

Biomarkery jako prognostické a prediktivní faktory u pacientů s hepatocelulárním karcinomem podstupujících radiologické onkologické intervence

Biomarkers as prognostic and predictive factors in patients with hepatocellular carcinoma undergoing radiological oncological interventions

Zavadil J.^{1,2}, Rohan T.¹, Juráček J.³, Kiss I.⁴, Ostřížková L.⁵, Válek V.¹, Slabý O.³, Andrašina T.¹

¹ Klinika radiologie a nukleární medicíny LF MU a FN Brno

² Radiodiagnostický ústav, FN Ostrava

³ CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU Brno

⁴ Klinika komplexní onkologické péče LF MU a MOÚ Brno

⁵ Interní hematoonkologická klinika LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: Radiologické onkologické intervenční výkony patří mezi důležité metody terapie hepatocelulárního karcinomu. V časných stádiích lze vedle chirurgických postupů využít termální ablační metody. Při středně pokročilém onemocnění hrají významnou roli metody založené na transarteriálním přístupu, zejména transarteriální chemoembolizace. Úspěšnost intervenčních zákroků závisí nejen na biologické povaze a velikosti nádoru, na technickém provedení a reakci organismu na léčbu, ale také na molekulárních změnách spojených s těmito procedurami. Kromě klasických prediktivních a prognostických faktorů, mezi které se řadí věk, komorbidita pacienta, Child-Pugh skóre, vlastnosti tumoru, přítomnost velkých cév v okolí a trombóza portální žíly, se ve studiích stále častěji zmiňují prognostické a prediktivní faktory molekulární a také sérové biomarkery. Rutinně užívaným prognostickým biomarkerem je v současnosti pouze α -fetoprotein. Přesto se objevují studie poukazující na nové sérové biomarkery, které mají potenciál v budoucnu pomoci ke stanovení prognózy onemocnění a predikci úspěšnosti terapie klasickým markerům a zobrazovacím metodám. Mezi tyto biomarkery se nejčastěji řadí γ -glutamyltranspeptidáza, des- γ -karboxyprotrombin, některé typy mikroRNA, zánětlivé a hypoxické látky, jejichž sérové hladiny jsou ovlivněny samotnými intervenčními výkony. Hodnocení těchto molekul by mohlo vést k optimalizaci lékařské intervence (volby metody terapie, načasování léčby) nebo změně managementu sledování pacientů po intervenčních výkonech. Ačkoli několik biomarkerů ukázalo slibné výsledky, většina sérových biomarkerů stále vyžaduje ověření ve velkých studiích fáze III. **Cíl:** Cílem této práce je podat ucelený přehled klasických a molekulárních biomarkerů, které by potenciálně mohly pomoci v prognostické stratifikaci pacienta a umožnit tak lépe predikovat úspěšnost a efekt radiologických intervenčních metod.

Klíčová slova

biomarker – hepatocelulární karcinom – prediktivní faktory – prognóza – termální ablace – transarteriální chemoembolizace

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Jan Zavadil
Radiodiagnostický ústav
FN Ostrava
17. listopadu 1790/5
708 00 Ostrava-Poruba
e-mail: jan.zavadil@fno.cz

Obdrženo/Submitted: 9. 5. 2022

Přijato/Accepted: 7. 9. 2022

doi: 10.48095/ccko2023104

Summary

Background: Hepatocellular carcinoma is the most common malignant liver tumor in adults and thermal ablation and transarterial embolization are important methods of therapy. Thermal ablation can be used in early stages. Methods based on the transarterial approach, especially transarterial chemoembolization, play an important role in intermediate stage diseases. The success of procedures depends not only on the biological nature and the size of the tumor, on the technical design of the procedure and on the patient's response to treatment, but also on the molecular changes associated with these procedures. In addition to classic predictive and prognostic factors including age, patient comorbidities, Child-Pugh score, tumor characteristics, presence of large surrounding vessels, and portal vein thrombosis, molecular prognostic and predictive factors (serum biomarkers) are often mentioned in studies. Currently, only α -fetoprotein is routinely used as a prognostic biomarker; however, there are studies referring to new serum biomarkers that can potentially help to classical markers and imaging methods to determine the cancer prognosis and predict the success of therapy. These biomarkers most often include γ -glutamyltranspeptidase, des- γ -carboxyprothrombin, some types of microRNAs, inflammatory and hypoxic substances, whose serum levels are changed by the intervention therapies. Evaluation of these molecules could lead to the optimization of the medical intervention (choice of therapy method, timing of treatment) or change the management of patient follow-up after interventions. Although several biomarkers have shown promising results, most serum biomarkers still require validation in phase III studies. **Purpose:** The aim of this work is to present a comprehensive overview of classical and molecular biomarkers that could potentially help in the prognostic stratification of patients and better predict the success and effect of radiological intervention methods.

Key words

biomarkers – hepatocellular carcinoma – predictive factor – prognosis – thermal ablation – transarterial chemoembolization

Úvod

Pro léčbu hepatocelulárního karcinomu (hepatocellular carcinoma – HCC) je zásadní staging onemocnění. Doporučený postup léčby HCC v ČR vychází z tzv. Barcelonské klasifikace (Barcelona Clinic Liver Cancer staging system – BCLC klasifikace), pro kterou je klíčový celkový stav pacienta (performance status, komorbidita), Child-Pugh skóre (hodnotící stav jaterního parenchymu pomocí hladiny bilirubinu, sérového albuminu, protrombinového času (INR), přítomnosti ascitu a jaterní encefalopatie) a radiologický rozsah onemocnění (velikost a četnost nádoru, cévní invaze a extrahepatální šíření). BCLC klasifikace vyjadřuje i prognózu HCC a dělí pacienty do pěti skupin: 0 a A–D [1]. V časném stadiu (BCLC 0 nebo A) je indikována kurativní terapie pomocí resekce, transplantace nebo termální ablace (TA). Ve středně pokročilém stadiu (BCLC B) je metodou volby transarteriální chemoembolizace (TACE) nebo radioembolizace se záměrem prodloužit celkové přežití (overall survival – OS) pacientů [2]. Radiologické onkologické intervenční metody tak zaujímají významnou roli v terapii HCC. V současnosti nejpoužívanější technikou z TA je mikrovlnná ablace (microwave ablation – MWA) určená pro nádory o velikosti ideálně ≤ 3 cm, v rizikových oblastech lze využít i radiofrekvenční ablací nebo netermální metodu – alkoholizaci, která ale má vyšší riziko lokální recidivy [3].

Ablační systémy zahrnují generátor energie a elektrodu ve formě jehly, která dodává energii přímo do cílové nádorové oblasti a způsobuje koagulační nekrózu. Principem je zahřátí tkáně minimálně na 60 °C. U použití mikrovln je dosažen větší objem nekrózy, zkrácení doby ablace a vyšší teplota dodávaná do cílové tkáně, navíc MWA je méně náchylná k ochlazení okolními cévami. Proto by měla být metodou volby u pacientů s HCC o velikosti ≤ 3 cm [4]. Účinnost léčby souvisí s řadou parametrů, jako je velikost nádoru, jeho lokalizace, přítomnost větších cév v okolí a použité nastavení ablace (výkon, doba ablace) [5].

Výkon využívající přístup přes cévní řečiště – TACE – je metoda relativně dostupná a indikovaná velké skupině pacientů s pokročilým onemocněním. Jedná se o pacienty s ložiskem > 3 cm nebo s multifokálním onemocněním [1]. TACE je založena na kombinaci efektu lokální ischemie a chemoterapie při selektivní obstrukci arteriálního zásobení nádoru. Využívá se přitom rozdílného cévního zásobení nádoru (převážně z jaterní tepny) a zdravého jaterního parenchymu (zejména z portální žíly).

Embolizační částice slouží také jako nosiče pro cytostatikum, nejčastěji doxorubicin. Pro embolizaci byl historicky nejpoužívanějším embolizačním materiálem lipiodol (tzv. konvenční TACE), nicméně výkon je technicky velmi náročný a cytostatikum se z emulze vylučuje do nádoru i systémové cirkulace poměrně rychle.

V současnosti je upřednostňována léčba nedegradabilními kalibrovanými hydrofilními sférickými částicemi (tzv. drug eluting beads), které mají specifickou standardizovanou velikost (30–900 μ m) a jsou nejčastěji složeny z polyvinylalkoholu. Mají schopnost nést až dvojnásobné množství doxorubicinu a chemoterapeutikum uvolňují do nádorové tkáně postupně [6]. Při použití malých částic se embolizační materiál dostává do periferie kapilárního řečiště s minimálním průnikem do systémového řečiště.

Další možností jsou preparáty s degradabilními částicemi (degradable starch microspheres), které způsobují okluzi cév po dobu 35–50 min a poté jsou rozloženy sérovými α -amylázami. Částečné obnovení průtoku krve embolizovanými tepnami je přibližně po 10–15 min [7]. Užívají se v případech, kde není možnost selektivní embolizace. Velikost částic embolizačního činidla je v průměru 50 μ m.

Klasické prognostické a prediktivní faktory

U pacientů s HCC podstupujících minimálně invazivní radioonkologické výkony se velmi často k prognostické stratifikaci a k predikci odpovědi na specifickou léčbu využívají nesérové biomarkery opírající se o charakteristiky primárního tumoru na zobrazovacích metodách či jeho histopatologického obrazu.

Z obecných prognostických faktorů OS se při termálních metodách používají věk a komorbidita pacienta, diferenciace a velikost tumoru, jeho lokalizace a přítomnost velkých cév v jeho okolí. S rostoucím věkem se zkracuje OS, přičemž jako hraniční se nejčastěji uvádí věk 65 let. Jako mezní velikost nádoru s lepší prognózou po TA je literárně uváděna hodnota 30 nebo 50 mm [8]. Negativním prediktivním faktorem pro lokální recidivu je větší velikost ablované léze (> 2 cm), blízkost tumoru k cévám velikosti ≥ 3 mm, blízkost bránice a horší diferenciace tumoru [9]. Klíčovým pro predikci lokální recidivy je pak parametr širě bezpečnostního lemu ablace. Je-li minimální bezpečnostní lem větší než 4–5 mm, míra lokální recidivy u HCC o velikosti < 5 cm je obvykle < 5 % [10]. U vzdálené intrahepatální recidivy se za negativní prognostický faktor považuje zejména počet lézí před ablací (> 2) [11]. Právě lokální či vzdálená recidiva je přitom stran prognózy dlouhodobého přežití po TA nepříznivým faktorem. Při dlouhodobém sledování (5–10 let) pacientů po TA pomocí radiofrekvenční katórové ablace (RFA) někteří autoři zaznamenali intrahepatální recidivu až v 60 % případů; u pacientů s HCC podstupujících MWA je to v rozmezí 5–19 % [12].

U pacientů s HCC indikovaných k TACE jsou hlavními nesérovými prognostickými faktory komorbidita pacienta, velikost největšího ložiska (< či > 7 cm), přítomnost trombózy portální žíly, uni-lobární nebo bilobární postižení, přítomnost arteriovenózních zkratů či Child-Pugh skóre B při chronickém onemocnění jater [13,14]. Mezi prediktivní faktor ovlivňující OS pacientů podstupujících TACE je možné zařadit velikost systolické se – viabilní – části tumoru po sérii výkonů. Každých 10 ml objemu viabilního rezidua léze znamená vyšší riziko úmrtí o 20 % [15]. Mezi další faktory ovlivňující OS po TACE se řadí i míra tolerance nádoru k ischemickému stresu a citlivosti na chemoterapeutikum. Potenciálními faktory ovlivňujícími recidivu HCC po kompletní odpovědi na léčbu je věk > 60 let či distribuce chemoembolizačních částic. Pokud je akumulace částic v tumoru a okolní tkáni heterogenní, dochází k vyšší míře lokální recidivy [16].

Molekulární prognostické a prediktivní faktory

Biomarkery séra představují relativně snadný a neinvazivní způsob detekce nádoru, odhadu prognózy onemocnění a predikci úspěšnosti jeho léčby. Navzdory četným snahám najít molekuly jako možné biomarkery pro HCC zatím neexistuje ideální marker. Mnoho nových poznatků však ukázalo slibné využití sérových biomarkerů jak v diagnostice, tak v léčbě HCC. Podobně jako u resekce a transplantace jater, samotná léčba miniinvazivními radiologickými metodami narušuje integritu organismu, zákroky jsou navíc spojeny s reakcí organismu na hypoxický a termální inzulz a vedou k uvolňování biomolekul do systémového oběhu. Vědomost o dynamice biomarkerů po intervenčních metodách a správné načasování jejich hodnocení se tak zdá být velmi důležité.

Alfa-fetoprotein

Mezi nejčastějšími biomarkery pro tyto účely je ve studiích zmiňován alfa-fetoprotein (AFP). Jedná se o glykoprotein tvořený fyziologicky v játrech lidského plodu. Po narození jeho hladina v krvi klesá. V dospělosti může být produkován některými nádory vč. HCC. Variabilní je jeho sekrece i v různých populacích pacientů a jeho sérová hladina bývá zvýšena také při cirhóze jater, hepatitidě či chronickém renálním selhání. Mnoho studií se zabývalo možnostmi využití AFP pro diagnostiku a screening HCC, nicméně zejména u rizikových pacientů s jaterní cirhózou zůstává problémem značně nízká senzitivita a specifita [17]. U pacientů s cirhózou se stanovenou hraniční hodnotou 20 $\mu\text{g/l}$ je jeho senzitivita 60 % a specifita 90 % [18]. Od 80. let byly proto zkoumány nové sérové biomarkery specifické pro HCC a jedním z nejnadějnějších markerů se stala specifitější izoforma AFP – tzv. Lens culinaris aglutinin (AFP-L3), u kterého se později prokázal i potenciál pro monitoraci odpovědi terapie.

AFP u pacientů s HCC podstupujících termální ablací

Bylo zjištěno, že hladiny AFP, AFP-L3 jsou po 1 měsíci od RFA výrazněji nižší oproti

hladinám před výkonem, což nasvědčuje, že tyto biomarkery mohou odrážet rozsah nádorového onemocnění a efekt RFA. Navíc zvýšené hladiny AFP po 1 měsíci po RFA korelují se zvýšenou mírou recidivy oproti pacientům, jejichž hladiny AFP byly v normě [18]. Studie zabývající se přesností nádorových markerů pro predikci recidivy HCC po RFA uvádějí, že hladiny AFP > 100 $\mu\text{g/l}$ a AFP-L3 > 15 % před i po ablací jsou významnými prediktory recidivy [19]. Další autoři potvrdili signifikantní rozdíl míry přežití u pacientů se zvýšenými hladinami AFP-L3 před ablací. U méně specifického markeru AFP nebyly tyto závěry potvrzeny [20].

AFP u pacientů s HCC podstupujících TACE

V dostupné literatuře se uvádí, že nízké hodnoty sérového AFP po 24 hodinách od výkonu (pokles o > 50 % výchozí hodnoty) jsou silným nezávislým prediktivním faktorem OS. Obdobně také snížení hladiny AFP (> 50 % hladiny před výkonem) po 3–4 týdnech od posledního plánovaného výkonu je prediktivním faktorem pro OS (34,9 vs. 13,2 měsíce) [21]. Navíc pacienti, u kterých nedošlo k významnému poklesu hladin AFP po TACE, mají až 4násobně vyšší riziko progresse onemocnění [22].

Hladina AFP-L3 je považována za negativní prognostický faktor u pacientů podstupujících TACE a pokles tohoto markeru (≥ 20 % původní hodnoty po dvou TACE cyklech) je nezávislým ukazatelem dobrého OS [23].

γ -glutamyltranspeptidáza

γ -glutamyltranspeptidáza (GGT) je známým enzymem zprostředkujícím transpeptidaci a hydrolyzu glutationu, má ale také důležitou úlohu v zánětlivých a nádorových procesech a bývá označován za biomarker oxidačního stresu jaterních buněk [24].

GGT u pacientů s HCC podstupujících termální ablací

Udává se, že enzymatická aktivita GGT před ablací je nezávislým prognostickým faktorem OS a přežití bez známek recidivy. Jednoleté, dvouleté a tříleté OS pro pacienty s vysokými vs. normálními aktivitami GGT (hraniční

hodnota 1,25 $\mu\text{kat/l}$) byly 87 vs. 96 %, 76 vs. 90 % a 66 vs. 84 %. Obdobné výsledky byly zjištěny i pro přežití bez recidivy [25].

GGT u pacientů s HCC podstupujících TACE

Přestože enzym GGT není specifickým nádorovým markerem, byla zjištěna asociace mezi aktivitou tohoto enzymu před embolizací a délkou přežití pacientů. Pacienti se zvýšenou aktivitou GGT nad 2,75 $\mu\text{kat/l}$ před embolizací měli významně kratší dobu do selhání léčby a zvýšená aktivita GGT souvisí s kratším OS [26]. Obdobně recentní studie identifikovala hladinu GGT jako nezávislý prognostický faktor pro celkové přežití u pacientů s pokročilými stadii HCC podstupujících TACE. Pacienti s nižšími výchozími hodnotami GGT ($< 2 \mu\text{kat/l}$ u žen a $< 2,9 \mu\text{kat/l}$ u mužů) měli medián přežití 13,8 měsíce oproti 7,2 měsíce u pacientů s hodnotami vyššími [27].

Des- γ -karboxyprotrombin (DCP)

Des- γ -karboxyprotrombin (DCP) známý také jako tzv. prothrombin induced by vitamin K absence-II (PIVKA II) je nefunkční prekurzor protrombinu. Jedná se o typ vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (vascular endothelial growth factor – VEGF), který má mitogenní a migrační vliv, stimuluje proliferaci buněk HCC aktivací signální dráhy Met-JAK1-STAT3 [28]. Korelace mezi hladinami DCP a HCC byla poprvé popsána v roce 1984 [29]. Od té doby mnoho studií prokázalo, že DCP je diagnostickým a prognostickým nádorovým markerem pro HCC, a v poslední době se objevují nadějně výsledky s možnostmi jeho využití jako biomarkeru predikce účinnosti termální ablace a TACE u pacientů s HCC.

DCP u pacientů s HCC podstupujících termální ablaci

Několik studií potvrdilo asociaci mezi hladinou DCP a progresí nádorového onemocnění HCC, rozměrem samotného ložiska a invazí tumoru do portální žíly [30]. Uvádí se, že míra přežití je významně nižší u pacientů se zvýšenými postablačními sérovými hladinami DCP

($> 40 \text{ mAU/ml}$), a DCP je tak významným nezávislým prediktorem pro OS. Navíc sérové hladiny DCP korelují s biologickou agresivitou HCC [31]. Bylo prokázáno, že vysoká hladina DCP po ablaci ($\geq 100 \text{ mAU/ml}$) je rizikovým faktorem mortality a recidivy [32]. Na rozdíl od AFP je u DPC výhodou jeho vysoká specifita a senzitivita pro HCC, a to zejména u pacientů s časnými stadii onemocnění [33]. Určitou nevýhodou DCP jsou zvýšené sérové hladiny u pacientů s déletrvajícím obstrukčním ikterem, při nedostatku vitamínu K nebo u pacientů užívajících antagonisty vitamínu K.

DCP u pacientů s HCC podstupujících TACE

Pacienti s nízkou hladinou DCP před TACE ($< 150 \text{ mAU/ml}$) vykazují lepší přežití, nízké hladiny jsou nezávislým prognostickým faktorem lepšího OS [34]. Podle tří studií s téměř 550 pacienty byla prokázána souvislost mezi hladinami DCP po TACE a OS (HR 0,39; 95 % CI 0,215–0,697), doba přežití ve skupině s DCP odpovědí (snížení hladiny $> 50 \%$) byla delší než ve skupině bez DCP odpovědi (medián 26,7 vs. 9,3 měsíce) [21,35,36].

Zánětlivé markery

Je známo, že systémová zánětlivá odpověď hraje klíčovou úlohu ve vývoji a progresi nádoru, a existuje stále více důkazů, že systémový zánět koreluje s přežitím a prognózou onkologických pacientů [37]. C-reaktivní protein (CRP) je hepatocyty syntetizovaný marker, který má důležitou roli v zánětlivých procesech, apoptóze, fagocytóze, v produkci cytokinů (zejména interleukinu 6 (IL-6) a tumor nekrotizujícího faktoru alfa) a v onkogenezi. Pacienti s HCC s nealkoholickou steatózou jater a hodnotami CRP $\geq 5 \text{ mg/l}$ mají významně kratší OS ($p = 0,012$) [38]. Významným parametrem odrážejícím rovnováhu mezi systémovým zánětem a adaptivní imunitou je poměr lymfocytů a neutrofilů (neutrophil to lymphocyte ratio – NLR). Ukázalo se, že onkologičtí pacienti s vyšším NLR (související se zánětlivými procesy a špatnou imunitní funkcí pacienta) mají horší prognózu z hlediska OS. Některé zánětlivé indikátory (CRP, IL-6) vč. poměru NLR se ukázaly

také jako biomarkery vhodné pro hodnocení predikce OS po intervenčních metodách.

Zánětlivé markery u pacientů s HCC podstupujících termální ablaci

Kromě lokálních účinků TA na destrukci tumoru jsou popisovány i necílené vedlejší systémové účinky vč. upregulace zánětlivých buněk a látek, a to jak přímo v játrech (zejména ve tkáni v těsném okolí koagulační nekrózy), tak i v séru [39]. Prokázalo se, že vysoké hladiny ($> 0,08 \text{ mg/dl}$) před výkonem vysoce specifického CRP (high sensitivity CRP – hsCRP) jsou významným prognostickým faktorem OS (HR 1,59) a prediktivním faktorem pro recidivu (HR 1,32) u pacientů s počátečním stadiem HCC [40]. Rovněž nízké počáteční hladiny IL-6 ($\leq 33 \text{ pg/ml}$) jsou nezávislým rizikovým faktorem pro recidivu HCC (HR 5,4), nicméně asociace s kratším přežitím bez nemoci a OS nebyla potvrzena [41]. U pacientů s nízkou hodnotou NLR ($< 2,5$) před výkonem je dokumentováno významně vyšší OS oproti pacientům s poměrem $> 2,5$ (38,1 vs. 33 měsíce) [42]. Navíc i vysoká hodnota NLR po termální ablaci je nezávislým prediktivním faktorem horšího OS a také rizikovým faktorem relapsu [43].

Zánětlivé markery u pacientů s HCC podstupujících TACE

Pacienti s trvale normálním či se zlepšeným poměrem NLR (po 6 týdnech od TACE) mají výrazně lepší medián OS oproti non-respondentům (36,7 vs. 10,6 měsíce) a podle multivariantní analýzy je NLR odpověď nezávislým prediktivním faktorem OS [44]. Již dříve bylo prokázáno, že sérové hladiny CRP mohou být použity jako potenciální prognostické sérové markery u pacientů s HCC léčených TACE. Studie uvádí, že vysoké hladiny CRP před TACE ($> 10 \text{ mg/l}$) jsou nezávislými rizikovými faktory pro kratší přežití bez progresse onemocnění, a naznačily, že vysoké sérové hladiny CRP mohou sloužit jako indikátor agresivního potenciálu nádoru a jeho horší prognózy u pacientů s tumory o velikosti $> 5 \text{ cm}$ [45]. Sérové hladiny IL-6 a IL-8 před výkonem rovněž predikují pacientovu lokální nádoro-

vou odpověď po TACE a jsou také ukazatelem prognózy OS. Pacienti s vysokými hladinami IL-6 (> 13,5 pg/ml) a IL-8 (> 36,4 pg/ml) vykazují po TACE až 3× kratší OS [46].

VEGF

HCC se řadí mezi hypervaskularizované nádory a bylo u něj identifikováno několik deregulovaných signálních drah spojených s angiogenezí vč. dráhy VEGF [47]. VEGF je silný angiogenní cytokin, který indukuje proliferaci nádorových buněk a angiogenezi. Je známo, že sérové hladiny VEGF jsou u pacientů s HCC zvýšené, a byla prokázána asociace s rychlostí progresse onemocnění a také s OS.

VEGF u pacientů s HCC podstupujících TACE

Chemoembolizací navozená hypoxie vede nejen k destrukci nádorových buněk, ale v první fázi především indukuje tvorbu a uvolnění angiogenních faktorů vč. VEGF.

Několik studií prokázalo statisticky nižší hladiny VEGF po TACE u pacientů s delším OS, zatímco u pacientů se zvýšenými hladinami VEGF i po 7 dnech od výkonu byla pozorována progresse onemocnění. Obdobné výsledky byly publikovány i pro hladiny HIF-1 α , což je pochopitelné vzhledem k přímé regulaci exprese VEGF tímto faktorem. Pacienti s nižšími hladinami HIF-1 α vykazují vyšší podíl kompletní odpovědi po TACE [48].

mikroRNA (miRNA)

Jedná se o krátké nekódující RNA, které posttranskripčně regulují genovou expresi vazbou na specifické mediátorové RNA, čímž dochází k jejich degradaci nebo inhibici translace v protein. Tímto způsobem miRNA regulují jak fyziologické, tak i patologické procesy v jaterní tkáni, přičemž některé z nich jsou důležitým článkem v kancerogenezi HCC. Jedná se zejména o ovlivnění procesu buněčné migrace a invazivity, apoptózy, buněčného dělení, proliferace nebo metastazování. U HCC je např. známa upregulace miR-21, miR-25, miR-32, miR-155-5p, miR-210, miR-221 a tyto miRNA jsou tedy považovány za protoonkogeny. Snížená exprese je naopak popsána u nádorových supresorů miR-29a, miR-31, miR-33, miR-122, miR-126, miR-142,

miR-152, miR-194, miR-200a, miR-320a, miR-451 a miR-1301 [49].

Nádorový supresor miR-122 je hepatospecifický, tvoří až 70 % celkového množství jaterních miRNA a hraje důležitou úlohu v homeostáze a hepatokarcinogenezi [50,51]. Snížená exprese miR-122 a zvýšená exprese jejích cílových genů je pozorována u HCC ve srovnání s nenádorovou jaterní tkání, kde je spojena s hepatokarcinogenezí, metastázami, špatnou prognózou a sníženou odpovědí na chemoterapii. Na hepatokarcinogenezi se podílí více genů, na které cílí miR-122, vč. onkogenů cyklinu G1, rodiny dezintegrinů a matrixové metaloproteinázy 10 (ADAM10), sérum response faktoru (SRF), insulin-like růstového faktoru 1 (IGF-1R) a dalších [52]. Významným nádorovým supresorem je i miR-34a, která je přímým cílem proteinu p53 a indukuje apoptózu a zástavu buněčného cyklu. Její snížená exprese je známá u různých typů nádorů vč. HCC [53]. Dalším nádorovým supresorem je miR-26a, která ovlivňuje angiogenezi vazbou na gen pro růstový faktor hepatocytů (dráha c-Met), a tím inhibuje vývoj HCC. MiR-200a hraje klíčovou úlohu v epiteliálně-mezenchymální transkripci represí klíčových transkripčních faktorů (ZEB1, ZEB2), regulací signalizace β -kateninové dráhy a ovlivněním receptoru pro endoteliální růstový faktor [54]. MiR-21 a miR-210 jsou protoonkogeny, které regulují angiogenezi zejména prostřednictvím VEGF [54].

miRNA u pacientů s HCC podstupujících termální ablací

Pacienti léčení RFA s vysokou předablační plazmatickou hladinou miR-122 mají signifikantně nižší OS než pacienti s nízkou hladinou, a miR-122 je tedy nezávislým negativním prognostickým faktorem pro předpověď OS [55]. Uvádí se, že pacienti s nízkou expresí miR-34a mají vyšší pravděpodobnost recidivy onemocnění po RFA až o téměř 30 % [56]. Další studie uvádí, že snížené sérové hladiny miR-26a před ablací HCC jsou nezávislým negativním rizikovým faktorem pro přežití bez nemoci. Obdobná zjištění byla pozorována u tumorsupresoru miR-29a [57]. Nárůst koncentrace miR-210 a miR-200a v krevní

plazmě ihned po ablací byl asociovaný s nádorovou progresí do 3 měsíců po výkonu (při 100% specifitě a téměř 60% senzitivitě) [58].

miRNA u pacientů s HCC podstupujících TACE

Zvýšené hladiny miR-200a před výkonem vystupují jako nezávislý prognostický faktor spojený s přežitím [59]. Podobně zvýšená hladina miR-210 před výkonem významně koreluje s kratším OS a pacienti s odpovědí po léčbě TACE měli 2× vyšší sérové hladiny miR-210 než pacienti bez odpovědi [60]. U pacientů s HCC léčených TACE má procedura přímý vliv na změny sérových hladin na hypoxii závislých miRNA [61]. V nedávné studii bylo zveřejněno, že pacienti s vyššími změnami miR-21 naměřenými před zákrokem a po něm měli významně kratší přežití bez progresse onemocnění (5,6 vs. 1,4 měsíce) [62].

Závěr

I přes dominantní užití klasických parametrů pro hodnocení prognózy a predikce léčebné odpovědi u pacienta s HCC léčeného radiologickými intervenčními metodami v posledním desetiletí sledujeme významný posun zájmu ve výzkumu moderních molekulárních markerů. Vzhledem k prokázané vazbě jednotlivých markerů na OS či recidivu onemocnění má smysl hledat souvislosti mezi jednotlivými molekulárními markery, charakterem onemocnění, imunitní a zánětlivou reakcí člověka na nádor a na samotnou léčbu.

V současnosti se častěji využívají např. biomarkery genetické (mutace DNA), hladiny mikroRNA nebo přítomnost nádorových buněk v krvi v molekulární diagnostice chronické myeloidní leukemie, nádorů tlustého střeva, prsu, plic nebo melanomu [63].

U HCC je užití sérových biomarkerů velmi omezené, nedostatečné využití je zejména pro stratifikaci rizika a časnou detekci HCC, predikci prognózy a pro předpověď odpovědi na léčbu. Rutinně užívaným biomarkerem pro zhodnocení prognózy onemocnění je pouze AFP. Přesto se objevují studie poukazující na nové sérové biomarkery, které mají potenciál pomoci v budoucnu kla-

Tab. 1. Přehled prognostických faktorů celkového přežití u pacientů s hepatocelulárním karcinomem podstupujících radiologické onkologické intervence.

	Prognostické faktory pro termální ablaci	Prognostické faktory pro transarteriální chemoembolizaci
Věk, velikost ložiska, počet lézí vzhledem k celkovému přežití [8–10,13,14,16]	+	+
Trombóza portální žíly, atriovenózní zkraty [13,14]		+
Velikost ložiska vzhledem k lokální recidivě, šíře bezpečnostního lemu, objem ložiska, objem viabilní části ložiska po léčbě [8,9,12,14,15]	+	+
AFP-L3 [20,23]	+	+
GGT [25–27]	+	+
DCP [30,34]	+	+
CRP, hsCRP [40,45]	+	+
NLR [42]	+	
IL-6, IL-8 [46]		+
mikroRNA [55,57,59,60,62]	+	+

AFP-L3 – Lens culinaris aglutinin, CRP – C-reaktivní protein, hsCRP – high sensitivity CRP, DCP – des-γ-karboxyprotrombin, GGT – gama-glutamyltransferáza, NLR – poměr lymfocytů a neutrofilů, IL – interleukin

Tab. 2. Přehled prediktivních faktorů celkového přežití a recidivy onemocnění u pacientů s hepatocelulárním karcinomem podstupujících radiologické onkologické intervence.

	Prediktivní faktory pro termální ablaci	Prediktivní faktory pro transarteriální chemoembolizaci
Věk, velikost ložiska, počet lézí vzhledem k celkovému přežití [9]	+	
Trombóza portální žíly, AV zkraty [12]		
Velikost ložiska vzhledem k lokální recidivě, šíře bezpečnostního lemu, objem ložiska, objem viabilní části ložiska po léčbě [9,10,15]	+	+
AFP [18,19,21,22]	+	+
AFP-L3 [19,23]	+	+
DCP [21,31,32,35,36]	+	+
hsCRP [40]	+	
NLR [43,44]	+	+
IL-6 [41]	+	
mikroRNA [56,58,62]	+	+
VEGF [48]		+

AFP – alfa-fetoprotein, AFP-L3 – Lens culinaris aglutinin, CRP – C-reaktivní protein, hsCRP – high sensitivity CRP, DCP – des-γ-karboxyprotrombin, GGT – gama-glutamyltransferáza, NLR – poměr lymfocytů a neutrofilů, IL – interleukin, VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor

sickým markerům a zobrazovacím metodám (tab. 1,2). Díky těmto sérovým molekulárním biomarkerům bude prav-

děpodobně více pacientů detekovaných v časných stádiích HCC a bude zlepšena personalizace léčby, která by mohla vést

k ještě lepším výsledkům terapie. Personalizace léčby by mohla mimo jiné optimalizovat lékařské intervence (volbu

metody terapie, načasování léčby) nebo změnit management sledování pacientů po intervenčních výkonech (intenzifikovat kontrolní vyšetření u rizikových skupin nebo i individualizovat časové intervaly kontrol). Ačkoli několik biomarkerů ukázalo slibné výsledky ve studiích fáze II, většina sérových biomarkerů stále vyžaduje ověření ve velkých studiích fáze III. Spolu s precizním hodnocením radiologických studií sleduje využití sérových biomarkerů společný cíl – efektivnější a kvalitnější péči o onkologického pacienta.

Limitace

Autoři jsou si vědomi omezeného srovnávání výsledků jednotlivých studií s nehomogenními skupinami pacientů s různými velikostmi a stadii nádorů, s rozdílnými typy použitých embolizačních činidel (degradabilní a nedegradabilní částice s různými velikostmi DCB) či technikami ablačních metod.

Podporující agentury a sponzoři

Tato publikace vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu Význam radiologických intervencí a pokročilých zobrazovacích metod v diagnostice a léčbě pacientů s maligním onemocněním (MUNI/A/1388/2021) financovaného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, které poskytl MŠMT v roce 2022.

Literatura

- Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19(3): 329–338. doi: 10.1055/s-2007-1007122.
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2018; 69(1): 182–236. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.019.
- Zhu F, Rhim H. Thermal ablation for hepatocellular carcinoma: what's new in 2019. *Chin Clin Oncol* 2019; 8(6): 58. doi: 10.21037/cco.2019.11.03.
- Reig M, Forner A, Rimola J et al. BCLC strategy for prognosis prediction and treatment recommendation: the 2022 update. *J Hepatol* 2022; 76(3): 681–693. doi: 10.1016/j.jhep.2021.11.018.
- Brace C. Thermal tumor ablation in clinical use. *IEEE Pulse* 2011; 2(5): 28–38. doi: 10.1109/MPUL.2011.942603.
- Varela M, Real MI, Burrell M et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. *J Hepatol* 2007; 46(3): 474–481. doi: 10.1016/j.jhep.2006.10.020.
- Rohan T, Husty J, Andrasina T et al. DSM (degradable starch microspheres) – embolization material expanding the possibilities of transarterial chemoembolisation of the liver. *Ces Radiol* 2020; 74(2): 108–113.
- Lu Z, Sun Z, Liu C et al. Prognostic nomogram for hepatocellular carcinoma with radiofrequency ablation: a retrospective cohort study. *BMC Cancer* 2021; 21(1): 751. doi: 10.1186/s12885-021-08505-0.
- Komorizono Y, Oketani M, Sako K et al. Risk factors for local recurrence of small hepatocellular carcinoma tumors after a single session, single application of percutaneous radiofrequency ablation. *Cancer* 2003; 97(5): 1253–1262. doi: 10.1002/cncr.11168.
- Cho YK, Rhim H, Noh S. Radiofrequency ablation versus surgical resection as primary treatment of hepatocellular carcinoma meeting the Milan criteria: a systematic

review. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26(9): 1354–1360. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06812.x.

- Kim JS, Kim W, So YH et al. Topographical impact of hepatitis B-related hepatocellular carcinoma on local recurrence after radiofrequency ablation. *J Clin Gastroenterol* 2014; 48(1): 66–72. doi: 10.1097/MCG.0b013e318294521f.
- Izzo F, Granata V, Grassi R et al. Radiofrequency ablation and microwave ablation in liver tumors: an update. *Oncologist* 2019; 24(10): e990–e1005. doi: 10.1634/theoncologist.2018-0337.
- Rohan T, Uher M, Matkulčík P et al. Prognostic survival factors of hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization. *Klin Onkol* 2020; 33(3): 214–219. doi: 10.14735/amko2020214.
- Kadalayil L, Benini R, Pallan L et al. A simple prognostic scoring system for patients receiving transarterial embolisation for hepatocellular cancer. *Ann Oncol* 2013; 24(10): 2565–2570. doi: 10.1093/annonc/mdt247.
- Staňková M, Andrasina T, Sedmík J et al. Přežívání pacientů s hepatocelulárním karcinomem léčených transarteriální chemoembolizací s drug-eluting beads. *Ces Radiol* 2015; 69(2): 106–115.
- Colecchia A, Schiumerini R, Cucchetti A et al. Prognostic factors for hepatocellular carcinoma recurrence. *World J Gastroenterol* 2014; 20(20): 5935–5950. doi: 10.3748/wjg.v20.i20.5935.
- Abu El Makarem M. An overview of biomarkers for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Hepat Mon* 2012; 12(10 HCC): e6122. doi: 10.5812/hepatmon.6122.
- Wang N-Y, Wang C, Li W et al. Prognostic value of serum AFP, AFP-L3, and GP73 in monitoring short-term treatment response and recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(4): 1539–1544. doi: 10.7314/apjcp.2014.15.4.1539.
- Tateishi R, Shiina S, Yoshida H et al. Prediction of recurrence of hepatocellular carcinoma after curative ablation using three tumor markers. *Hepatology* 2006; 44(6): 1518–1527. doi: 10.1002/hep.21408.
- Toyoda H, Kumada T, Kaneoka Y et al. Prognostic value of pretreatment levels of tumor markers for hepatocellular carcinoma on survival after curative treatment of patients with HCC. *J Hepatol* 2008; 49(2): 223–232. doi: 10.1016/j.jhep.2008.04.013.
- Lee YK, Kim SU, Kim DY et al. Prognostic value of α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin responses in patients with hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization. *BMC Cancer* 2013; 13: 5. doi: 10.1186/1471-2407-13-5.
- Riaz A, Ryu RK, Kulik LM et al. Alpha-fetoprotein response after locoregional therapy for hepatocellular carcinoma: oncologic marker of radiologic response, progression, and survival. *J Clin Oncol* 2009; 27(34): 5734–5742. doi: 10.1200/JCO.2009.23.1282.
- Huang C, Sheng S, Sun X et al. Lens culinaris agglutinin-reactive α -fetoprotein decline after transcatheter arterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma predicts survival. *Clin Chim Acta* 2014; 431: 232–238. doi: 10.1016/j.cca.2014.02.009.
- Zhang J-B, Chen Y, Zhang B et al. Prognostic significance of serum gamma-glutamyl transferase in patients with intermediate hepatocellular carcinoma treated with transcatheter arterial chemoembolization. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23(9): 787–793. doi: 10.1097/MEG.0b013e32834902dd.
- Ma H, Zhang L, Tang B et al. γ -Glutamyltranspeptidase is a prognostic marker of survival and recurrence in radiofrequency-ablation treatment of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2014; 21(9): 3084–3089. doi: 10.1245/s10434-014-3724-4.
- Guiu B, Deschamps F, Boulin M et al. Serum gamma-glutamyl-transferase independently predicts outcome after transarterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: external validation. *Cardiovasc Intervent Ra-*

diol 2012; 35(5): 1102–1108. doi: 10.1007/s00270-011-0293-9.

- Guo J, Liu S, Gao S et al. γ -Glutamyltranspeptidase as a prognostic biomarker in advanced hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization. *J Vasc Interv Radiol* 2021; 32(3): 419–428.e2. doi: 10.1016/j.jvir.2020.07.020.
- Zhang Y-S, Chu J-H, Cui S-X et al. Des- γ -carboxy prothrombin (DCP) as a potential autologous growth factor for the development of hepatocellular carcinoma. *Cell Physiol Biochem* 2014; 34(3): 903–915. doi: 10.1159/000366308.
- Liebman HA, Furie BC, Tong MJ et al. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1984; 310(22): 1427–1431. doi: 10.1056/NEJM198405313102204.
- Koike Y, Shiratori Y, Sato S et al. Des-gamma-carboxy prothrombin as a useful predisposing factor for the development of portal venous invasion in patients with hepatocellular carcinoma: a prospective analysis of 227 patients. *Cancer* 2001; 91(3): 561–569. doi: 10.1002/1097-0142(200102019)91:3<561::aid-cncr1035>3.0.co;2-n.
- Lee S, Rhim H, Kim Y et al. Post-ablation des-gamma-carboxy prothrombin level predicts prognosis in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2016; 36(4): 580–587. doi: 10.1111/liv.12991.
- Takahashi S, Kudo M, Chung H et al. PIVKA-II is the best prognostic predictor in patients with hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation therapy. *Oncology* 2008; 75 (Suppl 1): 91–98. doi: 10.1159/000173429.
- Li B, Li B, Guo T et al. Artificial neural network models for early diagnosis of hepatocellular carcinoma using serum levels of α -fetoprotein, α -fetoprotein-L3, des- γ -carboxy prothrombin, and Golgi protein 73. *Oncotarget* 2017; 8(46): 80521–80530. doi: 10.18632/oncotarget.19298.
- Kimura H, Ohkawa K, Miyazaki M et al. Subclassification of patients with intermediate-stage (Barcelona Clinic Liver Cancer stage-B) hepatocellular carcinoma using the up-to-seven criteria and serum tumor markers. *Hepatol Int* 2017; 11(1): 105–114. doi: 10.1007/s12072-016-9771-0.
- Saeki I, Yamasaki T, Tanabe N et al. A new therapeutic assessment score for advanced hepatocellular carcinoma patients receiving hepatic arterial infusion chemotherapy. *PLoS One* 2015; 10(5): e0126649. doi: 10.1371/journal.pone.0126649.
- Park W-H, Shim J-H, Han S-B et al. Clinical utility of des- γ -carboxyprothrombin kinetics as a complement to radiologic response in patients with hepatocellular carcinoma undergoing transarterial chemoembolization. *J Vasc Interv Radiol* 2012; 23(7): 927–936. doi: 10.1016/j.jvir.2012.04.021.
- Lucatelli P, Burrell M, Guiu B et al. CIRSE standards of practice on hepatic transarterial chemoembolisation. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2021; 44(12): 1851–1867. doi: 10.1007/s00270-021-02968-1.
- Safcak D, Drazilova S, Gazda J et al. Nonalcoholic fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma: clinical patterns, outcomes, and prognostic factors for overall survival – a retrospective analysis of a Slovak cohort. *J Clin Med* 2021; 10(14): 3186. doi: 10.3390/jcm10143186.
- Ahmed M, Kumar G, Gourevitch S et al. Radiofrequency ablation (RFA)-induced systemic tumor growth can be reduced by suppression of resultant heat shock proteins. *Int J Hyperthermia* 2018; 34(7): 934–942. doi: 10.1080/02656736.2018.1462535.
- Fujiwara N, Tateishi R, Nakagawa H et al. Slight elevation of high-sensitivity C-reactive protein to predict recurrence and survival in patients with early stage hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2015; 45(6): 645–655. doi: 10.1111/hepr.12398.
- Cho HJ, Kim SS, Ahn SJ et al. Low serum interleukin-6 levels as a predictive marker of recurrence in patients with hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma.

- noma who underwent curative treatment. *Cytokine* 2015; 73(2): 245–252. doi: 10.1016/j.cyto.2015.02.027.
42. Chu MO, Shen C-H, Chang T-S et al. Pretreatment inflammation-based markers predict survival outcomes in patients with early stage hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. *Sci Rep* 2018; 8(1): 16611. doi: 10.1038/s41598-018-34543-z.
43. Chen T-M, Lin C-C, Huang P-T et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio associated with mortality in early hepatocellular carcinoma patients after radiofrequency ablation. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27(3): 553–561. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06910.x.
44. Pinato DJ, Sharma R. An inflammation-based prognostic index predicts survival advantage after transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma. *Transl Res* 2012; 160(2): 146–152. doi: 10.1016/j.trsl.2012.01.011.
45. Jun CH, Ki HS, Lee KH et al. Impact of serum C-reactive protein level on the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma undergoing TACE. *Clin Mol Hepatol* 2013; 19(1): 70–77. doi: 10.3350/cmh.2013.19.1.70.
46. Loosen SH, Schulze-Hagen M, Leyh C et al. IL-6 and IL-8 serum levels predict tumor response and overall survival after TACE for primary and secondary hepatic malignancies. *Int J Mol Sci* 2018; 19(6): 1766. doi: 10.3390/ijms19061766.
47. Xiong XX, Qiu XY, Hu DX et al. Advances in hypoxia-mediated mechanisms in hepatocellular carcinoma. *Mol Pharmacol* 2017; 92(3): 246–255. doi: 10.1124/mol.116.107706.
48. Tampaki M, Doumba PP, Deutsch M et al. Circulating biomarkers of hepatocellular carcinoma response after locoregional treatments: new insights. *World J Hepatol* 2015; 7(14): 1834–1842. doi: 10.4254/wjh.v7.i14.1834.
49. Xu X, Tao Y, Shan L et al. The role of MicroRNAs in hepatocellular carcinoma. *J Cancer* 2018; 9(19): 3557–3569. doi: 10.7150/jca.26350.
50. Kutay H, Bai S, Datta J et al. Downregulation of miR-122 in the rodent and human hepatocellular carcinomas. *J Cell Biochem* 2006; 99(3): 671–678. doi: 10.1002/jcb.20982.
51. Coulouarn C, Factor VM, Andersen JB et al. Loss of miR-122 expression in liver cancer correlates with suppression of the hepatic phenotype and gain of metastatic properties. *Oncogene* 2009; 28(40): 3526–3536. doi: 10.1038/nc.2009.211.
52. Nakao K, Miyaaki H, Ichikawa T. Antitumor function of microRNA-122 against hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2014; 49(4): 589–593. doi: 10.1007/s00535-014-0932-4.
53. Dang Y, Luo D, Rong M et al. Underexpression of miR-34a in hepatocellular carcinoma and its contribution towards enhancement of proliferating inhibitory effects of agents targeting c-MET. *PLoS One* 2013; 8(4): e61054. doi: 10.1371/journal.pone.0061054.
54. Slabý O, Svoboda M. *MikroRNA v onkologii*. Praha: Galén 2012.
55. Cho HJ, Kim JK, Nam JS et al. High circulating microRNA-122 expression is a poor prognostic marker in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma who undergo radiofrequency ablation. *Clin Biochem* 2015; 48(16–17): 1073–1078. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2015.06.019.
56. Cui X, Wu Y, Wang Z et al. MicroRNA-34a expression is predictive of recurrence after radiofrequency ablation in early hepatocellular carcinoma. *Tumour Biol* 2015; 36(5): 3887–3893. doi: 10.1007/s13277-014-3031-5.
57. Cho HJ, Kim SS, Nam JS et al. Low levels of circulating microRNA-26a/29a as poor prognostic markers in patients with hepatocellular carcinoma who underwent curative treatment. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2017; 41(2): 181–189. doi: 10.1016/j.clinre.2016.09.011.
58. Andrasina T, Juracek J, Zavadil J et al. Thermal ablation and transarterial chemoembolization are characterized by changing dynamics of circulating microRNAs. *J Vasc Interv Radiol* 2021; 32(3): 403–411. doi: 10.1016/j.jvir.2020.10.024.
59. Liu M, Liu J, Wang L et al. Association of serum microRNA expression in hepatocellular carcinomas treated with transarterial chemoembolization and patient survival. *PLoS One* 2014; 9(10): e109347. doi: 10.1371/journal.pone.0109347.
60. Zhan M, Li Y, Hu B et al. Serum microRNA-210 as a predictive biomarker for treatment response and prognosis in patients with hepatocellular carcinoma undergoing transarterial chemoembolization. *J Vasc Interv Radiol* 2014; 25(8): 1279–1287.e1. doi: 10.1016/j.jvir.2014.04.013.
61. Zavadil J, Juráček J, Čechová B et al. Dynamic changes in circulating microRNA levels in liver cancer patients undergoing thermal ablation and transarterial chemoembolization. *Klin Onkol* 2019; 32 (Suppl 1): 164–166.
62. Pelizzaro F, Cardin R, Sartori A et al. Circulating microRNA-21 and microRNA-122 as prognostic biomarkers in hepatocellular carcinoma patients treated with transarterial chemoembolization. *Biomedicines* 2021; 9(8): 890. doi: 10.3390/biomedicines9080890.
63. Nalejska E, Mączczyńska E, Lewandowska MA. Prognostic and predictive biomarkers: tools in personalized oncology. *Mol Diagn Ther* 2014; 18(3): 273–284. doi: 10.1007/s40291-013-0077-9.