib YH, Cayton-Woody M, McBride R, et al. Treatment and outcomes of treating of hepatocellular carcinoma among Medicare recipients in the United States: a population-based study. *J Hepatol.* 2006;44:158-66.
122. Meyer T, Gopal K, Clain DJ, Bodenheimer HC, Min AD. Recent characteristics of patients with hepatocellular carcinoma in Lower Manhattan. *Am J Gastr.* 2006;101:S178.
123. Chevret S, Trinchet JC, Mathieu D, Rached AA, Beaugrand M, Chastang C. A new prognostic classification for predicting survival in patients with hepatocellular carcinoma. Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. *J Hepatol.* 1999;31:133-41.
124. Prospective validation of the CLIP score: a new prognostic system for patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) Investigators. *Hepatology.* 2000;31:840-5.
125. Avila MA, Berasain C, Sangro B, Prieto J. New therapies for hepatocellular carcinoma. *Oncogene.* 2006;25:3866-84.
126. Said A, Lucey MR. Liver transplantation: an update 2008. *Curr Opin Gastroenterol.* 2008;24:339-45.
127. Lang BH, Poon RT, Fan ST, Wong J. Outcomes of patients with hepatocellular carcinoma presenting with variceal bleeding. *Am J Gastr.* 2004;99:2158-65.

128. El-Serag HB, Marrero JA, Rudolph L, Reddy KR. Diagnosis and Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology*. 2008;134:1752-63.
129. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2005;542:1208-36.
130. Levy I, Greig PD, Gallinger S, Langer B, Sherman M. Resection of hepatocellular carcinoma without preoperative tumor biopsy. *Ann Surg*. 2001;234:206-9.
131. Torzilli G, Minagawa M, Takayama T, Inoue K, Hui AM, Kubota K, et al. Accurate preoperative evaluation of liver mass lesions without fine needle biopsy. *Hepatology*. 1999;30:889-93.
132. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol*. 2001;35:421-30.
133. Bolondi L, Gaiani S, Celli N, Golfieri R, Grigioni WF, Leoni S, et al. Characterization of small nodules in cirrhosis by assessment of vascularity: the problem of hypovascular hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2005;42:27-34.
134. Mazzanti R, Gramantieri L, Bolondi L. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology and clinical aspects. *Mol Asp Med*. 2008;29:130-43.
135. Prorok PC. Epidemiologic approach for cancer screening. Problems in design and analysis of trials. *Am J Ped Hem Onc*. 1992;14:117-28.

136. Pascual S, Irurzun J, Zapater P, Such J, Sempere L, Carnicer F, et al. Usefulness of surveillance programmes for early diagnosis of hepatocellular carcinoma in clinical practice. *Liver Int.* 2008;28:682-9.
137. Zhang BH, Yang BH, Tang ZY. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma. *J Canc Res Clin Onc.* 2004;130:417-22.
138. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med.* 1996;334(11):693-9.
139. Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. *J Hepatol.* 2008;48:S20-37.
140. Llovet J, Schwartz M, Mazaferro V. Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis.* 2005;25:181-200.
141. Mazzaferro V. Results of Liver Transplantation: With or without Milan criteria? *Liver Transplant* 2007;13:S44-7.
142. Wong GLH, Wong VWS, Tan GM, Ip KI, Lai WK, Li YW. Surveillance programme for hepatocellular carcinoma improves the survival of patients with chronic viral hepatitis. *Liver Intern.* 2008;28(1):79-87.
143. Wilson JHG, Jungner G. *The Principles and Practice of Screening for Disease.* Public Health Papers 34. Geneva: WHO 1968.
144. Paul ChB, Sreenivas V, Gulati MS, Madan K, Gupta AK, Mukhopadhyay S, et al. Economic evaluation of a surveillance program of hepatocellular carcinoma (HCC) in India. *Hepatol Int.* 2008;2:231-6.

145. Bolondi L, Sofia S, Siringo S, Gaiani S, Casali A, Zironi G, et al. Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost-effectiveness analysis. *Gut*. 2001;48:251-9.
146. Maruyama H, Yoshikawa M, Yokosuka O. Current role of ultrasound for the management of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2008;14:1710-9.
147. Giannelli G, Fransvea E, Trerotoli P, Beaugrand M, Marinosci F, Lupo L. Clinical validation of combined serological biomarkers for improved hepatocellular carcinoma diagnosis in 961 patients. *Clin Chim Act*. 2007;383:147-52.
148. Mok TSK, Yu SC, Lee C, Sung J, Leung N, Lai P, et al. False-negative rate of abdominal sonography for detecting hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B and elevated serum  $\alpha$ -fetoprotein levels. *Am J Roent*. 2004;183:453-8.
149. Kim CK, Lim JH, Lee WJ. Detection of hepatocellular carcinomas and dysplastic nodules in cirrhotic liver: accuracy of ultrasonography in transplant patients. *J Ultras Med*. 2001;20:99-104.
150. Gambarin-Gelwan M, Wolf DC, Shapiro R, Schwartz ME, Min AD. Sensitivity of commonly available screening tests in detecting hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients undergoing liver transplantation. *Am J Gastr*. 2000;95:1535-8.
151. Dodd GD, Miller WJ, Baron RL, Skolnick ML, Campbell WL. Detection of malignant tumors in end-stage cirrhotic livers: value of sonography technique. *Am J Roentgenol*. 1992;159:727-33.
152. Lu SN, Wang JH, Chen PF, Tung HD, Tseng PL, Hung ChH, et al. Community-Based mass ultrasonographic screening of hepatocellular carcinoma among

- thrombocytopenic adults. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(7):1813-21.
153. Trevisani F, De NS, Rapaccini G, Farinati F, Benvegnù L, Zoli M, et al. Semiannual and annual surveillance of cirrhotic patients for hepatocellular carcinoma: effects on cancer stage and patient survival (Italian experience). *Am J Gastroenterol.* 2002;97:734-44.
154. Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants. *Exp Biol Med.* 2001;226:377-408.
155. Koteish A, Thuluvath PJ. Screening for hepatocellular carcinoma. *J Vasc Interv Radiol.* 2002;13:S185-S90.
156. Ruoslahti E, Seppälä M. Studies of carcino-fetal proteins. 3. Development of a radioimmunoassay for alpha-fetoprotein. Demonstration of alpha-fetoprotein in serum of healthy human adults. *Int J Canc.* 1971;8:374-83.
157. Terentiev AA, Moldogazieva NT. Structural and functional mapping of alphafetoprotein. *Biochem.* 2006;71:120-32.
158. Gad A, Tanaka E, Matsumoto A, El-Hamid Serwah A, Attia F, Hassan A, et al. Ethnicity affects the diagnostic validity of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. *As Pac J Clin Oncol.* 2005;1:64-70.
159. 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 Int Med.* 2003;139:46-50.

160. Gebo KA, Chander G, Jenckes MW, Ghanem KG, Herlong HF, Torbenson MS, et al. Screening tests for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C: a systematic review. *Hepatology*. 2002;36:S84-92.
161. Nguyen MH, Garcia RT, Simpson PW, Wright TL, Keeffe EB. Racial differences in effectiveness of  $\alpha$ -fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus cirrhosis. *Hepatology*. 2002;36:410-7.
162. Cedrone A, Covino M, Caturelli E, Pompili M, Lorenzelli G, Villani MR, et al. Utility of alpha-fetoprotein (AFP) in the screening of patients with virus-related chronic liver disease: does different viral etiology influence AFP levels in HCC? A study in 350 western patients. *Hepatogastroenterology*. 2000;47:1654-8.
163. Daniele B, Bencivenga A, Megna AS, Tinessa V.  $\alpha$ -Fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127:S108-12.
164. Zinkin NT, Grall F, Bhaskar K, Out HH, Spentzos D, Kalmowitz B, et al. Serum proteomics and biomarkers in hepatocellular carcinoma and chronic liver disease. *Clin Cancer Res*. 2008;14(2):470-7.
165. Huo TI, Hsia CI, Chu CJ, Huang YH, Lui WY, Wu JC, et al. The predictive ability of serum  $\alpha$ -fetoprotein for hepatocellular carcinoma is linked with the characteristics of the target population at surveillance. *J Surg Oncol*. 2007;95:645-51.
166. Soresi M, Magliarisi C, Campagna P, Leto G, Bonfissuto G, Riili A, et al. Usefulness of alpha-fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res*. 2003;23:1747-53.

167. Abdoul H, Mallet V, Pol S, Fontanet A. Serum alpha-fetoprotein predicts treatment outcome in chronic hepatitis C patients regardless of HCV genotype. *PLoS ONE*. 2008;3(6):e2391.
168. Santagostino E, Colombo M, Rivi M, Rumi MG, Rocino A, Linari S et al. A 6-month versus a 12-month surveillance for hepatocellular carcinoma in 559 hemophiliacs infected with the hepatitis C virus. *Blood*. 2003;102:78-82.
169. Matsuda Y, Yamagiwa Y, Fukushima, Ueno Y, Shimosegawa T. Expression of galectin-3 involved in prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res*. 2008 Aug 5 [Epub ahead of print].
170. Durazo FA, Blatt LM, Corey WG, Lin JH, Han S, Saab S, et al. Des-gamma-carboxyprothrombin, alpha-fetoprotein and AFP-L3 in patients with chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;38(11):1098-111.
171. El-Houseini ME, Mohammed MS, Elshemey WM, Hussein TD, Desouky OS, Elsayed AA. Enhanced Detection of Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Control*. 2005;12(4):248-53.
172. Tangkijvanich P, Anukulkarnkusol N, Suwangool P, Lertmaharit S, Hanvivatvong O, Kullavanijaya P, et al. Clinical characteristics and prognosis of hepatocellular carcinoma: analysis based on serum alpha-fetoprotein levels. *Clin. Gastroenterol*. 2000;31:302-8.
173. Tateishi R, Shiina S, Yoshida H, Teratani T, Obi S, Yamashiki N. Prediction of recurrence of hepatocellular carcinoma after curative ablation using three tumor markers. *Hepatology*. 2006;44:1518-27.



174. But DYK, Lai CL, Yuen MF. Natural history of hepatitis-related hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2008;14(11):1652-6.
175. Doffoël M, Bonnetain F, Bouché O, Vetter D, Abergel A, Fratté S, et al. Multicentre randomised phase III trial comparing Tamoxifen alone or with Transarterial Lipiodol Chemoembolisation for unresectable hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients. *Eur J Canc.* 2008;44:528-38.
176. Sakata J, Shirai Y, Wakai T, Kaneko K, Nagahashi M, Hatakeyama K. Preoperative predictors of vascular invasion in hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol.* 2008;34:900-5.
177. Zimmerman MA, Ghobrial RM, Tong MJ, Hiatt JR, Cameron AM, Busuttil RW. Antiviral prophylaxis and recurrence of hepatocellular carcinoma following liver transplantation in patients with hepatitis B. *Transplant Proc.* 2007;39:3276-80.
178. Connolly GC, Chen R, Hyrien O, Mantry P, Bozorgzadeh A, Abt P, et al. Incidence, risk factors and consequences of portal vein and systemic thromboses in hepatocellular carcinoma. *Thromb Res.* 2008;122(3):299-306.
179. Peng SY, Chen WJ, Lai PL, Jeng IM, Sheu JCh, Hsu HCh. High  $\alpha$ -fetoprotein level correlates with high stage, early recurrence and poor prognosis of hepatocellular carcinoma: significance of hepatitis virus infection, age, p53 and  $\beta$ -catenin mutations. *Int J Cancer.* 2004;112:44-50.
180. Toyoda H, Kumada T, Osaki Y, Oka H, Kudo M. Role of tumor markers in assessment of tumor progression and prediction of outcomes in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2007;37(Suppl. 2):S166-71.

181. Saffroy R, Pham P, Reffas M, Takka M, Lemoine A, Debuire B. New perspectives and strategy research biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45:1169-79.
182. Farinati F, Marino D, De Giorgio M, Baldan A, Cantarini M, Cursaro C, et al. Diagnostic and prognostic role of  $\alpha$ -fetoprotein in hepatocellular carcinoma: both or neither? *Am J Gastr.* 2006;101:524-32.
183. Zheng SS, Xu X, Wu J, Chen J, Wang WL, Zhang M, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Hangzhou experiences. *Transplantation.* 2008;85:1726-32.
184. Bruce MG, Bruden D, McMahon BJ, Christensen C, Homan C, Sullivan D, et al. Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein in Alaskan Native patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2008;15:179-87.
185. Yang X, Zhang Y, Zhang L, Zhang L, Mao J. Silencing alpha-fetoprotein expression induces growth arrest and apoptosis in human hepatocellular cancer cell. *Cancer Lett.* 2008;271(2):281-93.
186. Kolata GB. Prenatal Diagnosis of Neural Tube Defects. *Science.* 1980;209:1216-8.
187. Rodríguez L, Sánchez R, Hernández J, Corrielli L, Oliva J, Heredero L. Results of 12 years combined maternal serum alpha-fetoprotein screening and ultrasound fetal monitoring for prenatal detection of fetal malformations in Havana City. *Prenat Diag.* 1997;17:301-4.
188. Dyce E, Moras F, León M, Conde O. Evaluación del programa de diagnóstico prenatal de las malformaciones congénitas por cuantificación de la

- alfafetoproteína. Camagüey 1985-1998. Rev Cubana Invest Biomed. 2003;22:5-10.
189. Horn A, Fernández JL, Skulse M. Ultramicroelisa for alpha-fetoprotein with the chamber analytical technique. J Clin Chem Clin Biochem. 1981;19:702.
190. Sherman M. Screening for hepatocellular carcinoma. Hepatol Res. 2007;37(Suppl. 2):S152-65.
191. Fluss R, Faraggi D, Reiser B. Estimation of the Youden index and its associated cutoff point. Biom J. 2005;47:458-72.
192. Hanley JA, McNeil BJ: The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology. 1982;143:29-36.
193. Código Internacional de Ética Médica [Internet]. Adoptado por la 3ª Asamblea General de la AMM en Londres, Inglaterra, octubre 1949 y enmendado por la 22ª Asamblea Médica Mundial, Sydney, Australia, agosto 1968 y la 35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983 [acceso: 7 de agosto de 2008]. Disponible en: <http://www.wma.net/s/policy/pdf/17a.pdf>.
194. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. Adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, Junio 1964 y enmendada por la 29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, Octubre 1975; la 35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, Octubre 1983; la 41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, Septiembre 1989; la 48ª Asamblea General, Somerset West, Sudáfrica, Octubre 1996; y la 52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, Octubre 2000. Nota de Clarificación del Párrafo 29, agregada por la Asamblea

General de la AMM, Washington 2002; y del Párrafo 30, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004 [acceso: 7 de agosto de 2008].

Disponible en: <http://www.wma.net/s/policy/pdf/17c.pdf>.

195. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet*. 2008;371:838-51.
196. Bellentani S, Tiribelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol*. 2001;35:531-7.
197. Mandayam S, Jamal M, Morgan TR. Epidemiology of Alcoholic Liver Disease. *Sem Liver Dis*. 2004;24(3):217-32.
198. KimWR, Brown RS, Terrault NA, El-Serag H. Burden of liver disease in the United States: summary of a workshop. *Hepatology*. 2002;36:227-42.
199. Méndez-Sánchez N, Aguilar-Ramírez JR, Reyes A, Dehesa M, Juárez A, Castañeda B, et al. Etiology of liver cirrhosis in Mexico. *Ann Hepatol*. 2004;3(1):30-3.
200. Marrero CR, Marrero JA. Viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Arch Med Res*. 2007;38(6):612-20.
201. Castañeda Guillot C. Hepatitis B crónica en la infancia. En: Hernandez JC, Samada M, editores. *Hepatología 2006*. Ciudad de La Habana: Editorial CIMEQ; 2006. p. 231-43.
202. Rodríguez FV, López NB, Choomara I. Child health in Cuba. *Arch Dis Child*. 2008;93(11):991-3.
203. WHO. Hepatitis C - global prevalence (update). *Wkly Epidemiol Rec*. 1999;74:425-7.

204. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis.* 2005;5:558-67.
205. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int.* 2009;29(s1):74-81.
206. Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2002;36(Suppl 1):S35-46.
207. Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol.* 2006;45:529-38.
208. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* 2007;13(17):2436-41.
209. Sabina Molina D, García Valdés F, Asconegui Moya A, Martínez López O. Características epidemiológicas de la hepatitis C en donantes de sangre. *Rev Cubana Hig Epidemiol [periódico en la Internet].* 2002 Dic [citado 2008 Oct 07]; 40(3): 279-293. Disponible en:  
[http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-30032002000300009&lng=es&nrm=iso](http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032002000300009&lng=es&nrm=iso)
210. Rehm J, Rehn N, Room R, Monteiro M, Gmel G, Jernigan D, et al. The global distribution of average volume of alcohol consumption and patterns of drinking. *Eur Addict Res.* 2003;9:147-56.
211. Maheshwari A, Thuluvath PJ. Cryptogenic cirrhosis and NAFLD: are they related? *Am J Gastroenterol.* 2006;101(3):664-8.
212. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: From steatosis to cirrhosis. *Hepatology.* 2006;43(S1):S99-112.

213. Tellez-Avila FI, Sanchez-Avila F, García-Saenz-de-Sicilia M, Chavez-Tapia NC, Franco-Guzman AM, Lopez-Arce G, et al. Prevalence of metabolic syndrome, obesity and diabetes type 2 in cryptogenic cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2008;14(30):4771-5.
214. Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults. *J Clin Gastroenterol.* 2006;40(3 suppl 1):S5-10.
215. Bellentani S, Saccoccio G, Costa G, Tiribelli C, Manenti F, Sodde M, et al. Drinking habits as cofactors of risk for alcohol induced liver damage. *Gut.* 1997;41:845-50.
216. Poynard T, Bedossa P, Opolon P, for the OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet.* 1997;349:825-32.
217. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 1999;30:1356-62.
218. Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology.* 2000;118:1117-23.
219. Shimizu I, Ito S. Protection of estrogens against the progression of chronic liver disease. *Hepatol Res.* 2007;37(4):239-47.
220. Lawson A, Ryder SD. Progression of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C and the need for treatment in mild disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006;18(4):343-7.

221. Sherman M, Klein A. AASLD single-topic research conference on hepatocellular carcinoma: conference proceedings. *Hepatology*. 2004;40:1465-73.
222. Fisher J. Liver cancer on the rise. *Ann Intern Med*. 2005;142:1029-32.
223. Kao JH, Chen DS. Changing disease burden of hepatocellular carcinoma in the Far East and Southeast Asia. *Liver Int*. 2005;25(4):696-703.
224. Seef LB, Hoofnagle JH. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in areas of low hepatitis B and hepatitis C endemicity. *Oncogene*. 2006;25:3771-7.
225. Umemura T, Ichijo T, Yoshisawa K, Tanaka E, Kiyosawa K. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in Japan. *J Gastroenterol*. 2009;44(S9):102-107.
226. Tan A, Yeh SH, Liu CJ, Cheung C, Chen PJ. Viral hepatocarcinogenesis: from infection to cancer. *Liver Int*. 2008;28(2):175-88.
227. Liu CJ, Kao JH. Hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: epidemiology and pathogenic role of viral factors. *J Chin Med Assoc*. 2007;70:141-145.
228. Williams R. Global challenges in liver disease. *Hepatology*. 2006;44:521-6.
229. Larsson SC, Wolk A. Overweight, obesity and risk of liver cancer: a meta-analysis of cohort studies. *Br J Cancer*. 2007 Oct 8;97(7):1005-8.
230. Chuang SC, Vecchia CL, Boffetta P. Liver cancer: Descriptive epidemiology and risk factors other than HBV and HCV infection. *Cancer Lett*. 2008 Dec 15. [Epub ahead of print].
231. Bugianesi E. Non-alcoholic steatohepatitis and cancer. *Clin Liver Dis*. 2007;11(1):191-207.

232. Yatsuji S, Hashimoto E, Kaneda H, Taniai M, Takakura M, Tokushige K, et al. Characteristic features and risk factors for hepatocellular carcinoma in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2005;42(Suppl 1):625A.
233. McKillop IH, Schrum LW. Alcohol and liver cancer. *Alcohol*. 2005;35(3):195-203.
234. La Vecchia C. Alcohol and liver cancer. *Eur J Cancer Prev*. 2007;16(6):495-7.
235. Ikeda K, Arase Y, Saitoh S, Kobayashi M, Someya T, Hosaka T, et al. Prediction model of hepatocarcinogenesis for patients with hepatitis C virus-related cirrhosis. Validation with internal and external cohorts. *J Hepatol*. 2006;44:1089-97.
236. Marrero JA, Hussain HK, Nghiem HV, Umar R, Fontana RJ, Lok AS. Improving the prediction of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with an arterially-enhancing liver mass. *Liver Transplant*. 2005;11:281-9.
237. Donato MF, Arosio E, Del Ninno E, Ronchi G, Lampertico P, Morabito A, et al. High rates of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with high liver cell proliferative activity. *Hepatology*. 2001;34:523-8.
238. Naugler WE, Sakurai T, Kim S, Maeda S, Kim KH, Elsharkawy AM, et al. Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. *Science*. 2007;317:121-124.
239. Marrero JA, Feng Z, Wang Y, Nguyen MH, Befeler AS, Roberts LR, et al. Alpha-fetoprotein, des-gamma carboxyprothrombin, and lectin-bound alpha-fetoprotein in early hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2009 Apr 9. [Epub ahead of print]



240. Forner A, Reig M, Bruix J. Alpha-fetoprotein for hepatocellular carcinoma diagnosis: The demise of a brilliant star. *Gastroenterology*. 2009 May 28. [Epub ahead of print].
241. Zoli M, Magalotti D, Bianchi G, Gueli C, Marchesini G, Pisi E. Efficacy of a surveillance program for early detection of hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 1996;78:977-85
242. Chu CW, Hwang SJ, Luo JC, Lai CR, Tsay SH, Li CP, et al. Clinical, virologic, and pathologic significance of elevated serum alpha-fetoprotein levels in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 2001;32(3):240-4
243. Hu KQ, Kyulo NL, Lim N, Elhazin B, Hillebrand DJ, Bock T. Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein (AFP) in patients with chronic hepatitis C, but not hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol*. 2004;99(5):860-5.
244. Tai WC, Hu TH, Wang JH, Hung CH, Lu SN, Changchien CS, et al. Clinical implications of alpha-fetoprotein in chronic hepatitis C. *J Formos Med Assoc*. 2009;108(3):210-8.
245. Ishii M, Gama H, Chida N, Ueno Y, Shinzawa H, Takagi T, et al. 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;95:1036-40.
246. Sherman M, Peltekian KM, Lee C. Screening for hepatocellular carcinoma in chronic carriers of hepatitis B virus: incidence and prevalence of hepatocellular carcinoma in a North American urban population. *Hepatology*. 1995;22:432-8

247. Peng YC, Chan CS, Chen GH. The effectiveness of serum alphafetoprotein level in anti-HCV positive patients for screening hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 1999;46:3208-11.
248. Gómez Senent S, Gómez Raposo C, Segura Cabral JM. Guía para el diagnóstico, estadificación y tratamiento del hepatocarcinoma. *Med Clin (Barc)*. 2007;128:741-8.
249. Farinati F, Rinaldi M, Gianni S, Naccarato R. How should patients with hepatocellular carcinoma be staged Validation of a new prognostic system. *Cancer*. 2000;89:2266-73.
250. Poon RT, Fan ST, Wong J. Risk factors, prevention, and management of postoperative recurrence after resection of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*. 2000;232:10-24.
251. Ohkubo T, Yamamoto J, Sugawara Y, Shimada K, Yamasaki S, Makuuchi M, Kosuge T. Surgical results for hepatocellular carcinoma with macroscopic portal vein tumor thrombosis. *J Am Coll Surg*. 2000;191:657-60.
252. Tang ZY. Hepatocellular carcinoma-Cause, treatment and metastasis. *World J Gastroenterol*. 2001;7:445-54.
253. Wu MC, Shen F. Progress in research of liver surgery in China. *World J Gastroenterol*. 2000;6:773-6.
254. Rabe C, Pilz T, Klostermann C, Berna M, Schild HH, Sauerbruch T, Caselmann WH. Clinical characteristics and outcome of a cohort of 101 patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2001;7:208-15.

255. Sithinamsuwan P, Piratvisuth T, Tanomkiat W, Apakupakul N, Tongyoo S. Review of 336 patients with hepatocellular carcinoma at Songklanagarind Hospital. *World J Gastroenterol.* 2000;6:339-43.
256. Makino Y, Yamanoi A, Kimoto T, El-Assal ON, Kohno H, Nagasue N. The influence of perioperative blood transfusion on intrahepatic recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:1294-300.
257. Qin LX, Tang ZY. The prognostic significance of clinical and pathological features in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2002;8(2):193-9.
258. Cillo U, Vitale A, Bassanello M, Boccagni P, Brolese A, Zanusi G, et al: Liver transplantation for the treatment of moderately or well-differentiated hepatocellular carcinoma. *Ann Surg.* 2004;239:150-9.
259. Pérez-Saborido B, de los Galanes SJ, Menéu-Díaz JC, Romero CJ, Elola-Olaso AM, Suárez YF, et al. Tumor recurrence after liver transplantation for hepatocellular carcinoma: recurrence pathway and prognostic factors. *Transplant Proc.* 2007;39(7):2304-7.
260. Porrett PM, Peterman H, Rosen M, Sonnad S, Soulen M, Markmann JF, et al. Lack of benefit of pre-transplant locoregional hepatic therapy for hepatocellular cancer in the current MELD era. *Liver Transpl.* 2006;12:665-73.
261. Decaens T, Roudot-Thoraval F, Bresson-Hadni S, Meyer C, Gugenheim J, Durand F, et al. Impact of pretransplantation transarterial chemoembolization on survival and recurrence after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl.* 2005;11:767-75.

262. Maddala YK, Stadheim L, Andrews JC, Burgart LJ, Rosen CB, Kremers WK, et al. Drop-out rates of patients with hepatocellular cancer listed for liver transplantation: outcome with chemoembolization. *Liver Transpl.* 2004;10:449-55.
263. Carr BI, Buch SC, Kondragunta V, Pancoska P, Branch RA. Tumor and liver determinants of prognosis in unresectable hepatocellular carcinoma: a case cohort study. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23:1259-66.
264. Hwang JP, Hassan MM. Survival and hepatitis status among Asian Americans with hepatocellular carcinoma treated without liver transplantation. *BMC Cancer.* 2009;9:46.
265. Tan CK, Law NM, Ng HS, Machin D. Simple clinical prognostic model for hepatocellular carcinoma in developing countries and its validation. *J Clin Oncol.* 2003;21:2294-8.
266. Han K, Tzimas GN, Barkun JS, Metrakos P, Tchervenkov JL, Hilzenrat N, et al. Preoperative alpha-fetoprotein slope is predictive of hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation. *Can J Gastroenterol.* 2007;21(1):39-45.
267. Yin XY, Xie XY, Lu MD, Xu HX, Xu ZF, Kuang M, et al. Percutaneous thermal ablation of medium and large hepatocellular carcinoma: long-term outcome and prognostic factors. *Cancer.* 2009;115(9):1914-23.
268. Cucchetti A, Piscaglia F, Caturelli E, Benvegnù L, Vivarelli M, Ercolani G, et al. Comparison of recurrence of hepatocellular carcinoma after resection in patients with cirrhosis to its occurrence in a surveilled cirrhotic population. *Ann Surg Oncol.* 2009;16(2):413-22.

269. Qin LX, Tang ZY. Recent progress in predictive biomarkers for metastatic recurrence of human hepatocellular carcinoma: a review of the literature. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2004;130:497-513.
270. Kubo S, Tanaka H, Shuto T, Takemura S, Yamamoto T, Kanazawa A, et al. Clinicopathologic features and outcome after liver resection for hepatocellular carcinoma in patients with concurrent versus previous chronic hepatitis B. *Surg Today*. 2005;35:216-222.
271. Fernández-Ruiz M, Guerra-Vales JM, Ferrando-Vivas P, de la Cruz-Bertolo J. Utilidad pronóstica de la concentración sérica de alfafetoproteína en el carcinoma hepatocelular: análisis retrospectivo de 230 pacientes. *Med Clin (Barc)*. 2008;131(5):196-7.
272. Berrington de González A, Darby S. Risk of cancer from diagnostic X-rays: estimates for the UK and 14 other countries. *Lancet*. 2004;363:345-51.
273. Peterson MS, Baron RL. Radiologic diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis*. 2001;5:123-44.
274. Tremolda F, Benevegnu L, Drago C, Casarin C, Cechetto A, Realdi G, et al. Early detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis by  $\alpha$ -fetoprotein, ultrasound and fine-needle biopsy. *Hepatogastroenterology*. 1989;36:519-21.
275. Kang JY, Lee TP, Yap I, Lun KC. Analysis of cost-effectiveness of different strategies for hepatocellular carcinoma screening in hepatitis B virus carriers. *J Gastroenterol Hepatol*. 1992;7:463-8.

276. Debruyne EN, Delanghe JR. Diagnosing and monitoring hepatocellular carcinoma with alpha-fetoprotein: New aspects and applications. *Clin Chim Acta*. 2008;395(1-2):19-26.
277. Okita K, Kurokagua F, Yamasaki T, Sakaida I. Screening of hepatocellular cancer: Japanese strategy. *Hepatol Res*. 2007;37:S142-5.

## **BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA**





## BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Bruix J, editor. Hepatocellular carcinoma. Mayorca: Permanyer Publications; 2004.
- Okuda K, Okuda H. Primary liver cell carcinoma. En: Bircher J, Benhamou JP, McIntire N, Rizzetto M, Rodés J, editores. Oxford textbook of clinical hepatology. 2ª edición. Nueva York: Oxford University Press; 1999. p. 1491-530.



**NIVEL DE PRESENTACIÓN Y DIFUSIÓN DE LOS  
RESULTADOS DE LA TESIS**



## Actividad científica y trabajos

Año	Actividad Científica y Trabajos
2000	<ol style="list-style-type: none"><li data-bbox="418 369 1487 632">1. Póster: “Expresión de marcadores de hepatitis y de alfa-fetoproteína en pacientes con pronóstico de trasplante hepático” (1<sup>er</sup> Congreso de Hospitales Militares, Palacio de Convenciones de La Habana, 3 de noviembre del 2000) (autor principal, 2 créditos)</li><li data-bbox="418 663 1487 926">2. Póster: “Selección de pacientes para trasplante hepático, experiencia de dos años de trabajo” (1<sup>er</sup> Congreso de Hospitales Militares, Palacio de Convenciones de La Habana, 4 de noviembre del 2000) (autor principal, 2 créditos)</li></ol>
2001	<ol style="list-style-type: none"><li data-bbox="418 953 1487 1173">3. Conferencia: “Principales indicaciones del Trasplante Hepático en Cuba” (I Encuentro Luso-Cubano de Trasplante Hepático, CIMEQ, 14 de agosto del 2001) (2 créditos).</li></ol>
2002	<ol style="list-style-type: none"><li data-bbox="418 1173 1487 1451">4. Póster: “Estudio piloto del pesquisaje del carcinoma hepatocelular en pacientes cirróticos, mediante la alfa-fetoproteína por técnica de SUMA” (II Simposio Internacional sobre Trasplante Hepático, CIMEQ, 4 al 8 de febrero del 2002) (autor principal)</li><li data-bbox="418 1472 1487 1579">5. Conferencia: “Marcadores tumorales” (Hepatología 2002, CIMEQ, 7 de marzo del 2002) (dos créditos)</li></ol>

Año	Actividad Científica y Trabajos
	6. Poster: "Estudio piloto del pesquisaje del Carcinoma Hepatocelular en pacientes cirróticos mediante la alfa-fetoproteína por técnica de SUMA" (XIX Conferencia científica del CIMEQ, Ciudad de La Habana, 27 de marzo del 2002) (primer autor)
2004	7. Conferencia: "Indicaciones y manejo del trasplante hepático en pacientes con hepatocarcinoma" (Simposio Internacional Hepatología 2004, CIMEQ, Ciudad de La Habana, 11 de marzo del 2004)
2005	8. Conferencia: "Experiencia en pacientes con hepatocarcinoma" (IV Simposio Internacional de Trasplante Hepático, CIMEQ, Ciudad de La Habana, 10 de noviembre del 2005).  9. Conferencia: "Inmunoquimioembolización en el tratamiento del carcinoma hepatocelular" (1 <sup>ra</sup> Reunión de la Sociedad Cubana de Hepatología. Tema: "Actualidades en Hepatología", Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Ciudad de La Habana, 25 de noviembre del 2005)
2006	10. Mesa Redonda: "Avances en Hepatología" (MEDINTERNA 2006, CIMEQ, Ciudad de La Habana, 2 de marzo del 2006)

Año	Actividad Científica y Trabajos
	<p>11. Poster: "Inmunogammagrafía para la evaluación de la expresión de EGF-R en los carcinomas hepatocelulares" (Hepatología 2006, CIMEQ, Ciudad de La Habana, 15 de marzo del 2006) (autor principal)</p> <p>12. Póster: "Utilidad del UMELISA AFP para el cribaje del carcinoma hepatocelular" (Hepatología 2006, CIMEQ, Ciudad de La Habana, 15 de marzo del 2006) (primer autor)</p> <p>13. Conferencia: "Diagnostico de hepatocarcinoma y determinación de alfa fetoproteína por SUMA" (Hepatología 2006, CIMEQ, Ciudad de La Habana, 15 de marzo del 2006)</p> <p>14. Póster: "Evaluación del UMELISA-AFP para el cribaje y vigilancia del carcinoma hepatocelular" (XXIII Conferencia Científica del CIMEQ, Ciudad de La Habana, 22 de marzo del 2006) (primer autor)</p> <p>15. Póster: "Inmunogammagrafía con AcM contra el EGF-R para la evaluación de carcinomas hepatocelulares" (XXIII Conferencia Científica del CIMEQ, Ciudad de La Habana, 22 de marzo del 2006) (primer autor)</p> <p>16. Conferencia en Simposio: "Avances recientes en la terapia contra el cáncer" (XXIII Conferencia Científica del CIMEQ, Ciudad de La Habana, 22 de marzo del 2006)</p>

Año	Actividad Científica y Trabajos
	<p>17. Póster: "Determinación sérica de <math>\alpha</math>-fetoproteína por SUMA en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular" (Biotecnología Habana 2006, Palacio de las Convenciones, Ciudad de La Habana, 16 de noviembre del 2006) (primer autor)</p>
2009	<p>18. Conferencia: "Utilidad de la alfa-fetoproteína en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular" (XXVI Jornada Científica del CIMEQ, Ciudad de La Habana, 26 de marzo del 2009) (3 créditos)</p> <p>19. Conferencia: "Estrategia de pesquisa y vigilancia del carcinoma hepatocelular" (Sesión científica por el día mundial de la hepatitis. 19 de mayo del 2009, Hotel Chateau, La Habana)</p>



## Publicaciones relacionadas directamente con los resultados de la tesis

Año	Publicación
2006	<ol style="list-style-type: none"><li data-bbox="423 369 1484 779">1. <b>Hernández JC</b>, Samada M, Ramos L, Roque A, Ugarte JC, Jordán J, González M, González L, Abdo A, Cruz Y, Howland I. Experiencia del CIMEQ en la pesquisa del carcinoma hepatocelular en pacientes candidatos a trasplante hepático. En: Actualizaciones en Trasplante 2006. Sevilla: Hospitales Universitarios Virgen del Rocío; 2006. p. 384-6.</li><li data-bbox="423 810 1484 1140">2. <b>Hernández JC</b>, Samada M, Cruz Y, Howland I, Roque A, Ramos L, Fernández I, Chao L. Diagnóstico de hepatocarcinoma y determinación de alfa-fetoproteína por SUMA. En: <b>Hernández JC</b>, Samada M, editores. Hepatología 2006. Ciudad de La Habana: Editorial CIMEQ; 2006. p. 164-73. (ISBN: 978-959-238-126-1)</li></ol>

## Publicaciones relacionadas indirectamente con el tema de la tesis

Año	Publicación
2001	1. Abdo A, González L, <b>Hernández JC</b> , Samada M, López O, Wilford M, Alfonso C, Ysla R, Ugarte JC, Lage J, Díaz J, Suárez O. Trasplante Hepático en Cuba. Resultados de nuestro primer año de trabajo. En: Actualizaciones en Trasplantes 2001. Sevilla: Graphimag & Cyberia; 2001. p. 141-52.
2004	2. <b>Hernández JC</b> , Samada M, Ramos L, González L, Abdo A. Valoraciones éticas en la selección de pacientes adultos para trasplante hepático. En: Actualizaciones en Trasplante 2004. Sevilla: Hospitales Universitarios Virgen del Rocío; 2004. p. 353-9.
2005	3. González L, Abdo A, López O, Samada M, Ramos L, Castillo J, Fernández A, Ysla R, <b>Hernández JC</b> , Cepero M, Castellanos R, Wilford M, Gómez F, Díaz J, Collera SA, Domínguez J, Benítez PP, Rodríguez H, Avalo FD. Liver transplantation at the Cuban Center for Medical and Surgical Research. Transplant Proc. 2005 Apr; 37(3): 1505-6. 4. <b>Hernández JC</b> , González L, Samada M, Ramos L, Abdo A. Valoraciones éticas en la selección de pacientes adultos para trasplante hepático. En: Ruiz de la Cuesta A. Bioética y derechos humanos: Implicaciones sociales y jurídicas. Sevilla: Universidad de Sevilla Secretariado de Publicaciones; 2005. p. 371-94.

Año	Publicación
2006	<p>5. <b>Hernández JC</b>, Alfonso C, González L, Samada M, Ramos L, Cepero-Valdés M, Abdo AA, Gómez F, Castellanos R, López O, Ugarte JC, Jordán J. Solid mesenchymal hamartoma in adult. A case report. J Clin Pathol. 2006; 59: 542-5.</p> <p>6. Abdo A, González L, López O, Cepero M, Collera S, Domínguez J, Suarez O, Díaz J, Benítez P, Castellanos R, Gómez F, Ramos L, Samada M, <b>Hernández JC</b>, Wilford M, Ysla R, Pérez-Bernal J, Bernardos A. 100 trasplantes hepáticos en el Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas de Cuba. En: Actualizaciones en Trasplante 2006. Sevilla: Hospitales Universitarios Virgen del Rocío; 2006. p. 402-7.</p> <p>7. González L, Abdo AA, López O, <b>Hernández JC</b>, Samada M, Cepero M, Ramos L, Ysla R, Madrigal G, Collera SA, Domínguez J, Diaz J, Benitez PP, Castellanos R. First 100 Liver Transplants at the Medico-Surgical Research Center (CIMEQ). Transpl Proc. 2006; 38: 2473-4.</p> <p>8. <b>Hernández JC</b>, Ramos M, Cedeño M, Roque A, Samada M, Rodríguez N, Reginfo E, Alfonso C, de Armas MC, Perera A, Ugarte JC, Jordán J, González M, Ramos L, González L. Expresión de EGF-R en los carcinomas hepatocelulares. En: <b>Hernández JC</b>, Samada M, editores. Hepatología 2006. Ciudad de La Habana: Editorial CIMEQ; 2006. p. 164-73.</p>

Año	Publicación
	<p>9. González L, <b>Hernández JC</b>, Samada M, Abdo AA, Ramos L, López O, Cepero M, Roque A. Resultados del Trasplante Hepático en el CIMEQ. En: <b>Hernández JC</b>, Samada M, editores. Hepatología 2006. Ciudad de La Habana: Editorial CIMEQ; 2006. p. 225-31.</p>

---

## Otras actividades y reconocimientos

Año	Otras actividades
2005	1. Reconocimiento: “Por haber resultado el trabajador más destacado del año en las actividades científico-técnicas, en la categoría de Mejor Investigador” (Trabajo relacionado con la investigación de utilidad de UMELISA-AFP en el diagnóstico del carcinoma hepatocelular). CIMEQ, Ciudad de La Habana, 1 <sup>ro</sup> de diciembre del 2005.
2006	2. Obtención de la categoría “Relevante” en el XVI Forum de Ciencia y Técnica de la dirección de logística con el Trabajo: “Pesquisaje del carcinoma hepatocelular mediante la determinación de alfa-fetoproteína por la técnica del Sistema Ultramicroanalítico” (SUMA). Ciudad de La Habana, julio del 2006. (autor principal).  3. Trabajo de Terminación de Residencia en la especialidad de Medicina Interna: “Caracterización clínica de los Carcinomas Hepatocelulares en pacientes seguidos por el grupo de Hepatología y Trasplante Hepático del CIMEQ”. (Tutor de tesis)
2009	4. Reconocimiento por haber obtenido el 1 <sup>er</sup> lugar en la categoría de Presentación de Investigaciones. Otorgado durante la XXVI Conferencia Científica del CIMEQ y la XXI Jornada de Enfermería y Tecnólogos de la Salud. Ciudad de La Habana. 26 de marzo de 2009 (autor).



## **ANEXOS**





## ANEXO 1.

---

### Procedimientos diagnósticos ante un nódulo hepático detectado por ultrasonido durante la pesquisa o seguimiento de pacientes cirróticos.

Nódulo	Diagnóstico de CHC	Procedimiento recomendado
<1cm	Improbable (<50% son finalmente CHC)	Repetir US cada 3 meses. Si se produce crecimiento del nódulo, proceder con el próximo paso.
1 a 2cm	Probable	Si dos estudios imagenológicos muestran hipervascularización arterial seguidos de lavado de la lesión en la fase portal, se establece el diagnóstico de CHC. Se puede requerir de la biopsia hepática si es negativa, pero la tasa de falsos negativos es del 40%. Si negativo, se recomienda seguimiento estrecho trimestral.
>2cm	Altamente probable	Si un estudio imagenológico muestra hipervascularización arterial seguidos de lavado de la lesión en la fase portal, o si hay elevación marcada de la AFP (>200ng/mL) y un estudio con hipervascularización arterial del nódulo, se establece el diagnóstico de CHC. Se indica biopsia en ausencia de hipervascularización arterial.

---

CHC (carcinoma hepatocelular), US (ultrasonido), AFP ( $\alpha$ -fetoproteína).

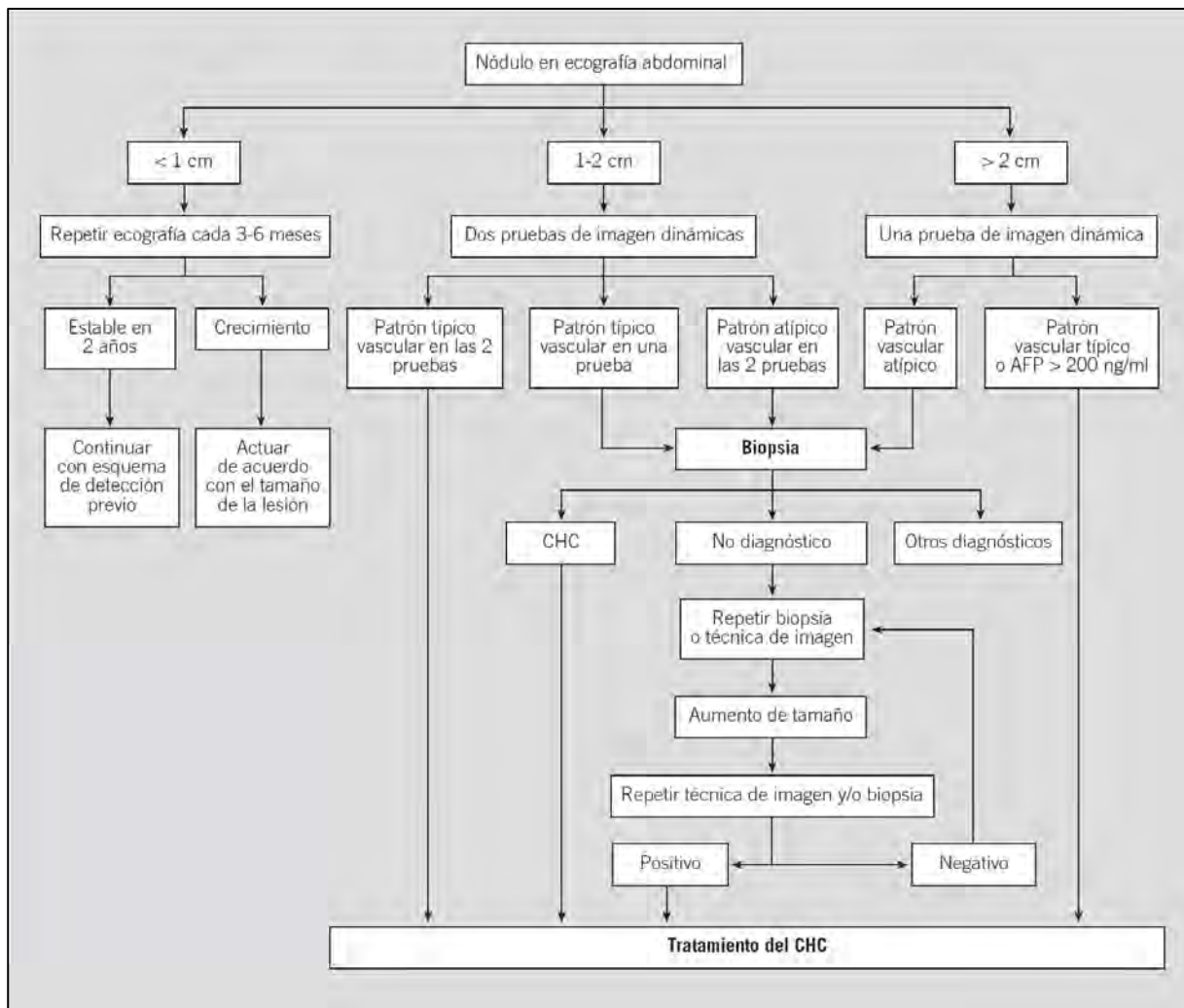
Nota: el patrón de hipervascularización arterial y de lavado en la fase portal se puede determinar por las siguientes técnicas imagenológicas: ecografía abdominal con contraste, tomografía computarizada helicoidal trifásica y resonancia nuclear magnética con contraste.

---

**Fuente:** Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2005; 542: 1208-36.

**ANEXO 2.**

**Algoritmo diagnóstico recomendado para la investigación de un nódulo detectado en la ecografía abdominal en un paciente cirrótico (adaptada de Bruix y Sherman).**



US: ultrasonido, CHC: carcinoma hepatocelular

Fuente: Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. Hepatology. 2005; 542: 1208-36.

## ANEXO 3.

---

### **Criterios de Milán.**

- Lesión nodular única no mayor de 5 cm, o menos de tres lesiones menores de 3 cm cada una.
- No invasión vascular demostrable.

---

**Fuente:** Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. N Engl J Med. 1996; 334 (11): 693-9.

## ANEXO 4.

### Instructivo del UMELISA® -AFP

1

#### INTERÉS CLÍNICO

La Alfa-fetoproteína (AFP) es un importante antígeno oncofetal, que en el suero del individuo normal se encuentra en concentraciones mínimas y aumenta fisiológicamente durante el embarazo. Su determinación en suero humano resulta de gran interés en:

##### **1.- El estudio de alteraciones del embarazo.**

La determinación de AFP en suero materno, se ha orientado hacia el pesquiasaje prenatal de Defectos del Tubo Neural (DTN) (1,2). Diversos estudios han señalado que un programa de pesquiasaje de DTN basado en la determinación de AFP sérica materna, permite detectar aproximadamente el 80 % de las espinas bífidas abiertas y el 90 % de las anencefalias (3), posee además una sensibilidad del 90 % en el diagnóstico de Defectos Abiertos de la pared ventral anterior (gastroquisis y onfaloceles) (4). La concentración de AFP en suero materno se encuentra elevada también en situaciones tan disímiles como el embarazo gemelar, amenaza de aborto, muerte fetal y otras (2,5), por lo cual un pesquiasaje masivo de AFP en gestantes, facilita el diagnóstico de estos casos (6). Los valores anormalmente bajos de AFP y elevados de HCG en el suero materno se asocian a cromosopatías fetales como el Síndrome de Down (7-10), comprobándose la utilidad clínica del pesquiasaje combinado de AFP, HCG y edad materna para calcular el riesgo de portar un feto con esta cromosopatía (11-13).

##### **2.- Como marcador tumoral.**

La AFP es un marcador asociado a los carcinomas hepatocelulares (14) y a tumores de células germinativas de ovarios y testículos (15). También puede encontrarse elevada en otros tumores malignos tales como carcinomas gástricos y pancreáticos (16), colangiocarcinomas y carcinomas esofágicos (17).

##### **3.- En el estudio de hepatopatías no neoplásicas.**

Se han encontrado valores altos de AFP sérica en enfermedades hepáticas no neoplásicas, tales como hepatitis y cirrosis, aunque en concentraciones menores que las halladas usualmente en los hepatomas. La mayor parte de estos aumentos en la concentración de AFP se observan en pacientes cuya hepatopatía está relacionada con el virus de la Hepatitis B (18).

El UMELISA AFP es un ensayo diseñado para el pesquiasaje de malformaciones congénitas asociadas al sistema nervioso central, en muestras de suero humano de embarazadas comprendidas entre las 15 y 19 semanas de gestación y en líquido amniótico para embarazadas con edades gestacionales entre 16 y 22 semanas. Debe ser utilizado con el Sistema Ultramicroanalítico (SUMA), adecuado para efectuar la prueba en óptimas condiciones y garantizando el empleo del equipamiento necesario.

#### FUNDAMENTO DEL ENSAYO

El UMELISA AFP es un ensayo inmunoenzimático heterogéneo tipo sandwich, en el cual se utiliza como fase sólida tiras de ultramicroELISA revestidas previamente con anticuerpos Anti AFP, lo cual garantiza la especificidad del ensayo.

Las muestras se incuban en los pocillos de la tira, fijándose la AFP presente en las mismas a los anticuerpos que revisten la tira. La realización de un lavado posterior elimina los componentes no fijados, permaneciendo en el pocillo el complejo anticuerpo/AFP. Se añade entonces un conjugado

Anti AFP/Fosfatasa Alcalina (F.A.), el cual se une a la AFP fijada en la reacción anterior. Un nuevo lavado de las tiras elimina el conjugado en exceso. Al añadir un sustrato fluorogénico (4-Metilumbeliferil fosfato) en los pocillos de la tira, éste resultará hidrolizado por la enzima del conjugado y la intensidad de la fluorescencia emitida será proporcional a la concentración de AFP presente en la muestra.

### CONTENIDO DEL ESTUCHE Y PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE TRABAJO

#### Códigos UM 2005 (288 pruebas) y UM 2105 (480 pruebas)

##### Contenido:

Placa recubierta de 12 tiras x 8 pocillos	3	5
R1: Solución Tampón	2 x 25 mL	2 x 25 mL
R2: Suero de Camero	1 x 18 mL	1 x 18 mL
R3: Suero Estándar (a-f)*	6 x Liofilizado	6 x Liofilizado
R4: Suero Control	1 x Liofilizado	1 x Liofilizado
R5: Conjugado	1 x 7,5 mL	1 x 7,5 mL
R6: Sustrato	1 x 2 mL	1 x 2 mL
R7: Tampón Sustrato	1 x 18 mL	1 x 18 mL

\* Calibrados frente al patrón de referencia internacional (IRP) 72 225 de la O.M.S.

El lote de las placas recubiertas se muestra en el borde de su envase primario, el cual está compuesto por cinco dígitos, los cuatro primeros representan la fecha de vencimiento de las placas y el quinto representa un indicador numérico interno del proceso de producción.

Todos los reactivos contienen azida sódica (0,2 g/L) como preservante. Los Sueros Estándares y el Suero Control, fueron negativos a las pruebas de detección de anti-

VIH 1+2, HBsAg, anti-VHC y Sífilis.

##### Preparación de las Soluciones de Trabajo:

**R1:** Para una tira de reacción, diluya 1 mL de la solución R1 hasta un volumen de 25 mL con agua destilada. Mezcle suavemente para evitar la formación excesiva de espuma. Prepare sólo lo necesario para el ensayo.

**R2:** Diluya 1:4 con solución de trabajo R1. Cantidad necesaria por tira: 2 mL (0,5 mL de R2 + 1,5 mL de R1). Prepare sólo lo necesario para el ensayo.

**R3:** Reconstituya cada frasco con 0,5 mL de la solución de trabajo R2. Permita su completa disolución y mezcle.

**R4:** Reconstituya con 0,5 mL de la solución de trabajo R2. Permita su completa disolución y mezcle.

**R5:** Listo para el uso. Cantidad necesaria por tira: 0,2 mL.

**R6:** Diluya 1:10 con R7. Cantidad necesaria por tira: 0,5 mL (0,05 mL de R6 + 0,45 mL de R7). Prepare inmediatamente antes de usar y sólo lo necesario para el ensayo.

---

---

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los reactivos deben mantenerse entre 2 y 8 °C, en esas condiciones serán estables en el envase original hasta la fecha de vencimiento.

Después de utilizar parte del contenido de los reactivos, el resto es estable durante 2 meses si se mantienen las mismas condiciones de almacenamiento y se evita la contaminación durante la ejecución de la prueba.

Las tiras de reacción no utilizadas se mantienen estables durante 2 meses entre 2 y 8 °C, en la bolsa suministrada protegida con el desecante y herméticamente cerrada.

### MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Agua destilada.
- Pipeta multicanal con puntas desechables para 10 µL.
- Pipetas de precisión entre 10 y 1000 µL.
- Probetas graduadas entre 10 y 250 mL.
- Incubadora a 37 ± 1 °C.
- Papel absorbente.

### PRECAUCIONES

- Manipule las muestras, los Sueros Estándares y el Suero Control, como potencialmente infecciosos. Utilice guantes desechables. Los materiales utilizados deben colocarse en soluciones desinfectantes (Hipoclorito de sodio al 5 %) o esterilizarse en autoclave.

- Considere a los equipos y accesorios que se han puesto en contacto directo con las muestras y reactivos como contaminados. Realice los procedimientos de limpieza indicados en los manuales de usuario correspondientes.

- Antes de comenzar a trabajar, verifique que todos los reactivos estén a temperatura ambiente y los Sueros Estándares y el Suero Control, una vez preparados según las especificaciones, se encuentren completamente disueltos.

- Utilice puntas limpias o nuevas para la reconstitución y trabajo con las soluciones y muestras.

- Garantice el adecuado control de la humedad en todos los pasos de la prueba. Las muestras y reactivos una vez aplicados, deben mantenerse en las cámaras húmedas para evitar su evaporación ya que esto puede alterar los resultados.

- No incorpore a los frascos originales remanentes de reactivos.

- Las muestras de suero o de líquido amniótico a utilizar deben ser preferentemente frescas, sin precipitados y debe evitarse la congelación y descongelación reiterada de las mismas.

- Las tiras de reacción deben estar a la temperatura del laboratorio antes de retirarles la cubierta protectora, para evitar que se condense humedad en su superficie.

- Verifique que las tiras de reacción estén niveladas en el soporte.

- Evite la exposición a la luz de los frascos que contienen el Sustrato.

- Verifique periódicamente la exactitud y precisión de las pipetas.

- Cumpla las normas de manipulación de los equipos utilizados y verifique previamente su adecuado funcionamiento, tenga especial cuidado en las operaciones de pipeteo y lavado.
- Evite posibles contaminaciones con materiales fluorescentes.
- El juego de reactivos no debe emplearse después de la fecha de vencimiento.
- Los reactivos del UMELISA AFP de lotes diferentes no se deben intercambiar.

### PROCEDIMIENTO TÉCNICO

#### 1.- Preparación de los Sueros Estándares, el Suero Control y las muestras.

##### Sueros Estándares y Suero Control:

Los Sueros Estándares y el Suero Control, una vez reconstituidos quedan listos para su uso. La concentración de los Sueros Estándares se corresponde con la especificada en la etiqueta de los frascos.

##### Muestras:

Diluya las muestras de suero 1:2 con la solución de trabajo R2. En caso de trabajar con muestras de líquido amniótico diluirlas 1:400 con la solución de trabajo R2.

#### 2.- Adición de los Sueros Estándares, el Suero Control y las muestras a las tiras de reacción.

Añada 10 µL de los Sueros Estándares, el Suero Control y las muestras de suero o líquido amniótico, siguiendo el siguiente esquema de distribución:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R3a	R3e	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75
B	R3a	R3e	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76
C	R3b	R3f	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77
D	R3b	R3f	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78
E	R3c	R4	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79
F	R3c	R4	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80
G	R3d	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81
H	R3d	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82

---

Los Sueros Estándares (R3a-R3f) y el Suero Control (R4) deben añadirse de forma manual con una pipeta de precisión.

**Se recomienda evaluar las muestras por duplicado.** Si utiliza el programa UMELISA AFP para la interpretación automática de los resultados, debe colocar en las posiciones 1 y 2 la primera muestra, en las posiciones 3 y 4 la segunda y así sucesivamente.

**3.- Incubación de los Sueros Estándares, el Suero Control y las muestras.**

Incube las tiras de reacción 1 hora a 37 °C en cámara húmeda previamente equilibrada a esa temperatura.

**4.- Lavado.**

Utilice un lavador de la tecnología SUMA. Lave las tiras de reacción 4 veces. Verifique el llenado total del pocillo con la solución R1 de trabajo. La solución debe permanecer como mínimo 30 segundos en los pocillos en cada lavado. Después de la última aspiración seque las tiras sobre papel absorbente.

**5.- Adición del conjugado.**

Con una punta nueva, extraiga del frasco de conjugado la cantidad necesaria según el número de tiras del ensayo y deposítelo en un recipiente limpio. Añada 10 µL del conjugado listo para usar en cada pocillo de reacción.

**6.- Incubación del conjugado.**

Incube las tiras de reacción 1 hora a 37 °C en cámara húmeda previamente equilibrada a esa temperatura.

**7.- Lavado.**

Lave las tiras de reacción según se describe en el acápite 4.

**8.- Adición del sustrato.**

Coloque 10 µL de sustrato convenientemente diluido en cada pocillo de la tira de reacción.

**9.- Incubación del sustrato.**

Incube en cámara húmeda a temperatura ambiente (20 a 25 °C). Normalmente se requiere una incubación de 30 minutos para alcanzar una señal fluorescente de 100 a 160 unidades para el Suero Estándar R3f. Sin embargo, debido a las variaciones de temperatura, puede resultar conveniente que cada laboratorio ajuste el tiempo de incubación para lograr estos niveles de fluorescencia.

**10.- Lectura.**

Realice la lectura de la intensidad de la fluorescencia emitida en cada determinación utilizando un lector de la serie SUMA.



---

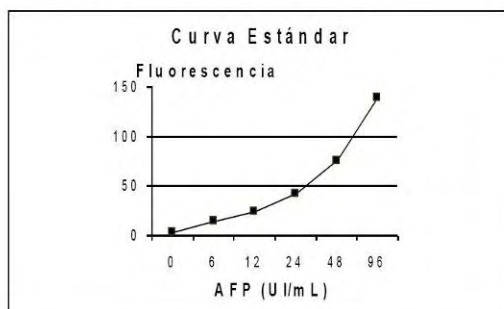
---

### PROCEDIMIENTO DE CÁLCULO

- Los valores de fluorescencia de las muestras de concentración desconocida se interpolan en un gráfico de fluorescencia contra el logaritmo de la concentración de AFP correspondiente a la Curva Estándar, obteniéndose los resultados en UI/mL. Entre el Suero Estándar R3a y el R3b se utiliza una escala lineal-lineal. Este procedimiento es realizado automáticamente por el lector SUMA.

- La validación, interpretación e impresión de los resultados, son realizados automáticamente por el programa UMELISA AFP. De no disponerse de este programa, los resultados deben expresarse en múltiplos de la mediana (MoM), para lo cual debe dividirse la concentración de AFP de la muestra, expresada en UI/mL, entre la mediana de la edad gestacional correspondiente.

### CONTROL DE LA CALIDAD



I. La Curva Estándar debe cumplir las siguientes condiciones:

La media de los dos valores de fluorescencia para cada Suero Estándar (R3a-R3f) deben proporcionar un incremento en fluorescencia proporcional a su concentración, siguiendo un patrón similar al ejemplificado, los valores discordantes son eliminados automáticamente por el programa.

II. El valor de concentración calculado para el Suero Control debe encontrarse en el intervalo establecido para el ensayo.

III. Si las muestras son analizadas por duplicado deben cumplir la siguiente condición:

La diferencia de los valores de fluorescencia de los duplicados de una muestra debe ser menor al 10 % con respecto a su valor medio.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Teniendo en cuenta los diferentes factores genéticos y ambientales que actúan sobre poblaciones de diferentes localizaciones geográficas, la práctica internacional recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

En el Programa Cubano de Determinación de AFP en gestantes, se consideran elevadas aquellas muestras de suero en las cuales se obtienen valores superiores a dos veces el valor de la mediana para la edad gestacional correspondiente (2 MoM) y en líquido amniótico (L.A.) para valores superiores a 2,5 MoM.

Los valores de las medianas establecidos en gestantes cubanas son los siguientes:

<u>Suero</u>		<u>Líquido amniótico</u>	
Edad Gestacional	Medianas (UI/mL)	Edad Gestacional	Medianas (UI/mL)
15	25,00	16	16 121
16	28,80	17	13 113
17	33,40	18	8 516
18	39,90	19	7 565
19	41,50	20	6 960
		21	5 210
		22	3 960

En estudios realizados en Cuba utilizando la determinación de AFP en el pesquiasaje de neoplasias en una población mayor de 50 años supuestamente sana, se han considerado normales todas las muestras con concentraciones menores a 15 UI/mL, sospechosas con concentraciones entre 15 y 30 UI/mL y positivas si las concentraciones son superiores a 30 UI/mL.

## CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL ENSAYO.

### 1. PRECISIÓN.

Se evaluaron tres muestras de concentraciones conocidas de AFP (n = 20) en el ensayo (intraensayo) y el mismo fue repetido durante varios días (interensayo).

Precisión del UMELISA AFP

(UI/mL)	Intraensayo (n=20)		Interensayo (n=20)	
	DE	CV (%)	DE	CV (%)
23,3	1,6	6,6	1,6	7,1
66,5	3,3	5,1	3,4	5,2
106,6	0,4	0,3	5,0	4,8

## 2. EXACTITUD.

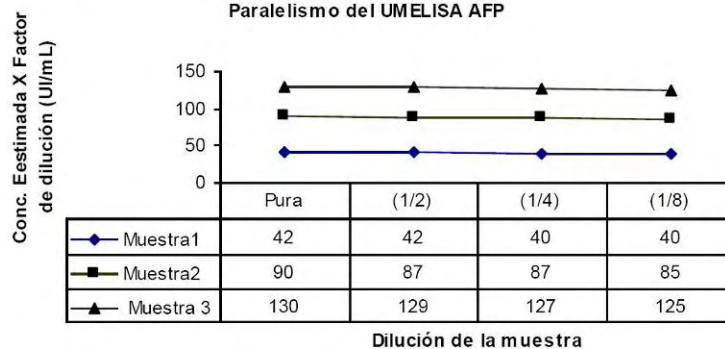
La adición de AFP a tres muestras de suero con diferentes niveles de AFP promedió un  $102,4 \pm 8$  % de recuperación.

Recuperación del UMELISA AFP

Muestras	Valor Esperado (UI/mL)	Valor Observado (UI/mL)	Recuperación (%)
1	19,7	18,7	95
2	90,3	92,47	102,3
3	161,9	177	110

Se realizaron diluciones seriadas a muestras de pacientes con altos niveles de AFP, mostrándose paralelas a la Curva Estándar. Las concentraciones calculadas después de la corrección con el factor de dilución fue del  $\pm 9$  % de la concentración original en la muestra pura.

Paralelismo del UMELISA AFP



## 3. DETECTABILIDAD.

La detectabilidad del UMELISA AFP es de 1,0 UI/mL. Se definió como la concentración calculada para la fluorescencia equivalente al Suero Estándar R3a + 2 D.E.

---

---

**BIBLIOGRAFÍA**

- 1.-Brock, D.J.H., Sutcliffe, R.G. Alpha fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 2:197-199, 1972.
- 2.-Milunsky, A., Alpert, E. The value of AFP in the prenatal diagnosis of neural tube defects. *J. Pediatric*. 84:889-893, 1974.
- 3.-Report of U.K. Collaborative Study on Alpha-fetoprotein in relation to Neural Tube Defects: Maternal serum Alpha fetoprotein measurement in antenatal diagnosis screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. *Lancet* 1:1323-1332, 1977.
- 4.-Wald, N.J., Haddow, J.E.: MSAFP screening, in Alpha-fetoprotein Screening The current issues. Scarborough ME. The foundation for Blood Research 5, 1981.
- 5.-Crandall, B.F., et al. Risk for fetal abnormalities after very and moderately elevated AFPs. *Prenatal Diag*, 17:837-841, 1997.
- 6.-Solís, R.L., Fernández Yero, J.L., Robaina, R., Heredero, L.: 10 Years-Cuban Alpha-fetoprotein Program. Neonatal Screening in the Nineties/Wilcken 369, 1991.
- 7.-Cukle, H.S., Screening for neural tube defects, CIBA Foundation Symposium 181, Chinchester John Wiley. 253-269, 1994.
- 8.-Cuckle, H.H.S., Wald, N.J., Thompson, S.G.: Estimating a woman risk of having a pregnancy associated with Down's Syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Brit J Obstet Gynaecol* 94:387-402, 1987.
- 9.-Kautzmann, M, Solís, R.L., Luberta, A., Fernández Yero, J.L., Navarro, J., Rodríguez, L., et al. Study of the efficiency of screening for trysomy 21 based on maternal serum levels of AFP and HCG combined with maternal age. *J. Clin. Ligand Assay*. 181-185, 1995.
- 10.-Bogart, M.H., Pandian, M.R., Jones, O.W.: Abnormal maternal serum chorionic gonadotrophin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 7:623-630, 1987.
- 11.-Merkatz, I.R., Nitowsky, H.M., Macri, J.N.: An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosome abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 14:886, 1984.
- 12.-Palomaki,G.E., Williams, J., Haddow, J.E.: Combining maternal serum alpha-fetoprotein measurements and age to screen for Down's Syndrome in pregnant women under the age of 35. New England Regional Genetics Group Prenatal Collaborative Study of Down's Syndrome screening. *Am J Obstet Gynaecol* 160:575, 1989.
- 13.-Crossley, J.A, Aitken, D.A., Connor, J.M.: Prenatal screening for chromosome abnormalities using maternal serumchorionic gonadotrophin, alpha-fetoprotein, and age. *Prenatal diagnosis* 11:83-101, 1991.
- 14.-Tatarinov, Y.S.: Presence of embryonal alpha-globuline in the serum of patients with primary hepato-cellular carcinoma. *Vopr Med Khim* 10:90-91, 1964.
- 15.-Abelev, G.I. et al.: Embryonal serum alpha-globulin in cancer patients. Diagnostic Value. *Int J Cancer* 2:551-558, 1967.
- 16.-O'Connor, G. et al.: A collaboratory study for the evaluation of a serologic test for primary liver cancer. *Cancer* 25:1091-1098, 1970.
- 17.-Spragins, J., Hall, W.H., White, H.J.: Fetoprotein from esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Inter Med* 77:322- 323, 1972
- 18.-Kelsten, M.L. et al.: Monitoring hepatocellular carcinoma by using a Monoclonal

---

Immunoenzymometric Assay for Alpha-fetoprotein. Clin Chem 34:76-81, 1988.

**Julio 31, 2003**

**UMELISA AFP**

**Códigos UM 2005 y UM 2105.**

**Centro de Inmunoensayo. Calle 134 y Ave. 25, Apdo Postal 6653, La Habana, CUBA. Teléfono:  
208-2929, Fax: (537) 208-6514.**

## ANEXO 5.

---

### **Hoja de información para un posible participante en el protocolo de investigación científica: “Diagnóstico del CHC mediante la determinación de $\alpha$ -fetoproteína por la técnica del Sistema Ultramicroanalítico (SUMA)”**

Estimado señor o señora:

El presente protocolo de investigación tiene como principal objetivo valorar los resultados y la utilidad de la determinación de una proteína en la sangre que se llama alfa-fetoproteína. Esta prueba se realizará en el laboratorio clínico del hospital CIMEQ mediante el Sistema Ultramicroanalítico, que comúnmente conocemos como SUMA.

Este estudio reviste gran importancia para el seguimiento de su enfermedad hepática por constituir esta un factor de riesgo para el desarrollo de un tipo de enfermedad maligna que se conoce como Carcinoma Hepatocelular, y que de diagnosticarse en el momento oportuno puede brindar opciones de tratamiento adecuados.

La única incomodidad que representa para usted este estudio, es la toma de muestra de sangre, que coincidirá con otros estudios que habitualmente se realiza en la Institución como parte del seguimiento regular por la cirrosis hepática. Esta prueba se realizará con una periodicidad habitual de dos a una vez anual. No están descritos eventos adversos y sólo ocurrirán aquellas molestias que están asociadas a una toma de muestra de sangre.

De aprobar su inclusión, recibirá como beneficio la realización de un examen clínico, de laboratorio e imagenológicos, que posibilitarán confirmar o establecer su diagnóstico y estadio. Basados en ello se le ofrecerá las mejores opciones de tratamiento disponibles en el centro, que contribuirá a la mejoría de su estado de salud y calidad de vida.

Su participación es voluntaria en esta investigación, así como la posibilidad de retirarse del estudio en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación médico-paciente, ni se produzca un perjuicio en la atención médica.

Le informamos que los datos personales de su identidad son confidenciales y sólo podrán tener acceso a ellos los miembros del equipo de la investigación. No se publicarán ni divulgarán sus datos personales.

Los miembros del equipo médico que participan en esta investigación tienen el deber de informarle y contestarle a usted y sus familiares, cualquier duda que tenga relacionado con la investigación.

En caso de urgencia puede contactar a cualquiera de los miembros del grupo de trasplante hepático del CIMEQ.

Investigador principal

## ANEXO 6.

### Modelo de Consentimiento Informado

#### Modelo de Consentimiento informado por escrito.

#### “Diagnóstico del CHC mediante la determinación de $\alpha$ -fetoproteína por la técnica del Sistema Ultramicroanalítico (SUMA)”

Yo \_\_\_\_\_

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer las preguntas sobre el estudio.

He hablado con: (nombre del investigador) \_\_\_\_\_

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mi atención médica

Presto libremente mi conformidad para participar en esta investigación

Fecha:

\_\_\_\_\_  
Firma del participante

\_\_\_\_\_  
Nombre y apellidos del investigador

\_\_\_\_\_  
Firma del investigador

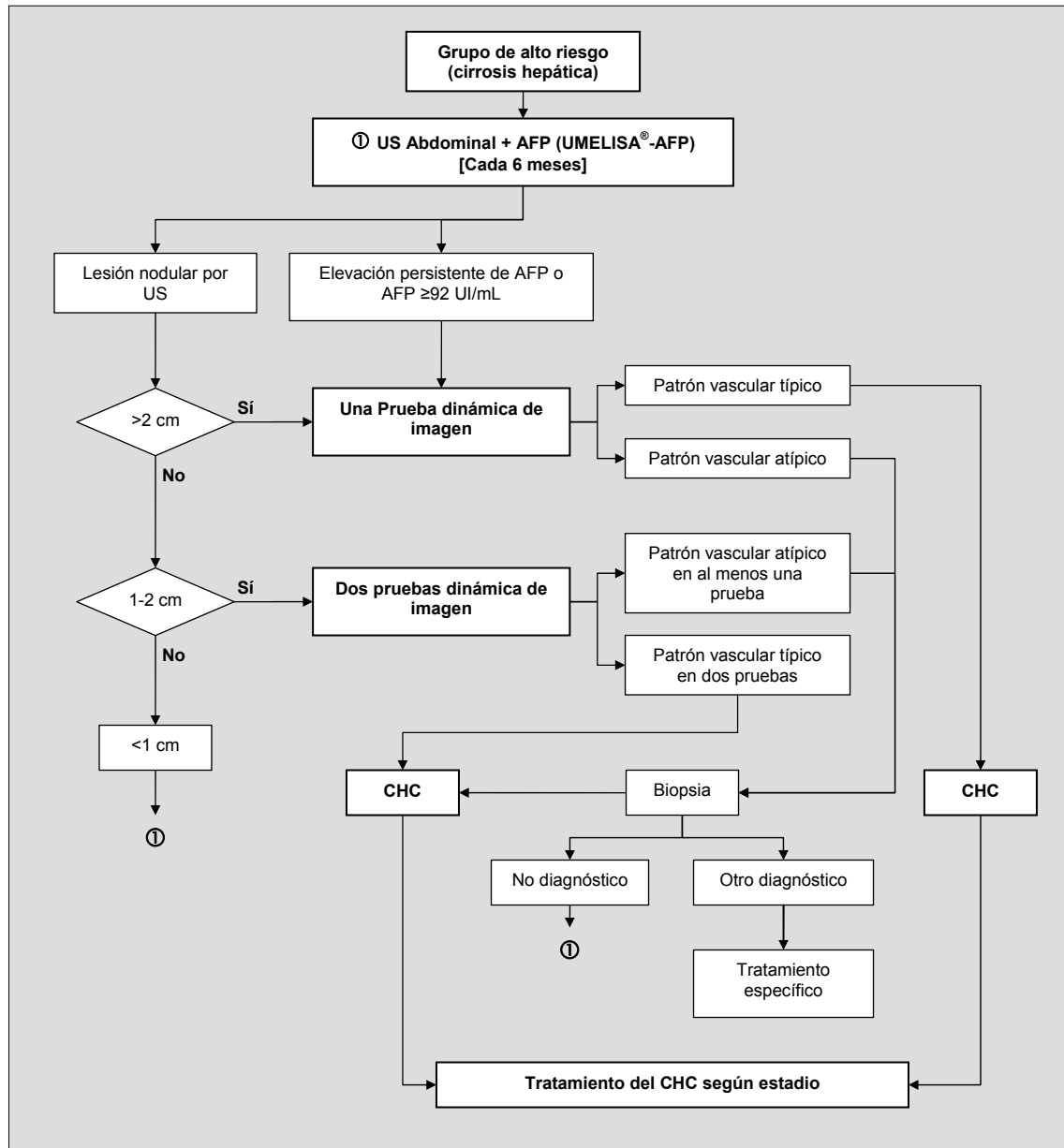
\_\_\_\_\_  
Nombre y apellidos del testigo

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo



## ANEXO 7.

### Propuesta de algoritmo para la pesquisa y vigilancia del hepatocarcinoma



AFP:  $\alpha$ -fetoproteína, US: ecografía abdominal, CHC: carcinoma hepatocelular

