

Nghiên cứu mối liên quan giữa nồng độ alpha fetoprotein huyết thanh với một số đặc điểm khối u và giai đoạn bệnh ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)

Relationship between serum alpha fetoprotein with tumor characteristics and stage in patients with HBV-associated hepatocellular carcinoma

Lê Quang Nhựt*, Nguyễn Linh Toàn*,
Dương Quang Huy*, Đào Đức Tiến**

*Học viện Quân y,
**Bệnh viện Quân y 175

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá mối liên quan giữa nồng độ alpha fetoprotein (AFP) huyết thanh với một số đặc điểm khối u và giai đoạn bệnh ở bệnh nhân ung thư biểu mô (UTBM) tế bào gan nhiễm virus viêm gan B (HBV). **Đối tượng và phương pháp:** Mô tả cắt ngang 180 bệnh nhân UTBM tế bào gan có HBsAg (+) điều trị nội trú tại Bệnh viện Quân y 103. Định lượng nồng độ AFP huyết thanh theo phương pháp miễn dịch gắn enzyme. Xác định các đặc điểm khối u gan dựa trên các phương tiện chẩn đoán hình ảnh (siêu âm, chụp CT đa dãy, chụp hệ mạch gan). **Kết quả:** 65,5% bệnh nhân UTBM tế bào gan nhiễm HBV có tăng dấu ấn AFP huyết thanh và đa phần phát hiện ở giai đoạn trung gian (60,0%) và tiến triển (23,3%) với kích thước u ≥ 5 cm chiếm 79,8%, thể khối và nhân chiếm 66,1%, 19,4% bệnh nhân có tình trạng xâm lấn tĩnh mạch cửa (TMC). Nồng AFP huyết thanh tăng dần theo kích thước khối u và giai đoạn bệnh theo BCLC. **Kết luận:** Có mối liên quan giữa nồng độ AFP huyết thanh với kích thước khối u và giai đoạn bệnh theo phân loại BCLC.

Từ khóa: UTBM tế bào gan, AFP huyết thanh, nhiễm HBV.

Summary

Objective: To determine the relationship between serum alpha fetoprotein (AFP) with some tumor characteristics and stage in patients with hepatitis B virus (HBV) - associated hepatocellular carcinoma (HCC). **Subject and method:** The prospective, cross-sectional descriptive study carried out on 180 patients with HCC with HBsAg (+) in Digestive Department of 103 Military Hospital. Serum AFP concentration was determined by chemiluminescence immunoassay. Tumor characteristics was diagnosed on imaging studies. **Result:** In patients with HBV-associated HCC, the increase in serum AFP above 20ng/mL accounted for 65.5%, intermediate stage (60.0%), tumor size over 5cm (79.8%), nodular and massive form (66.1%) and portal vein thrombosis (19.4%). Serum AFP concentration was increased parallelly with tumor size and BCLC stage. **Conclusion:** There is the significant relationship between serum AFP with tumor size and Barcelona staging classification for HCC.

Keywords: Hepatocellular carcinoma, serum AFP, HBV infection.

Ngày nhận bài: 29/6/2020, ngày chấp nhận đăng: 09/7/2020

Người phản hồi: Đào Đức Tiến, Email: ddtien1101@gmail.com - Bệnh viện Quân y 175

1. Đặt vấn đề

Ung thư biểu mô (UTBM) tế bào gan là một trong những loại ung thư phổ biến nhất, đứng hàng thứ sáu vào năm 2018 trong tổng số các loại ung thư trên phạm vi toàn cầu và có tiên lượng xấu, tỷ lệ tử vong cao đứng hàng thứ tư [5]. Bệnh đang có xu hướng ngày càng gia tăng từ 2,6 lên 5,2/100.000 dân trong 20 năm trở lại đây (1995 – 2014) và dự báo tăng đến 22 triệu người trong 2 thập kỷ tới tính từ năm 2012 với chỉ 14 triệu người mắc UTBM tế bào gan [9]. Có nhiều yếu tố nguy cơ của UTBM tế bào gan, trong đó nhiễm virus viêm gan B (HBV) là một trong các yếu tố nguy cơ chính, đặc biệt Việt Nam nằm trong khu vực lưu hành dịch tễ nhiễm HBV cao nên UTBM tế bào gan đang là loại ung thư đứng hàng đầu về tỷ lệ mắc ở đây [5].

Hiện nay việc chẩn đoán UTBM tế bào gan đã có nhiều tiến bộ. Các khuyến cáo chẩn đoán của các Hiệp hội nghiên cứu bệnh gan trên thế giới cũng như của Bộ Y tế Việt Nam đều phối hợp giữa các dấu ấn sinh học (sử dụng nhiều nhất là dấu ấn alpha fetoprotein (AFP) huyết thanh) với đặc điểm khối u (hình ảnh tăng sinh mạch) và yếu tố nguy cơ như nhiễm HBV, HCV, xơ gan; sinh thiết hoặc chọc hút tế bào chỉ đặt ra cho các trường hợp không điển hình [4, 6, 9]. Tuy vậy, mối liên quan giữa dấu ấn sinh học AFP với đặc điểm u (kích thước, hình thái, mức tăng sinh mạch, xâm lấn mạch máu...) vẫn còn nhiều điểm chưa thống nhất, đặc biệt nghiên cứu trên đối tượng bệnh nhân UTBM tế bào gan nhiễm HBV còn ít. Vì vậy chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm mục tiêu: *“Đánh giá mối liên quan giữa nồng độ AFP huyết thanh với một số đặc điểm khối u và giai đoạn bệnh ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg (+)”*.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

180 bệnh nhân UTBM tế bào gan nhiễm HBV được chẩn đoán và điều trị lần đầu tại Khoa Nội Tiêu hóa - Bệnh viện Quân y 103, thời gian từ tháng 01 năm 2017 đến tháng 12 năm 2019. Chẩn đoán UTBM

tế bào gan theo hướng dẫn của Hội Nghiên cứu Bệnh gan Hoa Kỳ năm 2005 (AASLD) [6]:

Khối u gan kích thước > 2cm trên nền gan xơ (đo kích thước u trên siêu âm hoặc CT scanner ổ bụng).

Có hình ảnh tăng sinh mạch điển hình (trên CT scanner ổ bụng hoặc trên phim chụp động mạch gan) và/ hoặc AFP $\geq$ 200ng/mL.

Với những bệnh nhân có khối u gan nhưng không đáp ứng các tiêu chí trên sẽ được sinh thiết hoặc chọc hút tế bào để chẩn đoán xác định.

Xét nghiệm ELISA HBsAg (+).

Chúng tôi loại ra khỏi nhóm nghiên cứu những bệnh nhân UTBM tế bào gan có kèm theo các yếu tố nguy cơ khác như nhiễm HCV, lạm dụng rượu; bệnh nhân đã được can thiệp điều trị khối u gan; đang có biến chứng nặng như hôn mê gan, xuất huyết tiêu hóa, vỡ khối u gan...

2.2. Phương pháp

Nghiên cứu theo phương pháp mô tả, cắt ngang.

Tất cả các bệnh nhân chọn vào nghiên cứu được khám lâm sàng và chỉ định các xét nghiệm cận lâm sàng cần thiết để đánh giá chức năng gan, AFP, tình trạng tăng áp lực TMC và tình trạng khối u gan.

Định lượng nồng độ AFP huyết thanh theo phương pháp miễn dịch hóa phát quang trên máy DXI 800 (Beckman Coulter) tại Khoa Sinh hóa, Bệnh viện Quân y 103.

Xác định đặc điểm khối u gan trên siêu âm và CT scanner 3 thì, gồm: Vị trí, số lượng, kích thước khối u, hình thái khối u (thể khối, thể nhân và thể lan tỏa) [13].

Thể khối (1 khối u kích thước > 5cm, có thể kèm khối vệ tinh).

Thể nhân (gồm nhiều khối u với kích thước < 5cm).

Các khối u thường tăng sinh mạch rõ so với nhu mô gan lành, động mạch nuôi u giãn to, bao quanh khối u và cho các nhánh đi vào trung tâm khối; các nhánh động mạch nuôi gan lành bị chèn ép ra phía ngoài và giảm kích thước.

Thể lan tỏa: Cấu trúc cây động mạch gan vẫn giữ được dạng cơ bản nhưng động mạch nuôi u giãn to và tăng sinh hệ mao mạch khắp khu vực

gan ung thư, không có hiện tượng chèn đẩy mạch máu [13].

Đánh giá tình trạng xâm lấn TMC: Thực hiện trên siêu âm, CT scanner gan mật 3 thì. Những trường hợp chưa rõ sẽ bổ sung thêm chụp hệ TMC để chẩn đoán.

Hình ảnh huyết khối ung thư TMC trên siêu âm Doppler màu: Hình ảnh xuất hiện khối hồi âm trong lòng TMC (nhánh hoặc thân chính) và có tín hiệu dạng sóng động mạch trong huyết khối trên phổ Doppler.

Hình ảnh huyết khối ung thư TMC trên CT scanner gan 3 thì: Khối u gan nằm sát ngay nhánh TMC, xâm lấn rõ tạo huyết khối trong lòng TMC và sau tiêm thuốc cản quang có hình ảnh tăng tỷ trọng của huyết khối (mạch tân tạo trong huyết khối) [13].

Hình ảnh huyết khối TMC trên phim chụp mạch: Chụp hệ TMC qua chụp động mạch thân tạng hoặc chụp động mạch mạc treo tràng trên. Hình ảnh huyết khối TMC là phần TMC bị hẹp lòng hoặc bị cắt cụt hoàn toàn không thấy dòng chảy.

Phân mức độ huyết khối TMC theo Hội Nghiên cứu Ung thư gan Nhật Bản (2003) [11], bao gồm các mức độ: Vp0 (không có huyết khối trong lòng TMC), Vp1 (hiện diện huyết khối ở nhánh xa nhưng không xâm lấn đến nhánh TMC thứ hai), Vp2 (hiện diện huyết khối ở phân nhánh thứ hai của hệ TMC), Vp3 (hiện diện huyết khối ở nhánh thứ nhất của hệ TMC (nhánh của phải hoặc nhánh của trái)) và Vp4 (huyết khối ở thân chính của TMC và/hoặc nhánh TMC bàng hệ đến thùy gan có khối u).

Đánh giá giai đoạn UTBM tế bào gan trên 3 hệ thống phân chia giai đoạn:

Hệ thống đánh giá chức năng gan theo phân loại Child-Pugh (1973), bao gồm Child-Pugh A, Child-Pugh B, Child-Pugh C.

Hệ thống phân chia giai đoạn BCLC, gồm 5 giai đoạn: O, A, B, C, D [6, 9].

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và phân tích theo chương trình SPSS 20.0 với các thuật toán thống kê phù hợp.

3. Kết luận

Bảng 1. Đặc điểm chung nhóm nghiên cứu (n = 180)

Nam : Nữ		152/28
Lứa tuổi	< 40	40 (22,2%)
	41 - 60	104 (57,8%)
	> 60	36 (20,0%)
Tuổi trung bình (năm)		53,4 ± 14,6

Bệnh nhân nam chiếm đa số (152/180 = 84,4%), tỷ lệ nam:nữ là 5,4/1. Tuổi trung bình 53,4 ± 14,6 năm với lứa tuổi hay gặp nhất là 41 - 60 tuổi (chiếm 57,8%).

Bảng 2. Đặc điểm nồng độ AFP huyết thanh

Phân nhóm AFP (ng/mL)	Số BN (n = 180)	Tỷ lệ (%)
< 20	62	34,4
20 - 200	31	17,2
> 200	87	48,4
Giá trị trung bình	693,4 ± 1623,1	

65,6% bệnh nhân UTBM tế bào gan tăng AFP huyết thanh, trong đó tăng > 200ng/mL chiếm 48,4%.

Bảng 3. Đặc điểm khối u gan trên chẩn đoán hình ảnh

Đặc điểm khối u và mức độ xơ gan		Số bệnh nhân (n)	Tỷ lệ %
Vị trí u (n = 180)	Gan phải	116	64,4
	Gan trái	12	6,7
	Gan phải và trái	52	28,9
Hình thái u (n = 180)	Thể khối và nhân	119	66,1
	Thể lan tỏa	61	33,9
Kích thước u (với u thể khối) (n = 119)	< 5cm	24	20,2
	5 - 10cm	72	60,5
	> 10cm	23	19,3

Khối u gan chủ yếu nằm thùy phải (64,4%), thể khối và nhân (66,1%) và kích thước > 5cm (79,8%).

Bảng 4. Tỷ lệ và mức độ xâm lấn TMC ở bệnh nhân UBTG

Mức độ xâm lấn TMC	Số bệnh nhân (n)	Tỷ lệ %
Vp0	145	80,6
Vp1	12	11,1
Vp2	9	5,0
Vp3	8	4,4
Vp4	6	3,3

19,4% bệnh nhân có xâm lấn tĩnh mạch cửa ở các mức độ khác nhau.

Bảng 5. Giai đoạn UTBM tế bào gan theo các hệ thống phân chia giai đoạn

Giai đoạn		Số BN (n = 180)	Tỷ lệ (%)
Giai đoạn Child-Pugh	A	125	69,4
	B	46	25,6
	C	9	5,0
Giai đoạn BCLC	O	0	0,0
	A	18	10,0
	B	108	60,0
	C	42	23,3
	D	12	6,7

Chủ yếu bệnh nhân ở giai đoạn trung gian và tiến triển (60,0% và 23,3% theo thứ tự), không gặp giai đoạn rất sớm. Chức năng gan Child-Pugh A chiếm 69,4%.

Bảng 6. Mối liên quan giữa nồng độ AFP huyết thanh với một số đặc điểm khối u và giai đoạn bệnh UTBM tế bào gan

Đặc điểm và giai đoạn UTBM tế bào gan		AFP (ng/mL)	p
Hình thái u	Thể khối + nhân	192,4 (10,1 - 1660,0)	0,71
	Thể lan tỏa	347,8 (12,8 - 1233,0)	
Nhóm kích thước u (cm)	< 5	26,2 (6,5 - 705,4)	0,007
	5 - 10	237,6 (10,4 - 1660,0)	
	> 10	1000,0 (30,1 - 1660,0)	
Giai đoạn BCLC	A	35,3 (2,6 - 234,8)	0,009
	B	65,9 (7,8 - 1117,7)	
	C	652,8 (25,4 - 1660,0)	
	D	1660,0 (168,7 - 1860,2)	

Có mối liên quan có ý nghĩa giữa nồng độ AFP huyết thanh với kích thước khối u và giai đoạn bệnh theo BCLC ở bệnh nhân UTBM tế bào gan nhiễm HBV.

4. Bàn luận

4.1. Đặc điểm nồng độ AFP huyết thanh ở bệnh nhân UTBM tế bào gan nhiễm HBV

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ngưỡng AFP tăng > 20ng/mL (ngưỡng phân biệt với người trưởng thành khỏe mạnh) gặp ở 65,6% số các trường hợp, phù hợp với AFP tăng từ 50 - 80% bệnh nhân UTBM tế bào gan trong tổng quan phân tích hệ thống của Butterfield LH (2007) [7] cũng như phù hợp với kết quả của nhiều nghiên cứu trong nước khác như của Lê Văn Trường (2006) gặp AFP tăng ở 66,7% [3] hay nghiên cứu của Thái Doãn Kỳ (2015) gặp AFP tăng ở 56,2% số bệnh nhân [2]. Như vậy, 44,3% số bệnh nhân trong nghiên cứu được chẩn đoán xác định UTBM tế bào gan có nồng độ AFP huyết thanh không tăng, cho thấy AFP bình thường không giúp loại trừ UTBM tế bào gan.

Đặc biệt 48,4% số bệnh nhân trong nghiên cứu có AFP tăng > 200ng/mL, ngưỡng chẩn đoán theo khuyến cáo của Hội Nghiên cứu Bệnh gan Hoa Kỳ năm 2005 bởi độ đặc hiệu trong phát hiện UTBM tế

bào gan tại giá trị ngưỡng này có thể đạt 100% mặc dù độ nhạy chỉ đạt 20 - 70% [6].

4.2. Đặc điểm u gan và tình trạng xâm lấn tĩnh mạch cửa

Đa số bệnh nhân có khối u ở gan phải (64,4%), một số ít bệnh nhân có u khu trú ở gan trái (6,7%) và ở cả 2 thùy gan (28,9%). Sự phân bố khối u ở gan phải trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả của nhiều công trình nghiên cứu trong và ngoài nước [2], [3], [12].

Theo phân loại UBTG có 3 hình thái đại thể là thể nhân, thể khối và thể lan tỏa [13]. Trong nghiên cứu của chúng tôi hình thái UTBM tế bào gan được xác định cho mỗi bệnh nhân trên chẩn đoán hình ảnh (CT scanner ổ bụng và chụp động mạch gan) là thể khối và thể nhân (66,1%) và thể lan tỏa (33,9%). Tác giả Lê Văn Trường (2006) cho kết quả cao hơn là 44,4% bệnh nhân ung thư gan ở thể lan tỏa [3].

19,4% số bệnh nhân UBTG được phát hiện có tình trạng xâm lấn tạo huyết khối ung thư trong hệ TMC trên các phương tiện chẩn đoán hình ảnh (siêu âm, CT scanner gan 3 thì và chụp mạch gan) trong đó tỷ lệ huyết khối theo các mức độ Vp1, Vp2, Vp3, Vp4 lần lượt là 11,1%, 5,0%, 4,4%, 3,3%. Tỷ lệ phát hiện huyết khối TMC ở bệnh nhân UBTG có khác nhau theo kết quả của các nghiên cứu tùy thuộc vào

phương pháp chẩn đoán. Theo thông báo lần thứ 18 của Hội Nghiên cứu Ung thư gan Nhật Bản (2010) trên 17.455 bệnh nhân UBTG bằng sự kết hợp nhiều phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác nhau phát hiện tỷ lệ huyết khối TMC là 13,1% với các mức độ Vp1, Vp2, Vp3, Vp4 lần lượt là 3,0%, 2,8%, 3,9% và 3,3%. Tuy nhiên qua phẫu thuật và nghiên cứu trên các mảnh sinh thiết gan ở 25.066 bệnh nhân UBTG thì tỷ lệ phát hiện huyết khối TMC cao hơn đạt 26,0% với các mức độ xâm lấn Vp1, Vp2, Vp3, Vp4 lần lượt là 19,0%, 3,1%, 2,6% và 1,4% [10]. Còn với 72 trường hợp bệnh nhân UBTG được mổ tử thi thì có tới 44% trường hợp phát hiện có huyết khối TMC (nghiên cứu của Pirisi M và cộng sự (1998) [12]).

Tỷ lệ tạo huyết khối TMC có xu hướng cao nhất ở Vp1, giảm dần và thấp nhất là Vp4. Điều này hoàn toàn phù hợp với đặc điểm tiến triển và xâm lấn của UBTG, thường xâm lấn vào các nhánh nhỏ TMC sát gần khối u nhất, sau đó mới phát triển dần theo TMC ra các phân nhánh lớn hơn [13].

4.3. Đặc điểm giai đoạn UTBM tế bào gan nhiễm HBV

Hiện nay, hệ thống giai đoạn BCLC hiện được coi là hệ thống có năng lực mạnh nhất trong phân tầng bệnh nhân, tiên lượng thời gian sống và là hệ thống duy nhất cung cấp phương pháp điều trị cụ thể cho từng giai đoạn. Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận đa số bệnh nhân nghiên cứu ở giai đoạn BCLC B (chiếm 60,0%) và BCLC C (23,3%), giai đoạn bệnh chỉ có thể nhận điều trị can thiệp mạch hỗ trợ, trong khi chỉ 10% bệnh nhân ở giai đoạn BCLC A có thể nhận điều trị triệt căn (phẫu thuật, tiêu hủy qua da) [6], [9]. Kết quả này cho thấy bệnh nhân UTBM tế bào gan ở nước ta ít khi được phát hiện ở giai đoạn sớm, nên tiên lượng thường nặng, thời gian sống thêm ngắn, cần có các phương pháp truyền thông tầm soát phát hiện sớm [2], [3].

4.4. Mối liên quan giữa nồng độ AFP huyết thanh với đặc điểm u và giai đoạn bệnh

Chúng tôi nhận thấy có mối liên quan giữa nồng độ AFP huyết thanh với kích thước khối u và giai đoạn bệnh theo phân loại BCLC, đó là nồng độ AFP tăng dần theo kích thước u và sự tiến triển của

giai đoạn bệnh, mức liên quan có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$. Trần Thanh Hiền (2013) cũng ghi nhận kết quả nhóm bệnh nhân UTBM tế bào gan có nồng độ AFP $\geq 400\text{ng/mL}$, tỷ lệ bệnh tiến triển tăng dần (bệnh nhân ở giai đoạn 0 và A, B, C và D là 19,7%, 38,8%, 57,1%); ngược lại ở nhóm bệnh nhân có AFP $< 400\text{ng/mL}$ tỷ lệ bệnh tiến triển giảm dần (bệnh nhân ở giai đoạn 0 và A, B, C và D là 80,3%, 61,2%, 42,9%) [1]. Cũng tương tự kết quả nghiên cứu của Choi JY và cộng sự (2013) cho thấy nồng độ AFP-L3 đồng tương quan với nồng độ AFP và kích thước khối u gan [8]. Điều này cho thấy AFP vừa là dấu ấn giúp cho chẩn đoán nhưng cũng có thể được coi là một trong các xét nghiệm tiên lượng ở bệnh nhân UTBM tế bào gan nhiễm HBV.

5. Kết luận

Nghiên cứu 180 bệnh nhân UTBM tế bào gan nhiễm HBV mới được phát hiện, điều trị nội trú tại Khoa Nội Tiêu hóa – Bệnh viện Quân y 103 chúng tôi ghi nhận một số kết quả sau:

65,5% bệnh nhân tăng dấu ấn AFP huyết thanh, trong đó có 44,3% bệnh nhân tăng AFP vượt ngưỡng 200ng/mL.

Bệnh nhân UTBM tế bào gan đa phần phát hiện ở giai đoạn trung gian (60,0%) và tiến triển (23,3%) với kích thước u $\geq 5\text{cm}$ chiếm 79,8%, thể khối và nhân chiếm 66,1% và 19,4% số bệnh nhân có huyết khối TMC ở các mức độ khác nhau

Có mối liên quan giữa nồng độ AFP huyết thanh với kích thước khối u và giai đoạn bệnh theo phân loại BCLC: AFP tăng dần theo kích thước u và giai đoạn bệnh với mức liên quan có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$.

Tài liệu tham khảo

1. Trần Thanh Hiền (2013) *Giá trị của alpha-fetoprotein trong chẩn đoán, chọn lựa phương pháp điều trị và tiên lượng sau phẫu thuật ung thư gan nguyên phát*. Luận văn Thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.
2. Thái Doãn Kỳ (2015) *Nghiên cứu kết quả điều trị ung thư biểu mô tế bào gan bằng phương pháp tắc mạch hóa chất sử dụng hạt vi cầu DC Beads*. Luận

- án Tiến sỹ Y học, Viện Nghiên cứu Khoa học Y Dược lâm sàng 108, Hà Nội.
3. Lê Văn Trường (2006) *Nghiên cứu điều trị ung thư biểu mô tế bào gan kích thước trên 5cm bằng phương pháp tắc mạch hóa dầu chọn lọc*. Luận án Tiến sĩ y học, Học viện Quân y.
 4. Bộ Y tế (2012) *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư tế bào gan nguyên phát, Quyết định số 5250*.
 5. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al (2018) *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. A Cancer Journal for Clinicians 68 (6): 394-424.
 6. Bruix J, Sherman M (2005) *Management of hepatocellular carcinoma*. Hepatology 42(5): 1208-1236.
 7. Butterfield LH (2007) *Recent advances in immunotherapy for hepatocellular cancer*. Swiss Med Wkly 137: 83-90.
 8. Choi JY, Jung SW, Kim HY et al (2013) *Diagnostic value of AFP-L3 and PIVKA-II in hepatocellular carcinoma according to total AFP*. World Journal of Gastroenterology 19(3): 339-346.
 9. European Association for the Study of the Liver (2018) *EASL clinical practice guidelines: Management of hepatocellular carcinoma*. J Hepatol 69:182-236.
 10. Ikai I, Kudo M, Arii S, Omata M et al (2010) *Report of the 18th follow-up survey of primary liver cancer in Japan*. Hepatol Res 40: 1043-1069.
 11. Liver Cancer Study Group of Japan (2003) *The general rules for the clinical and pathological study of primary liver cancer, second English edition*. Tokyo: Kanehara & Co., Ltd.
 12. Pirisi M, Avellini C, Fabris C et al (1998) *Portal vein thrombosis in hepatocellular carcinoma: age and sex distribution in an autopsy study*. J Cancer Res Clin Oncol 124(7): 397-400.
 13. Textbook of Hepatology (2005) *Tumour of the liver*. 1424-1461.