



**Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto  
Programa de Pós-graduação em Enfermagem**

---

**NATHALIA MARTINES TUNISSIOLLI**

**“ASPECTOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E  
HISTOPATOLÓGICOS DE PACIENTES COM  
CARCINOMA HEPATOCELULAR SUBMETIDOS A  
TRANSPLANTE HEPÁTICO”**

**São José do Rio Preto  
2017**

**NATHALIA MARTINES TUNISSIOLLI**

**ASPECTOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E  
HISTOPATOLÓGICOS DE PACIENTES COM  
CARCINOMA HEPATOCELULAR SUBMETIDOS A  
TRANSPLANTE HEPÁTICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Enfermagem da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, para obtenção do Título de Mestre. *Área de Concentração*: Processo do Trabalho em Saúde. *Linha de Pesquisa*: Educação na Saúde e Processo do Cuidar nos Ciclos de Vida.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Eny Maria Goloni Bertollo  
Coorientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Márcia Maria Urbanin Castanhole-Nunes

**São José do Rio Preto  
2017**

Martines Tunissiolli, Nathalia

Aspectos clínicos, epidemiológicos e histopatológicos de pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos a transplante hepático/  
Nathalia Martines Tunissiolli.

São José do Rio Preto; 2017.

69 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Enfermagem da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto.

Área de Concentração: Processo do Trabalho em Saúde.

Linha de Pesquisa: Educação na Saúde e Processo do Cuidar nos Ciclos de Vida.

Orientador: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Eny Maria Goloni Bertollo

Coorientador: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Márcia Maria Urbanin Castanhole-Nunes

1. Epidemiologia; 2. Fatores de risco; 3. Transplante hepático; 4. Carcinoma Hepatocelular

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Profª Drª Eny Maria Goloni Bertollo (Orientadora e Presidente)  
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto- FAMERP

---

Profª Drª Cláudia Bernardi Cesarino  
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto- FAMERP

---

Profª Drª Patrícia Modiano  
Faculdade de Ciências da Saúde Dr. Paulo Prata- FACISB

São José do Rio Preto, 01/09/2017.

## SUMÁRIO

<b>Dedicatória</b> .....	i
<b>Agradecimentos</b> .....	ii
<b>Lista de Figuras</b> .....	v
<b>Lista de Tabelas</b> .....	vi
<b>Lista de Abreviaturas e Símbolos</b> .....	vii
<b>Resumo</b> .....	ix
<b>Abstract</b> .....	x
<b>Resumen</b> .....	xi
<b>1. Introdução</b> .....	1
1.1. Objetivos.....	6
<b>2. Métodos</b> .....	7
<b>3. Artigos científicos</b> .....	9
3.1. Artigo científico I.....	12
3.2. Artigo científico II.....	22
<b>4. Conclusões</b> .....	45
<b>5. Referências</b> .....	47
<b>6. Anexos</b> .....	50

Anexo A. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

## DEDICATÓRIA

### *A minha amada mãe*

*Por sempre acreditar e apoiar a realização dos meus sonhos. Por não medir esforços para que tudo desse certo. Agradeço pelo apoio em todos os momentos difíceis, quando eu achava que não iria conseguir. Orgulho-me muito de ser sua filha e agradeço a Deus por me permitir tamanha benção. Te amo incondicionalmente desde sempre e para todo sempre.*

## AGRADECIMENTOS

### ***A Deus***

*Pelo dom da vida e por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades. Por me presentear com ótimas oportunidades profissionais. Sem Ele nada disso seria possível.*

### ***À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eny Maria Goloni Bertollo, minha orientadora***

*Pela oportunidade de ser sua orientanda, exemplo de compromisso e respeito à pesquisa. Obrigada por estimular meu desenvolvimento científico e por me ensinar, com carinho, determinação e paciência.*

### ***À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Márcia Maria Urbanin Castanhole Nunes***

*Pela co-orientação, apoio e conhecimentos. Pela ajuda em todas as fases deste trabalho, sempre com paciência e dedicação e por aceitar que eu fosse sua coorientanda, tornando-se uma grande amiga.*

### ***À minha família***

*Pai, tias e prima pela torcida, carinho e paciência. Vocês são muito especiais para mim.*

### ***À minhas amigas***

*Pelas palavras de apoio e incentivo, que me mantinham motivada. Obrigada pelo companheirismo, mesmo longe e com a rotina avassaladora a amizade continuou a mesma. Amo vocês, Giulia, Aline, Marina e Maria Elisa.*

### ***Aos Funcionários, estagiários e pós-graduandos da UPGEM***

*Pela ajuda e apoio na realização desse trabalho. Nenhum trabalho existe sem o trabalho em equipe. Vocês foram imprescindíveis.*

### ***Aos Membros da Banca***

*Pela disponibilidade e, principalmente, pela colaboração para melhorar ainda mais esse trabalho.*

***Ao Programa de Pós Graduação em Enfermagem da Famerp***

*Agradeço a todos os funcionários e docentes do Programa pelo amadurecimento acadêmico e conhecimento oferecido durante a realização do curso de Mestrado.*

***CAPES***

*Pela bolsa de estudo.*

***FAMERP, CNPq e FAPESP***

*Pelo apoio Institucional e suporte financeiro*

***A todos que de forma direta ou indireta ajudaram na realização desse trabalho.***

## **EPIGRAFE**

*“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Não importam quais sejam os obstáculos e as dificuldades. Se estamos possuídos de uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho”.*

*Dalai Lama*

**LISTA DE FIGURAS**

**ARTIGO CIENTÍFICO I**

Figura 1	Fatores de risco para o desenvolvimento do Carcinoma Hepatocelular.....	13
Figura 2	Estadiamento do tratamento segundo Barcelona Clinic Liver Cancer.....	14

**ARTIGO CIENTÍFICO II**

Figura 1	Fatores de risco no desenvolvimento das etapas do Carcinoma Hepatocelular.....	42
Figura 2	Sobrevida em pacientes submetidos a transplante de fígado por CHC, de acordo com a presença e ausência de DHGNA através do método de Kaplan-Meier.....	42

## **LISTA DE TABELAS**

### **ARTIGO CIENTÍFICO I**

Tabela 1	Biomarcadores das vias de Carcinoma Hepatocelular.....	16
Tabela 2	Cuidados paliativos para pacientes com Carcinoma Hepatocelular.....	17

### **ARTIGO CIENTÍFICO II**

Tabela 1	Distribuição dos pacientes de acordo com os aspectos clínicos e epidemiológicos.....	43
Tabela 2	Distribuição dos pacientes de acordo com a diferenciação histológica e classificação de Edmondson-Steiner.....	44
Tabela 3	Componentes considerados para classificação de Síndrome Metabólica e utilizados no diagnóstico de DHGNA.....	44

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

**AACE-** *American Association of Clinical Endocrinologists*

**AFP-** *Alpha-fetoprotein*

**BCLC-** *Barcelona Clinic Liver Cancer*

**CC-** *Cirrose criptogênica*

**CHC-** *Carcinoma Hepatocelular*

**DHA-** *Doença hepática alcoólica*

**DHGNA-** *Doença hepática gordurosa não alcoólica*

**DNA** – *Ácido Desoxirribonucleico*

**DPP4-** *Dipeptidyl-peptidase-4*

**EGF gene-** *Epidermal Growth Factor*

**EGFR-***Epidermal growth factor receptor*

**EHNA-** *Esteato-hepatite não alcóolica*

**FAMERP** – *Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto*

**GP73-** *Golgi 73 protein*

**GPC3-** *Glypican-3*

**HAI-** *Hepatite autoimune*

**HBV-** *Hepatitis B virus*

**HCC-** *Hepatocellular carcinoma*

**HCV-** *Hepatitis C virus*

**IGF gene-** *Growth Factor Similar To Insulin*

**IMC-** *Índice de Massa Corpórea*

**KRAS** - *Kirsten Rat Viral Sarcoma Oncogene Homolog*

**MET-** *Transition mesenchymal epithelium*

**mTOR-** *Protein In Mammalian Target Of Rapamycin*

**NAFLD-** *Non-alcoholic fatty liver disease*

**NASH-** *Nonalcoholic steatohepatitis*

**NGS-** *Next Generation Sequencing*

**OPN-** *Osteopontin*

**PDGF gene-** *Growth Factors Derived From Platelets*

**ROS-** *Reactive oxygen species*

**SM-** *Síndrome metabólica*

**TGF- $\beta$**  -*Transforming growth factor beta*

**UPGEM-** *Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular*

**VEGF-** *Vascular Endothelial Growth Factor*

**VHB-** *Vírus da hepatite B*

**VHC-** *Vírus da hepatite C*

**WHO-** *World Health Organization*

---

## RESUMO

**Introdução:** O Carcinoma Hepatocelular (CHC) é o câncer primário do fígado com altas taxas de incidência e mortalidade devido ao seu diagnóstico tardio. Seu desenvolvimento resulta da interação entre fatores ambientais e genéticos. Assim o objetivo deste estudo foi avaliar parâmetros clínicos, epidemiológicos e histopatológicos de pacientes com CHC submetidos à cirurgia de transplante hepático no período de 2010 a 2016 em um Centro Universitário de Referência. **Metodologia:** Trata-se de um estudo retrospectivo, descritivo e transversal. Foram avaliados todos os pacientes com CHC submetidos ao transplante hepático no período de 2010 a 2016 de um Centro Universitário de Referência do Noroeste Paulista. As variáveis analisadas foram: idade, gênero, etilismo, tabagismo, infecção pelo vírus da hepatite B (VHB), vírus da hepatite C (VHC), cirrose, doença hepática alcoólica (DHA), diabetes, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), portador de doença genética, dosagem de alfafetoproteína (AFP), sobrevida e índice de recidiva. **Resultados:** De 60 pacientes incluídos neste estudo, 48 (80%) eram homens com média de idade de  $58,3 \pm 10,6$  anos. A cirrose estava presente em 100% dos casos. As etiologias identificadas para o desenvolvimento da hepatopatia foram 56,6% VHC das quais 20% o vírus estava associada ao álcool, 20% o VHB, 1,66% portador de doença genética, hemocromatose; 50,9% de DHA e 25% de DHGNA. Além disso, os níveis de AFP foram dosados em 42 pacientes, 88,09% apresentaram níveis inferiores a 20 ng/mL e 7,14% obtiveram níveis  $>150$  ng/mL. Em relação à classificação histológica de Edmondson-Steiner 58,5% dos pacientes foram classificados grau  $\leq$  II e 41,5% grau  $\geq$  III. **Conclusão:** Predominaram-se pacientes do gênero masculino, com média de idade de 58,3 anos. Em relação à classificação histológica de Edmondson-Steiner o grau  $\leq$  II é o mais frequente. A cirrose foi prevalente nos pacientes estudados. VHC, DHA e DHGNA foram os agentes etiológicos mais comuns encontrados no estudo. A alta prevalência de DHGNA na amostra estudada com diagnóstico subestimado pré-transplante, se deve ao fato de todos os pacientes apresentarem cirrose, mascarando os sinais de DHGNA.

**Palavras-chave:** Câncer de Fígado, Doença Hepática Gordurosa não Alcoólica, Transplante Hepático, Epidemiologia, Fatores de Risco.

**ABSTRACT**

**Introduction:** Hepatocellular Carcinoma (HCC) is the primary liver cancer with high incidence and mortality rates due to its late diagnosis. Its development results from the interaction between environmental and genetic factors. Thus, the objective of this study was to evaluate clinical, epidemiological and histopathological parameters of CHC patients submitted to liver transplant surgery from 2010 to 2016 at a University Reference Center. **Materials and methods:** It is a retrospective, descriptive and cross-sectional study. We evaluated all HCC patients submitted to liver transplantation from 2010 to 2016 from a University Reference Center in the Northwest of São Paulo. The variables analyzed were: age, gender, ethnicity, smoking, hepatitis B virus (HBV) infection, hepatitis C virus (HCV), cirrhosis, alcoholic liver disease (ALD), diabetes, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), genetic disease, alpha-fetoprotein (AFP), survival and relapse rate. **Results:** Of the 60 patients included in this study, 48 (80%) were men with a mean age of  $58.3 \pm 10.6$  years. Cirrhosis was present in 100% of cases. The etiologies identified for the development of hepatopathy were 56.6% HCV, 20% of which were associated with alcohol, 20% of HBV, 1.66% of patients with hemochromatosis, 50.9% of ALD and 25% of NAFLD. In addition, AFP levels were measured in 42 patients, with 88.09% presenting levels below 20 ng/mL and 7.14% having levels  $>150$  ng/mL. Regarding the histological classification of Edmondson-Steiner, 58.5% of the patients were classified as grade  $\leq$  II and 41.5% grade  $\geq$  III. **Conclusion:** Predominant male patients, with a mean age of 58.3 years. In relation to the histological classification of Edmondson-Steiner the degree  $\leq$  II is the most frequent. Cirrhosis was prevalent in the studied patients. HCV, ALD and NAFLD were the most common etiological agents found in the study. The high prevalence of NAFLD in the pre-transplanted underestimated sample is due to the fact that all patients present cirrhosis, masking the NAFLD signals.

**Keywords:** Liver Cancer, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, Liver Transplantation, Epidemiology, Risk Factors.

---

## RESUMEN

**Introducción:** El carcinoma hepatocelular (CHC) es el cáncer primario del hígado con altas tasas de incidencia y mortalidad debido a su diagnóstico tardío. Su desarrollo resulta de la interacción entre factores ambientales y genéticos. **Objetivos:** El objetivo de este estudio fue evaluar parámetros clínicos, epidemiológicos e histopatológicos de pacientes con CHC sometidos a la cirugía de trasplante hepático en el período de 2010 a 2016 en un Centro de Referencia Universitario. Se evaluaron todos los pacientes con CHC sometidos al trasplante hepático en el período de 2010 a 2016. **Materiales y Métodos:** Es un estudio retrospectivo, descriptivo y transversal. Se evaluaron todos los pacientes con CHC sometidos a trasplante de hígado de 2010 a 2016 de un Centro de Referencia Universitario en el Noroeste de São Paulo. Las variables analizadas fueron: edad, género, etilismo, tabaquismo, infección por el virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), cirrosis hepática, enfermedad hepática alcohólica (EAH), diabetes, enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA), portador de enfermedad genética, dosificación de alfa-fetoproteína (AFP), supervivencia e índice de recidiva. **Resultados:** De 60 pacientes incluidos en este estudio, 48 (80%) eran hombres con una edad promedio de  $58,3 \pm 10,6$  años. La cirrosis estaba presente en el 100% de los casos. Las etiologías identificadas para el desarrollo de la hepatopatía fueron 56,6% VHC de las cuales el 20% el virus estaba asociado al alcohol, el 20% el VHB, el 1,66% portador de enfermedad genética- hemocromatosis, el 50,9% de EAH y 25% de EHGNA. Además, los niveles de AFP fueron dosificados en 42 pacientes, 88,09% presentaron niveles inferiores a 20 ng/mL y 7,14% obtuvieron niveles  $> 150$  ng/mL. En cuanto a la clasificación histológica de Edmondson-Steiner, el 58,5% de los pacientes fueron clasificados como grado  $\leq$  II y 41,5% grado  $\geq$  III. **Conclusión:** Se predijeron pacientes del género masculino, con una edad promedio de 58,3 años. Para la clasificación histológica de Edmondson-Steiner el grado  $\leq$  II es el más frecuente. La cirrosis fue prevalente en los pacientes estudiados. VHC, EAH y EHGNA fueron los agentes etiológicos más comunes encontrados en el estudio. La alta prevalencia de EHGNA en la muestra subestimada pre-trasplantada se debe al hecho de que todos los pacientes presentan cirrosis, enmascarando las señales de EHGNA.

**Palabras-clave:** Cáncer de Hígado, Enfermedad del Hígado Graso no Alcohólico, Trasplante de Hígado, Epidemiología, Factores de Riesgo.

# 1. INTRODUÇÃO

## **1. INTRODUÇÃO**

O carcinoma hepatocelular (CHC) é um tumor primário do fígado e ocorre em mais de 80% dos casos de câncer de fígado e ocupa o oitavo lugar no ranking dos tumores mais frequentes no âmbito mundial, e a sua incidência é muito variável segundo as diferentes áreas geográficas, sendo mais elevada na África sub-Sahara e no sudeste Asiático.<sup>1,2</sup> É o quinto mais comum em malignidade em todo o mundo, e mais de 80% dos casos ocorre nos países em desenvolvimento, e continua a ser uma preocupação significativa da pesquisa no câncer por causa de sua pequena taxa de sobrevivência e altos índices de recidiva.<sup>3</sup> Uma das razões para esse alto índice de mortalidade (aproximadamente um milhão de pessoas por ano) é o diagnóstico tardio do tumor, pois ele é detectado normalmente em um estágio mais avançado com metástases intra e extra-hepáticas.<sup>4</sup>

Em estudo epidemiológico sobre CHC realizado na América Latina, encontrou-se uma área de baixa incidência da doença quando comparado a outras regiões, com menos de cinco novos casos por 100.000 habitantes ao ano. Quanto à demografia a doença acometeu mais homens, grande parte diagnosticada na faixa etária dos 60 anos. O fator de risco mais prevalente nesta região na qual o Brasil se inclui é a hepatite por vírus C.<sup>5</sup>

Sabe-se que há associação entre o CHC e a infecção pelo vírus da hepatite B e C.<sup>6</sup> Na Ásia, para o VHB a principal via de transmissão é a vertical, enquanto que a transmissão horizontal é a principal via na África. No Ocidente, o VHB é transmitido principalmente na adolescência e início da vida adulta por meio de condutas de alto risco, como exposição sexual sem uso de preservativo e o uso de drogas injetáveis.<sup>7</sup>

Outros fatores de risco importantes são os carcinógenos químicos, os fatores hormonais, genéticos, a exposição à aflatoxina B1(AFB-1), o consumo excessivo de álcool e algumas condições heredo-familiares tais como: a hemocromatose, a deficiência de alfa-1-antitripsina, a tirosinemia, as doenças de depósito de glicogênio e a porfiria cutânea tardia.<sup>8</sup>

Estudos revelam que o consumo de tabaco, uma dieta pobre em alimentos que contém antioxidantes, a exposição ambiental ao arsênico, obesidade e esteatose hepática são também fatores de risco para o desenvolvimento do CHC.<sup>9</sup> Estudos indicam que os xenobióticos desempenham um papel importante no desenvolvimento de CHC, ainda que tais aspectos moleculares sejam mal compreendidos.<sup>10</sup>

Atualmente, os distúrbios metabólicos têm sido um problema de saúde pública em escala global, como obesidade, diabetes mellitus e síndrome metabólica. Estudos mostram que a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é outro fator de risco para o desenvolvimento de CHC e está presente em aproximadamente 70% das pessoas com diabetes mellitus e 90% das pessoas com obesidade. Portanto, a DHGNA é um potencial fator de risco para CHC, sendo a terceira causa de indicação para transplante hepático nos Estados Unidos.<sup>11</sup> Apesar de a esteatose pura ausente de fibrose ser considerada relativamente benigna, a presença de fibrose indica a progressão da doença, atualmente existem poucas terapias específicas disponíveis para pacientes com DHGNA e as alternativas são dirigidas para a síndrome metabólica.<sup>12</sup> Um estudo epidemiológico realizado no Brasil sobre CHC apontou que o fator de risco com a taxa mais alta foi o VHC com 16,9%, seguido do VHB com 15,3%, 4% dos pacientes estudados foram diagnosticados com DHGNA, fator de risco importante para o desenvolvimento de cirrose e CHC.<sup>13</sup> Um dos grandes problemas no diagnóstico da DHGNA é que a cirrose mascara as variáveis da síndrome metabólica e por isso o diagnóstico de DHGNA pré-transplante pode passar despercebido.<sup>14,15</sup>

Os exames realizados para diagnosticar esse tipo de câncer no paciente cirrótico são não invasivos, como os estudos radiológicos, incluindo ultrassonografias, tomografia computadorizada, ressonância magnética e a dosagem de marcadores químicos, como a de alfa-fetoproteína (AFP).<sup>16</sup> O rastreamento precoce do CHC visa reduzir as taxas de mortalidade relacionadas à doença, atualmente o método radiológico mais utilizado tem sido a

ultrassonografia devida sua acessibilidade e sensibilidade que está entre 60-80%.<sup>17</sup> A AFP é o teste sorológico mais utilizado, no entanto, não é um marcador preciso, pois apresenta baixa especificidade e sensibilidade.<sup>18,19</sup> Quando os achados não são conclusivos, faz-se necessário o diagnóstico histopatológico (biópsia).<sup>20</sup> A avaliação histopatológica classifica e diferencia as biópsias hepáticas em lesões benignas e malignas, dentre elas destaca-se a classificação de Edmondson-Steiner, que caracteriza o CHC de acordo com o grau de diferenciação celular, correspondendo aos graus I, II, III e IV.<sup>21-23</sup>

Os tratamentos curativos tais como a ressecção cirúrgica, transplante de fígado, e ablação local podem melhorar significativamente a sobrevivência de pacientes com CHC no estadio inicial da doença.<sup>24</sup> Atualmente, não há tratamento eficaz disponível para pacientes com CHC em estadio avançado, e a terapêutica molecular tem sido considerada como uma potencial intervenção para estes pacientes, no entanto, essas estratégias terapêuticas para prevenção ou tratamento de estadio avançado de CHC são ainda insuficientes. Até o momento o único remédio comprovadamente eficaz para o CHC é o Sorafenib capaz de prolongar a sobrevida destes pacientes.<sup>25</sup> Um estudo multicêntrico randomizado (fase III), concluiu que o Regorafenib é um fármaco capaz de fornecer benefício de sobrevivência a pacientes com CHC que fazem tratamento com Sorafenib.<sup>26</sup>

Para escolha do melhor tratamento, alguns fatores devem ser avaliados, como estadio do câncer, os recursos disponíveis, o nível de especialização dos profissionais, idade e comorbidades do paciente.<sup>27</sup> O Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) analisa parâmetros relevantes e classifica os pacientes com CHC em estadio muito precoce, precoce, intermediário, avançado e terminal. A ressecção, a ablação e o transplante são considerados opções potencialmente curativas para os pacientes na fase inicial. A quimioembolização consiste na aplicação de agentes quimioterápicos no ramo da artéria hepática, resultando na embolização do suprimento vascular, é indicada quando o paciente é classificado em estadio

intermediário, enquanto que os pacientes em estadió avançado podem ser submetidos ao tratamento com Sorafenib. Os pacientes em fase terminal são sujeitos aos cuidados paliativos, a fim de obter melhor qualidade de vida.<sup>17, 27-28.</sup>

Os cuidados paliativos são definidos como intervenções por parte da equipe multiprofissional, composta por médicos, enfermeiros, psicólogos, nutricionistas, entre outros, a fim de melhorar a qualidade de vida do paciente ao longo da trajetória da doença, uma conduta planejada dos cuidados paliativos fornece ao paciente um serviço de qualidade, garantindo bons resultados de intervenção.<sup>29</sup>

Os marcadores tumorais têm sido bastante utilizados como recurso de diagnóstico dentre eles está a Alfafetoproteína (AFP) que, no entanto apresenta baixa sensibilidade e especificidade para o CHC.<sup>17,30</sup> Recentemente pesquisadores identificaram possíveis biomarcadores tumorais em CHC como a proteína Golgi 73 (GP73), Glipicano-3 (GPC3), microRNAs e outros, responsáveis por regular importantes vias na hepatocarcinogênese.<sup>31-33</sup> Desta maneira, um biomarcador tumoral que apresente alta confiabilidade é necessário a fim de uma maior precisão diagnóstica.

Devido à alta incidência e diagnóstico tardio de CHC em diferentes regiões do mundo, o presente estudo teve como foco a análise retrospectiva descritiva transversal de pacientes com Carcinoma Hepatocelular submetidos a transplante hepático em um Centro Universitário de Referência, no período de 2010 a 2016, na qual avaliou os aspectos clínicos, epidemiológicos e histopatológicos desses pacientes.

## 1.1. OBJETIVOS

### 1.1.1. Objetivo Geral

Avaliar parâmetros clínicos, epidemiológicos e histopatológicos de pacientes com Carcinoma Hepatocelular (CHC) submetidos a transplante hepático na Unidade de Transplante de Fígado, Intestino e Pâncreas de um Centro Universitário de Referência;

### 1.1.2. Objetivos Específicos

- Analisar na literatura científica como o Carcinoma Hepatocelular (CHC) evolui quanto às causas, fatores de risco, tratamentos, biomarcadores, aspectos clínicos e o papel da equipe multidisciplinar;
- Descrever os principais fatores de risco para o CHC que acometem a população estudada;
- Analisar os exames de alfafetoproteína pré- transplante;
- Classificar os pacientes de acordo com seu grau histológico (Classificação de Edmondson Steiner);
- Verificar a prevalência de Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) como causa associada ao transplante de fígado por CHC, assim como verificar a prevalência do DHGNA sem diagnóstico prévio entre estes pacientes;
- Estimar a sobrevida dos pacientes com CHC submetidos a transplante hepático com e sem DHGNA.

## 2. MÉTODOS

Realizou-se uma revisão de literatura sobre Carcinoma Hepatocelular (CHC) abrangendo fatores de risco, aspectos clínicos, tratamento, biomarcadores e o papel da equipe multidisciplinar, por meio de pesquisas em bancos de dados (PubMed, SciELO, MEDLINE, LILACS). Foram pesquisados artigos publicados na literatura, dos últimos cinco anos, com as seguintes palavras-chave: “*Hepatocellular Carcinoma*”, “*HepatocellularCarcinoma review*”, “*Hepatocellular Carcinoma and prevention*”, “*HepatocellularCarcinoma and causes*”, “*Hepatocellular Carcinoma and treatment*”, “*Hepatocellular Carcinoma and survival life*”, “*Hepatocellular Carcinoma and biomarkers*”.

Realizou-se um estudo retrospectivo, descritivo e transversal, baseado em dados analisados de prontuários médicos eletrônico de pacientes com CHC submetidos a transplante hepático no período de 2010 a 2016, em um Centro Universitário de Referência e, portanto que engloba uma grande região do nosso país. Um formulário próprio foi previamente estabelecido do Serviço de Transplante de Fígado para coleta de dados epidemiológicos, clínicos e histopatológicos. Foram incluídos no estudo todos os pacientes com diagnóstico de CHC submetidos a transplante hepático consecutivamente nesta Instituição, no período de 2010 a 2016. Foram excluídos do estudo aqueles que não obedeceram à condição de CHC como diagnóstico.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP) sob Parecer nº 6228/2011 e por se tratar de um estudo de prontuários, dispensou o uso do “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)”.

Foram analisados dados clínicos, epidemiológicos e histopatológicos de acordo com as variáveis: gênero, idade, etilismo, tabagismo, diabetes mellitus, presença de cirrose, e classificados quanto à etiologia da doença em: vírus da hepatite B (VHB), vírus da hepatite C (VHC), doença hepática alcoólica (DHA), doença hepática gordurosa não alcoólica

---

(DHGNA), hepatite autoimune (HAI), portador de doença genética, índice de recidiva e sobrevida.

Para o critério histopatológico foi considerado a classificação de Edmondson-Steiner. Os pacientes foram considerados com diagnóstico de DHGNA com base nos achados histopatológicos e seguintes critérios: ausência ou consumo leve de álcool, ausência de exposições a potenciais hepatotoxinas ou medicamentos associados à esteatose hepática, testes laboratoriais de HDL colesterol ( $<40\text{mg}/<50\text{mg/dL}$  para homens e mulheres respectivamente), triglicérides  $>150\text{mg/dL}$ , hipertensos, diabéticos e pacientes com  $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg/m}^2$  (Garvey et al, 2016) (Tabela 3). Estes mesmos critérios foram procurados nos pacientes que não tinham diagnóstico de DHGNA para verificar a possibilidade de DHGNA não diagnosticada uma vez que a cirrose criptogênica (CC) pode mascarar este diagnóstico, levando a complicações (Vernon et al, 2011; Chalasani et al, 2012).

Não foi possível obter as medidas de circunferência abdominal por se tratar de um estudo retrospectivo e dificultar a coleta dessa característica, que não consta em todos os prontuários. A maioria dos sistemas de classificação de Síndrome metabólica (SM) utiliza o tamanho da circunferência abdominal em seus critérios. Assim, optamos por incluir a definição AACE (*American Association of Clinical Endocrinologists*) que utiliza o IMC em vez de circunferência abdominal.

Os dados dos prontuários foram analisados em planilha Microsoft Office Excel 2010, por meio de estatística descritiva, exposição de gráficos e tabelas contendo o cálculo dos percentuais das variáveis apresentadas.

O período da sobrevida foi calculado entre a intervenção cirúrgica e a data da última consulta ou óbito. Para o cálculo da sobrevida realizou-se o método estimativo de Kaplan-Meier utilizando o programa Stats Direct Statistical Software version 2.0.0 (England: StatsDirect Ltd), valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

### 3. ARTIGOS CIENTÍFICOS

### **3. ARTIGOS CIENTÍFICOS**

Os resultados dessa dissertação estão apresentados em forma de artigos científicos. No total são dois artigos, sendo um já publicado em Revista Internacional e outro submetido.

#### **Artigo 1**

**Título:** Hepatocellular carcinoma: a comprehensive review of biomarkers, clinical aspects, and therapy

**Autores:** Nathalia Martines Tunissiolli, Márcia Maria Urbanin Castanhole-Nunes, Patricia Matos Biselli Chicote, Érika Cristina Pavarino, Renato Ferreira da Silva, Rita de Cássia Martins Alves da Silva, Eny Maria Goloni-Bertollo.

**Periódico:** Asian Pacific Journal of Cancer Prevention; Online ISSN: 2476-762X

DOI:10.22034/APJCP.2017.18.4.863

#### **Artigo 2**

**Título:** Clinical, epidemiological and histopathological aspects of patients with Hepatocellular Carcinoma undergoing liver transplantation at a Reference Center

**Autores:** Nathalia Martines Tunissiolli, Márcia Maria Urbanin Castanhole-Nunes, Érika Cristina Pavarino, Renato Ferreira da Silva, Rita de Cássia Martins Alves da Silva, Eny Maria Goloni-Bertollo.

**Periódico:** Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases; Online ISSN: 1842-1121

### *3.1. ARTIGO CIENTÍFICO I*

## REVIEW

**Hepatocellular Carcinoma: a Comprehensive Review of Biomarkers, Clinical Aspects, and Therapy****Nathalia Martines Tunissiolli<sup>1,2</sup>, Márcia Maria Urbanin Castanhole-Nunes<sup>1,2</sup>, Patrícia Matos Biselli-Chicote<sup>1</sup>, Érika Cristina Pavarino<sup>1</sup>, Renato Ferreira da Silva<sup>2</sup>, Rita de Cássia Martins Alves da Silva<sup>2</sup>, Eny Maria Goloni-Bertollo<sup>1,2\*</sup>****Abstract**

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a cause of several deaths related to cancer worldwide. In early stage, curative treatments such as surgical resection, liver transplant and local ablation can improve the patient's survival. However, the disease is detected in advanced stage; moreover some available therapies are restricted to palliative care and local treatment. Early detections of HCC and adequate therapy are crucial to increase survival as well as to improve the patient's quality of life. Therefore, researchers have been investigating molecular biomarkers with high sensibility and reliability as Golgi 73 protein (GP73), Glypican-3 (GPC3), Osteopontin (OPN), microRNAs and others. MicroRNAs can regulate important pathways on carcinogenesis, as tumor angiogenesis and progression. So, they can be considered as possible markers of prognosis in HCC, and therapeutic target for this tumor type. In this review, we discuss the recent advances related to the cause (highlighting the main risk factors), treatment, biomarkers, clinic aspects, and outcome in hepatocellular carcinoma.

**Keywords:** Hepatocellular carcinoma- causes- biomarkers- treatment- prognosis

*Asian Pac J Cancer Prev*, **18** (4), 863-872

**Introduction**

Hepatocellular carcinoma (HCC), the primary cancer of the liver, is derived from hepatocytes and occurs in more than approximately 80% of cases of liver cancer (Jemal, 2011).

The incidence of HCC is higher on mean ages from its diagnosis between 55 and 59 years in China, and 63-65 years in North America and Europe. Higher rates of HCC are observed in East and Southeast Asia, East and Western Africa (Jemal et al., 2011; El-Serag, 2012). The latest data estimated by GLOBOCAN showed about 782,000 new cases and 745,000 deaths of liver cancer in 2012 worldwide. Therefore, the World Health Organization (WHO) considers HCC as the second leading cause of cancer deaths (Ferlay et al., 2015).

HCC development results from the interaction between environmental and genetic factors. Liver cirrhosis, hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infection, excessive alcohol consumption, ingestion of aflatoxin B1, and nonalcoholic steatohepatitis (NASH) are important risk factors for HCC development (Pimenta et al., 2010; Gomes et al., 2013).

Life expectancy of patients with HCC depends on the stage of the cancer at diagnosis. In advanced stage, some

months are expected, however, when the diagnosis is early and effective treatment performed, five- year survival rate can be accomplished (Forner et al., 2012). If the diagnosis is performed at early stage, its treatment is limited and effective; whereas, at advanced when traditional chemotherapy has no satisfactory effect, poor prognosis is expected (Liu et al., 2015). At early stage of HCC, curative treatments such as surgical resection, liver transplant and local ablation can improve the survival of the patients. Therefore, early detection and the adequate therapy are crucial to increase survival and improve the life quality of HCC patients. When classified as stage C (advanced stage) with the presence or absence of vascular invasion and preserved liver function, according to Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) classification, the use of Sorafenib has been effective to improve these patients' survival (Gomes et al., 2013; de Lope et al., 2012).

Alpha-fetoprotein (AFP) has been used as a biomarker in HCC diagnosis by serum. However, AFP is not a precise marker since it provides low sensibility and specificity (Morimoto et al., 2012; Lok et al., 2010). Therefore, a biomarker that presents higher diagnostic accuracy and high reliability are needed. Recent studies identified many tumor biomarkers in HCC as Golgi 73 protein (GP73), Glypican-3(GPC3), microRNAs and others (Ba et al.,

<sup>1</sup>Research Unit of Genetics and Molecular Biology (UPGEM), <sup>2</sup>Liver Tumors Study Group (GETF), São Jose do Rio Preto Medical School (FAMERP), Sao Jose do Rio Preto- SP, Brazil. \*For Correspondence: eny.goloni@famerp.br

Nathalia Martines Tumissiolli et al

2012; Feng et al., 2014; Bartel., 2004).

Current genetic research can contribute to the diagnosis, prognosis, and therapeutic in HCC as well as to provide insights on further steps of the molecular medicine applied to the cancer (Villanueva et al., 2010). In this context, the present review stands out the recent advances related to the causes, treatments, biomarkers, clinic aspects and outcome on hepatocellular carcinoma.

#### Causes/ Risk Factors

The HCC carcinogenesis is often associated with liver cirrhosis resultant from chronic liver diseases as chronic hepatitis, HBV or HCV infection, and autoimmune hepatitis. Other risk factors include excessive alcohol consumption, NASH, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), exposure and ingestion of aflatoxin, diabetes mellitus, tobacco, and sporadically genetic diseases such as alpha-1 antitrypsin deficiency, hemochromatosis, tyrosinemia, porphyria and Wilson's disease (Mittal and El-Serag, 2013; McGlynn and London, 2011; Pimenta and Massabki, 2010). Figure 1 represents the risk factors for the development of Hepatocellular Carcinoma.

Yang and colleagues have studied other risk factors related to HCC development, as male gender, advanced age, obesity, and co-infection with VHB (Yang et al., 2010). A large population-based study with 11,801 male from Taiwan (followed up for 15 years) concluded that an increased risk for HCC development was influenced by three factors, in the following proportions: HBV (55.7%) and HCV (15.3%) infection, and independent alcohol consumed (2.1%). The study has observed an association between HBV and HCV infection and the increased risk of developing HCC (1.7%), and that the combination HBV infection with alcohol consumption increases the risk in 4,2% (Liao et al., 2012).

The presence of chronic HCV infection and excessive alcohol consumption can duplicate the risk of HCC when compared with the infection alone (Jelic et al., 2010). Women are more susceptible to liver lesion and cirrhosis development by alcohol ingestion compared to men,

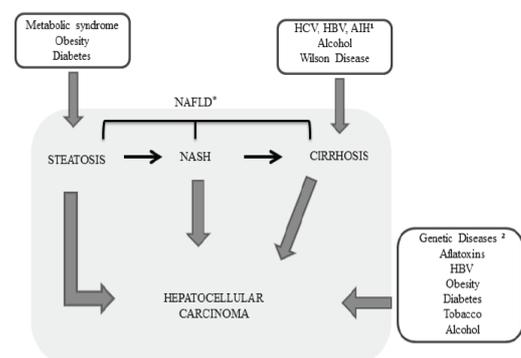


Figure 1. Risk Factors for the Development Stage of Hepatocellular Carcinoma. HCV (Hepatitis C virus), HBV (Hepatitis B virus), <sup>1</sup>AIH (Autoimmune Hepatitis), <sup>2</sup>Genetic Diseases: Alpha-1-antitrypsin deficiency, Hemochromatosis, Porphyria and Tyrosinemia. \*The Spectrum of NAFLD: Steatosis, NASH and Cirrhosis.

because the influence of hormones, such as estrogen. The liver is the organ responsible for metabolizing these hormones and the presence of alcohol in the liver results of an increase in oxidative stress and inflammation resulting from high levels of female hormones steroids (Guy and Peters, 2013; Eagon, 2010).

In the liver, the alcohol is metabolized to acetaldehyde, which is highly toxic to the hepatocytes and can result in the formation of adducts, which inactivate glutathione peroxidase system and cause mitochondrial damage. Deleterious effects of alcohol and its toxic metabolites include defect on synthesis and repair of DNA in the liver cells, and synthesis of reactive oxygen species (ROS), resulting in oxidative stress and up-regulation of pro-inflammatory signaling (Setshedi et al., 2010; Orman et al., 2013).

Some studies have shown that NAFLD is another risk factor for development of HCC. Currently, metabolic disorders have been a public health problem on a global scale, as diabetes mellitus, obesity, and metabolic syndrome. NAFLD is present in approximately 70% of the people with diabetes mellitus, and 90% of the people with obesity. Therefore, NAFLD is a potential risk factor for HCC (Gomes et al., 2013). Diabetic patients present a higher risk (2.5 fold) of developing HCC, independent of co-infection with HBV or HCV, and alcohol consumption (El-Serag, 2012). NAFLD can progress to NASH, cirrhosis, and HCC, due to the inflammation resulting from fat accumulation in the liver (Pocha et al., 2015; Starley et al., 2010; Michelotti et al., 2013). A study conducted in Europe suggested that tobacco consumption is a potential risk factor for the development of hepatocarcinogenesis. Tobacco was associated with liver disease and with an increased risk of mortality associated with alcohol consumption (Trichopoulos et al., 2011; Shih et al., 2012).

Another risk factor for hepatocarcinogenesis is the ingestion and exposure to fungal aflatoxins, particularly aflatoxin B1 caused by fungi (*Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*), which often contaminate stored cereals, such as peanuts and wheat, in areas with limited resources. Mycotoxins bind to hepatocyte DNA, resulting in mutation of tumor suppressor genes or proto-oncogenes, particularly in the p53 gene, occurring in mitotically active cells, such as in livers with chronic HBV or cirrhotic (Pimenta et al., 2010; Yang et al., 2010).

#### Treatment

Actually, there are many curative and/or palliative treatments for HCC. The choice of the appropriate treatment should take into account the cancer stage, the expertise of the professionals, the available resources, age and comorbidities of the patient (Maida et al., 2014).

The BCLC classification considers the relevant parameters of HCC, and classifies the patients into very early, early, intermediate, advanced and terminal stage. Resection, ablation and transplantation are considered potentially curative options for patients in the early stages. Chemoembolization is indicated for intermediate stage, while patients in advanced stage can be treated with Sorafenib. Finally, patients in the terminal stage are submitted to palliative care for improve their quality of life

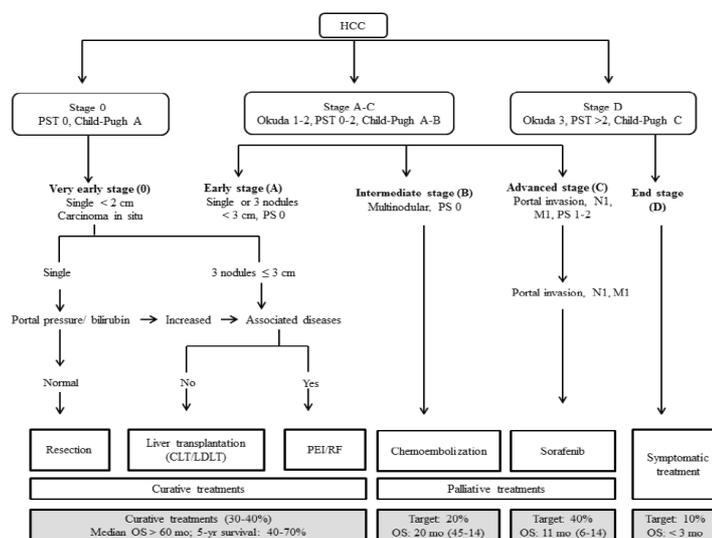


Figure 2: The Barcelona Clinic Liver Cancer Staging and Treatment Allocation. Adapted from Bruix J, Sherman M. Management of Hepatocellular Carcinoma: an Update, 2010. CLT, Cadaveric Liver Transplantation; HCC, Hepatocellular Carcinoma; LDLT, Living Donor Liver Transplantation; M, Metastasis Classification; N, Node Classification; OS, Overall Survival; PEI, Percutaneous Ethanol Injection; PST, Performance Status Test; RF, Radiofrequency.

(Yang et al., 2010; Fomer et al., 2014; Maida et al., 2014; Mazzanti et al., 2016) (Figure 2).

Surgical resection is the choice treatment for HCC patients at early stage without cirrhosis. In cirrhotic patients, surgical resection is indicated only in cases with preserved liver function, single nodule, and absence of portal hypertension. The five-year survival rate varies between 50 to 75% in patients undergoing resection, but the recurrence rate (tumor development and metastasis) can reach 50% (Bruix et al., 2011). Therefore, surgical resection is not recommended for HCC associated with vascular invasion or tumor metastasis (Maida et al., 2014).

A common therapy is the ablation, which involves the destruction of tumors <5 centimeters using radiofrequency applications. Ethanol and cryosurgery are alternatives for patients who cannot be subjected to resection or transplantation. The ablation causes necrosis in the tumor microcirculation and ischemia (Ryan et al., 2016). Studies of randomized controlled trials comparing surgical resection and radiofrequency ablation have reported that there were no significant differences in survival or recurrence rates, though the ablation was associated with lower rates of hospitalizations and complications related to the treatment (Kang et al., 2015).

In HCC patients with cirrhosis the transplantation is the indicated treatment, because the reduced recurrence rate and the increase of survival. However, due to the lack of organs available for transplant, patients who could present better results are prioritized for the liver transplant (Adam et al., 2012; Clavien et al., 2012). Because the limited availability of deceased donor liver, transplant from living donors has been a strategy to reduce the waiting time for the transplant and decrease the mortality rate. Transplant from living donors is the alternative treatment for patients with HCC and advanced cirrhosis.

However, studies have shown that relapse rate is higher in transplant living donor (Akamatsu et al., 2014; Chen et al., 2015; Rahimi et al., 2015).

Arterial chemoembolization is defined as an intra-arterial infusion of a chemotherapeutic agent (doxorubicin or cisplatin) combined with embolization of tumor vascular supply, resulting in a cytotoxic and ischemic (hypoxia) effect (Waller et al., 2015). Hypoxia increases cell permeability, and the concentration of chemotherapeutic agent used. Chemotherapeutic agents are contraindicated for patients with impaired liver and portal vein function, encephalopathy and commitment of the biliary system. Studies have shown that the vascular obstruction induces the release of angiogenic factors, requiring the combination of Sorafenib and arterial chemoembolization in order to achieve greater therapeutic safety (Lencioni et al., 2012).

Currently, Sorafenib is an oral multikinase inhibitor with anti-angiogenic effect and antiproliferative and it is the choice treatment for advanced HCC patients with preserved liver function (Carr et al., 2010; Bruix et al., 2011). Meta-analysis and multicenter trials studies have shown the Sorafenib efficacy in prolonging survival and time to progression of the disease. However, common side effects such as dermatologic toxicity, diarrhea, fatigue, and increased incidence of hypertension were reasonably tolerated and provide conduits in clinical practice (Han et al., 2016). The treatment cost with Sorafenib is high and this medicament is not provided for use by Brazilian Public Health (Carr et al., 2010).

Patients in the terminal stage are submitted to palliative care, aiming to improve the quality of life and increase the survival of patients. One method chosen by the healthcare team to the patient that is in this stage is brachytherapy, a less aggressive internal radiotherapy modality than the

*Nathalia Martines Tumissiolli et al*

conventional one. It is an important role of the health team to monitor the patient in all aspects, physiological and psychological, once any alteration may be suggestive of metastasis (Kumar and Panda, 2014; Schlachterman et al., 2015).

The recent positive results of the therapy with multi-target blocking activity, for example, KRAS (Kirsten Rat Viral Sarcoma Oncogene Homolog) and VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) represent progress in the treatment of HCC patients, proving the better efficacy of molecular therapies in comparison to the conventional chemotherapy, strengthening the current clinical oncology (Villanueva et al., 2010; Baines et al., 2011).

A challenge in the search for new therapies is that the HCC is genetically heterogeneous. Therefore, VEGF is involved in several mechanisms responsible for tumor progression, invasion, and metastasis. The identification of new targets resulted from experimental studies could predict liver carcinogenesis, and describe new biomarkers, delineating efficient therapeutic strategies in order to reduce significantly the number of HCC related deaths (Schütte et al., 2015).

#### *Biomarkers*

Modern analytical techniques such as Next Generation Sequencing (NGS), mass spectrometry, proteomics and metabolomics can provide important information for medical oncology and contribute to the identification of novel molecular biomarkers for the diagnosis of HCC (Marquardt and Andersen, 2012). These biomarkers are identified by genomic platforms, and other genetic analysis resultant of blood, tissue, urine, feces and saliva, and could contribute for the development of individualized treatment according to the genetic composition and exposure to environmental risk factors. Biomarkers may be used for diagnostic, prognostic and for identification of the clinical staging of HCC (Carethers et al., 2015; Jameson et al., 2015).

Recent studies indicate promising molecular biomarkers, such as GPC3 (Glypican-3), OPN (Osteopontin), GP73 (Protein Golgi 73), VEGF gene (Vascular Endothelial Growth Factor), EGF gene (Epidermal Growth Factor), PDGF gene (Growth Factors Derived From Platelets) IGF gene (Growth Factor Similar To Insulin), mTOR (Protein In Mammalian Target Of Rapamycin), and microRNAs, are potential candidates to be clinically validated in the future (Minguez et al., 2011; Schütte et al., 2015; Biselli-Chicote et al., 2012; Kedmi et al., 2015; Okada et al., 2015; Jung et al., 2015; Alqurashi et al., 2013). The most relevant genes, proteins, and their related pathways involved in HCC are summarized in the Table 1.

GPC3 is a member of the cell-surface proteoglycans family, which is anchored to the plasma membrane by a glycosyl-phosphatidylinositol bond, performing a role in the control of cell division and regulation. This protein can inhibit the activity of dipeptidyl-peptidase-4 (DPP4) inducing apoptosis in some cell types and it is overexpressed in HCC predicting the poor prognosis for the patients. Thus, studies suggest the GPC3 as a

potential marker of malignancy with sensitivity (77%) and specificity (96%) in the detection of small dysplastic nodules (<2 cm). Currently, researchers have investigated new strategies for therapies using GPC3 in HCC (Feng et al., 2014).

OPN is a protein involved in the fusion of osteoclasts in the mineralized bone matrix. It is a cytokine which up regulates the expression of interferon-gamma and interleukin-12. Studies suggest that OPN can induce the transition mesenchymal epithelium (MET) of HCC cells, by means of an increase in the stability of vimentin protein, which promotes the maintenance of the cell structure, cytoplasmic integrity and stabilization of cytoskeletal interaction. Thus, understanding the mechanisms in which OPN participate, could result in new therapeutic possibilities in metastatic HCC (Dong et al., 2016; Wen et al., 2016).

In a study in Thailand, OPN serum levels were significantly higher in HCC patients compared to controls or patients with nonmalignant chronic liver disease. This result suggests that the dosage of OPN could be a possible diagnostic marker for HCC (Chimparlee et al., 2015). In order to assess the diagnostic and prognostic value of OPN serum levels, a meta-analysis including eight clinical trials (n = 1399) observed that the increase of OPN level was significantly associated with reduced overall survival and relapse-free survival. So, this protein could have a potential predictive significance to determine the HCC survival rate, despite of AFP (Alpha-fetoprotein) (Cheng et al., 2014).

GP73 is a membrane protein belonging to the Golgi complex expressed in the liver and biliary epithelial cells. GP73 expression is higher in patients with HCC, suggesting that this protein can be involved in an important mechanism of liver carcinogenesis (Ba et al., 2012).

In a multicenter study conducted in China and United States, the serum levels of GP73 and AFP were evaluated in 4217 patients and controls. The sensitivity and specificity of GP73 in HCC were 74.6% and 97.4%, respectively, compared to 58.2% and 85.3% for AFP, indicating that GP73 is a potential tumor marker with higher sensitivity and specificity. Corroborating other studies, GP73 levels were significantly higher in HCC patients compared to the healthy subjects, and serum levels decreased after surgical resection and increased with tumor recurrence. Thus, it can be a useful biomarker for the identification of HCC in high-risk populations (Mao et al., 2010).

In order to elucidate the mechanism of gene expression regulation related to the tumor formation, some studies have been investigated microRNAs (miRNAs). MiRNAs are small non-coding RNAs, compounds of ~ 21 nucleotides, regulators of gene expression and multiple cellular processes such as cell differentiation, maintenance of progenitor cells, and epithelial-mesenchymal transition. Changes in the regulation of miRNAs are a common feature of malignant cancers. The mechanisms involved in cancer development include gene amplification/deletion, chromosomal rearrangements, and epigenetic regulatory mechanisms, including DNA methylation, and histone modifications. MiRNAs can act as tumor suppressors

Table 1. Biomarkers of HCC Pathways

Function	Reference
Suppression/modulation of growth	Dargel et al., 2015; Haruyama et al., 2015, 2016
Cytokine which upregulates expression of interferon gamma and interleukin-12	Dong et al., 2016
Membrane protein of the apparatus Golgi expressed in liver and biliary epithelial cells	Ba et al., 2012; Yang et al., 2015
Repair pathways, DNA replication and transcription	Thurnherr et al., 2016
Repair pathways, DNA replication and transcription	Thurnherr et al., 2016
Repair pathways, DNA replication, transcription and autophagy mechanism	Thurnherr et al., 2016
Metabolic pathways and the immune system	Thurnherr et al., 2016
Metabolic pathways and the immune system	Thurnherr et al., 2016
Metabolic pathways and the immune system	Thurnherr et al., 2016
Vascularization	Fish et al., 2009; Fátima and Papa , 2010; Liu et al., 2016
Angiogenesis	Fish et al., 2009; Fátima and Papa , 2010; Liu et al., 2016
Suppressor migration and cell invasion	Fish et al., 2009; Fátima and Papa , 2010; Liu et al., 2016
Cell proliferation and differentiation	Kedmi et al., 2015
Angiogenesis	Shao et al., 2011; Okada et al., 2015
Blockade of the cell cycle and apoptosis	Li et al., 2016
Blockade of the cell cycle	Zhang et al., 2014
Tumor suppressive	Zhang et al., 2014
Angiogenesis	Moeini et al., 2012; Cheng et al., 2016
Proliferation and cell migration	Kedmi et al., 2015
Angiogenesis	Shao et al., 2011; Okada et al., 2015
Cell development, homeostasis and aging	Su et al., 2010; Elmashad et al., 2015; Jung and Suh, 2015
Cell growth, differentiation, proliferation and migration	Li et al., 2016; Buitrago-Molina and Vogel, 2012; Merkschlager and Marcais, 2015.

(down-regulated) or oncogenes (up-regulated) depending on their target genes (Bartel, 2004).

Studies highlighted fundamental roles of miRNAs in the liver carcinogenesis, such as the modulation of the cell in the different phases as proliferation, maintenance, apoptosis, and metastasis. One of the main advantages of the use of miRNAs in therapies is the capacity of regulate multiple genes and signaling cascades, involved in the tumor growth. Thus, some miRNAs represent potential targets in the treatment of HCC (Gramantieri et al., 2008; Liu et al., 2014).

A retrospective study has found clinical parameters combined with miRNAs, it is possible to develop a score classifying low groups and high risk of recurrence and mortality. The study suggested that the use of a specific pattern of microRNAs expression in combination with tumor classification criteria could provide a more accurate estimate of the tumor recurrence. Thus, miRNAs can act as important biomarkers after the liver transplantation to assess postsurgical recurrence (Liese et al., 2016).

A recent study has evaluated in silico 829 miRNAs and their targets in HCC tissues and non-tumor tissues. It was observed that six of these miRNAs can regulate a significant quantity of the targets involved in the liver carcinogenesis. miR-26a, miR-122, and miR-130a were

down-regulated in HCC and are involved in repair pathways, DNA replication, and transcription, while miR-21, miR-93, and miR-221, related to the metabolic pathways of carbohydrate, amino acids, lipids and the immune system, were up-regulated (Thurnherr et al., 2016).

A study in China has analyzed the expression of microRNAs in 96 tumor samples and non-tumor tissues of HCC patients, of which 88% were HBV infected. MiR-122 was down-expressed in HCC and would be responsible for the mitochondrial metabolic regulation. The absence of the miR-122 can be deleterious to the preservation of liver function, and can result in higher of mortality and morbidity rates in HCC patients (Burchard et al., 2010).

A recent study found that low expression of miR-122 in HCC cell lines results in cell proliferation, migration, and invasion, resulted of the activation of the epithelial-mesenchymal transition by Wnt-signaling pathway/ $\beta$ -catenin, which is involved in the control of cell proliferation and differentiation of the hepatocytes. The miR-122 is one of the most abundant and specific miRNA presented in the liver, and can be detected from embryogenesis to adulthood. Therefore it can be an important biomarker for liver diseases (Waisberg and Saba, 2015; Wang et al., 2016).

Nathalia Martines Tumissiolli et al

Table 2. Delivery of Supportive Care for HCC. Adapted from: Kumar M, Panda D, 2014. CBT, Cognitive Behavioral Therapy; NSAIDs, Nonsteroidal Anti-Inflammatory drug; RT, Radiotherapy.

Intervention	Options/ Types
Analgesia	NSAIDs
	Selective COX-2 Inhibitors
	Opioids
	Acetaminophen
	Corticosteroids
	Morphine
Radiotherapy	Fentanyl
	Palliative RT
	Percutaneous cementoplasty
Nutrition	Stereotaxic radiotherapy
	Dependent on nutritional status the patient (enteral or parenteral)
Anorexia-Cachexia	Megestrol acetate
Fatigue	Methylphenidat
Ascites	Diuretics
Nausea and vomiting	Opioid, metoclopramide, glucocorticoids, octreotide, ondansetron and scopolamine
Pruritus	Antihistamine, cholestyramine, rifampin and naltrexone
Constipation	Bulk-forming laxatives, osmotic laxatives, surfactants and stimulant laxatives
Psychosocial	Crisis intervention, CBT, support groups, antidepressants, benzodiazepine and relaxing

A retrospective study has evaluated the expression of miR-21 in 112 patients with HCC underwent surgical resection. It was concluded that the miR-21 expression was significantly up-regulated in tumor tissues compared to adjacent non-tumor tissues. Patients with high expression of miR-21 had lower survival rates compared to patients with low expression. Thus, it is suggested that high expression of miR-21 is associated with the tumor progression, and can be used as biomarker for HCC (Huang et al., 2015).

There are several signaling pathways that are implicated in the HCC pathogenesis, such as VEGF, EGF, PDGF, IGF, and mTOR. Activation of these pathways possibly the resistance apoptosis, and promote cell growth, angiogenesis, invasion, and metastasis (Cervello et al., 2012). VEGF is an important regulator of the liver angiogenesis because it is strongly involved in neovascularization and infiltration of cancer cells in the tumor capsule (Moon et al., 2003). Several studies have shown that VEGF overexpression is associated with proliferation, portal vein thrombosis, tumor aggressiveness, and poor prognosis in HCC patients (Moeini et al., 2012). The VEGF inhibition has been effective in many types of cancer. Angiogenesis blockage is a route for reduction in the tumor growth and an increase of the survival rates (Biselli-Chicote et al., 2012). Inhibition of angiogenesis can have a therapeutic potential for HCC. Actually, several anti-angiogenic agents are being evaluated in clinical trials in order to control the tumor growth (Moeini et al., 2012).

Some miRNAs are highly expressed in carotid artery of mice. It is proposed that these miRNAs belong to a specific class of miRNAs related to vascularization. The expression of miR-210 is induced by hypoxia

and promotes the endothelial cell migration driven by VEGF, and formation of capillaries. MiR-126 induces angiogenesis in response to growth factors such as VEGF or fibroblast growth factor, repressing the negative regulators of signal transduction pathways. VEGF gene has been identified as a direct target of miR-101. This interaction results in the suppression of cell migration and invasion by the inhibition of VEGF. Therefore, miR-101 could be used for the development of therapies for HCC treatment (Fish et al., 2009; Fátima et al., 2010; Liu et al., 2016).

EGF leads to morphological and biochemical alterations in the target cells, resulting in proliferation and cell migration. It is known that miR-15b has the EGF gene as a target, and it is overexpressed in several tumor types, such as liver, colon, and cervical cancer, causing an increase in cell proliferation and differentiation. These alterations can be deleterious and promote the development and progression of cancer (Kedmi et al., 2015).

PDGF acts on transcriptional gene regulation by specific receptors, regulates the angiogenesis. A study has investigated the expression of miR-214 in the liver of transgenic mouse model expressing PDGF. Overexpression of PDGF was associated with hepatic fibrosis, steatosis, and HCC development in this study. MiR-214 appears to be involved in the development of liver fibrosis, by the modulation of EGFR (Epidermal growth factor receptor) and TGF- $\beta$  (Transforming growth factor beta) signaling pathways. The antimir-214 would be a possible therapeutic agent for the prevention of liver fibrosis and development of HCC (Okada et al., 2015).

The IGF is responsible for the regulation of several biological mechanisms, including cell development,

homeostasis, and aging. The dysregulation of these pathways is related to metabolic disorders, cancer, and neurodegenerative diseases. IGF levels indicate the liver function and are inversely related to the severity of liver disease. A study in Egypt has examined the IGF serum levels in 89 patients with HCC. The patients were divided into three groups: 30 patients treated with Sorafenib, 30 patients who received best supportive care and 29 patients who performed arterial chemoembolization. It was found that the patients with controlled disease had significantly higher levels of IGF compared to the patients without disease control. Therefore, the dosage of IGF can predict the liver function and estimate the prognosis of HCC patients (Elmashad et al., 2015; Jung et al., 2015).

A study has shown that miR-145 could inhibit the expression of genes as IGF, blocking the cell cycle and apoptosis in HCC by modulation of the Wnt- $\beta$ -catenin (Law et al., 2012). Other miRNAs are associated with IGF expression, such as the miR-122. The reduced expression of miR-122 made the cells resistant to Sorafenib and induced apoptosis, it was found that IGF is a possible target of this micromRNA, being repressed to this miR-122. Therefore, miR-122 could act as potential predictive biomarker for therapeutic resistance in HCC (Xu et al., 2016). Another study concluded that down-expression of miR-122 in patients infected with HBV induces chronic inflammation in the liver, contributing to carcinogenesis. In this context, the increase of miR-122 expression could be used as a strategy for preventing the development of HCC in patients with Hepatitis B (Li et al., 2016).

The mTOR signaling pathway regulates important cellular aspects such as cell growth factors, oxidative stress, and cellular metabolism, which are closely related to cell growth, differentiation, proliferation, and migration (Buitrago-Molina et al., 2012). The activation of the mTOR pathway in HCC is associated with poor prognosis and increased tumor recurrence. Considering the role of miRNAs as modulators of several pathways related to the development and progression of the tumor, the increased levels of certain miRNAs could regulate mTOR pathways and control the progression of the disease (Alqurashi et al., 2013).

MiR-99 is considered a regulator of the mTOR pathway, and mTOR levels were inversely related to the expression of miR-99 in HCC tissue (Li et al., 2013). The high expression of miR-100 can also be involved in the inhibition of the mTOR pathway, resulting in autophagy and apoptosis of HCC cells (Ge et al., 2014). A study has shown that the low expression of miR-149 acts as tumor suppressor by modulating the mTOR pathway and reduces the tumorigenesis in HepG2 (Zhang et al., 2014).

A potential advantage of using miRNAs as biomarkers is that detected in various biological materials, such as tissues primary HCC, plasma, serum, urine, and saliva, providing a remarkable means for non-invasive early diagnosis of cancer. The analysis of the miRNAs expression has been done mainly by real time-PCR and micro array techniques. Recently, the introduction of new technologies, such as NGS, has facilitated the discovery of new miRNAs. However, the lack of standardization of the sample collection procedure can affect the results

(Anwar et al., 2015).

MiRNAs have emerged as a new group of small RNAs that control gene expression at post-transcriptional level, at about 30% of human genes, modulating biological mechanisms such as inflammation, carcinogenesis, and fibrogenesis. The use of microRNAs, either alone or in combination with other biomarkers, can enable to categorize samples with respect to the liver function and evolution of HCC. However, many problems have been identified such as the lack of standardization in the protocols, which difficult the validation of the use of microRNAs in the diagnosis and therapy of cancer (Anwar et al., 2015; Hayes et al., 2016).

#### *Clinical Issues, Healthcare Team and Palliative Care*

The first symptoms suggestive of HCC are pain in the upper-right quadrant of the abdomen, the appearance of palpable masses, loss of appetite and weight loss, jaundice, ascites, edema of lower extremity, malaise, diarrhea, and fever. The growth of ascites gastrointestinal bleeding, splenomegaly, and encephalopathy can be directly related to impaired liver function (Pimenta et al., 2010; Gomes et al., 2013).

The improvement of the discovery of new therapies for cancer resulted in an increased life expectancy of the Brazilian population and increase of the demand for palliative care. However, the term palliative care still is associated many stigmas, as the dying process thus, requiring extensive reflection of the multidisciplinary team, orientation to the patients and their families (Abreu et al., 2013).

Regardless the choice treatment for HCC, it is necessary the knowledge of all the multidisciplinary healthcare team including doctors, nurses, pharmacists, dietitians, social workers and others. Therefore, each patient can be treated individualized according to the appropriate therapies based on clinical and scientific evidence from clinical trials. These professionals should evaluate the benefits and the disadvantage of the therapy for the quality of life, and give patient assistance throughout their biopsychosocial and health education. A planned course of palliative care provides the patient with counseling and management of the disorder, ensuring good intervention results. The deliveries of supportive care for patients with HCC are summarized in Table 2, including aspects such as analgesia, radiotherapy and nutrition (Sun et al., 2008; Gholz et al., 2010; Gish et al., 2012; Kumar and Panda, 2014).

The HCC has a negative impact on patients, mainly on their quality of life, such as aspects related to their physical, mental, social, emotional and spiritual well-being. The healthcare team should be able to notice any changes in the patient, both physiological and psychological. Some individualized care should be taken into account for the improve of the quality of life of the patient (Fan et al., 2010).

#### *Final Considerations*

Actually, the HCC is one of the biggest challenges in cancer management in the clinical area, due to its different molecular pathways, causing agents, and late

Nathalia Martines Tumissioli et al

diagnosis. However, the risk factors for the development of carcinogenesis have been widely investigated and identified in the recent years by modern techniques as genomic sequencing, and can contribute for the discovery of new molecular biomarkers.

The improvement can also be associated to the discovery of new drugs, such as the Sorafenib, a multikinase inhibitor, from multi-center clinical studies, which have shown a possible cure to some advanced stage patients. However, the best way to significantly reduce the incidence and mortality rates related to the HCC remains in preventing HBV and HCV infection and reducing of alcohol consumption rates.

To achieve positive goals, effective health public policies coupled with the performance of health professionals in primary care should be implemented, conducting education and prevention of these diseases. So the HCC could leave the ranking of the most malignant tumors.

In conclusion, the emergence of the HCC is the result of a multifactorial process involving cirrhosis, HBV and HCV infection, alcohol consumption, presence of NAFLD or NASH, ingestion and exposure to fungal aflatoxins, tobacco, and genetic factors. Depending on the disease stage, there are several curative and/or palliative treatments, such as surgical resection, ablation, transplantation, chemoembolization, and Sorafenib, an oral multikinase inhibitor with anti-angiogenic and anti-proliferated effects, being widely used and bringing favorable results, with good cure rates and low relapse. However, all treatments can bring side effects that impair the quality of life of the patients.

Therefore, researchers have sought new molecular biomarkers with enhanced sensitivity and reliability, such as the GP73, GPC3, OPN, and microRNAs. The microRNAs can regulate different cellular pathways, which are closely linked to the tumor progression and angiogenesis, facilitating the diagnosis, prognosis, and therapy of HCC. A better understanding of these biomarkers facilitates the diagnosis of HCC to significantly benefit patients by the discovery of new drug target and subsequent increase in the cure rate. So, further studies are needed in order to fully understand the hepatic carcinogenesis.

## References

- Abreu RM, Ferreira CS, Nasser PD et al (2013). Hepatocellular Carcinoma: The final moments of life. *J Cancer Ther*, **4**, 377-83.
- Adam R, Karam V, Delvart V, et al (2012). Evolution of indications and results of liver transplantation in Europe. A report from the European liver transplant registry (ELTR). *J Hepatol*, **57**, 675-88.
- Akamatsu N, Sugawara Y, Kokudo N (2014). Living-donor vs deceased-donor liver transplantation for patients with hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol*, **6**, 626-31.
- Alqurashi N, Hashimi SM, Wei MQ (2013). Chemical inhibitors and microRNAs (miRNA) targeting the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway: potential for novel anticancer therapeutics. *Int J Mol Sci*, **14**, 3874-900.
- Anwar SL, Lehmann U (2015). MicroRNAs: Emerging novel clinical biomarkers for hepatocellular carcinomas. *J Clin Med*, **4**, 1631-50.
- Ba MC, Long H, Tang YQ, Cui SZ (2012). GP73 expression and its significance in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a review. *Int J Clin Exp Pathol*, **5**, 874-81.
- Baines AT, Xu D, Der CJ (2011). Inhibition of Ras for cancer treatment: the search continues. *Future Med Chem*, **3**, 1787-808.
- Bartel D (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, **116**, 281-97.
- Biselli-Chicote PM, Oliveira AR, Pavarino EC, Goloni-Bertollo EM (2012). VEGF gene alternative splicing: pro and anti-angiogenic isoforms in cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*, **138**, 363-70.
- Bruix J, Sherman M (2011). Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology*, **53**, 1020-2.
- Buitrago-Molina LE, Vogel A (2012). mTor as a potential target for the prevention and treatment of hepatocellular carcinoma. *Curr Cancer Drug Targets*, **12**, 1045-61.
- Burchard J, Zhang C, Liu AM, et al (2010). microRNA-122 as a regulator of mitochondrial metabolic gene network in hepatocellular carcinoma. *Mol Syst Biol*, **6**, 1-12.
- Carethers JM, Braun J, Sands BE (2015). Genetics, genetic testing, and biomarkers of digestive diseases. *Gastroenterology*, **149**, 1131-3.
- Carr BI, Carroll S, Muszbek N, Gondek K (2010). Economic evaluation of sorafenib in unresectable hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*, **25**, 1739-46.
- Cervello M, McCubrey JA, Cusimano A et al (2012). Targeted therapy for hepatocellular carcinoma: novel agents on the horizon. *Oncotarget*, **3**, 236-60.
- Chen LP, Li C, Wen TF et al (2015). Can living donor liver transplantation offer similar outcomes to deceased donor liver transplantation using expanded selection criteria for hepatocellular carcinoma?. *Pak J Med Sci*, **31**, 763-9.
- Cheng J, Wang W, Sun C et al (2014). Meta-analysis of the prognostic and diagnostic significance of serum/plasma osteopontin in hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol*, **48**, 806-14.
- Chimparlee N, Chuaypen N, Khlaiphuengsin A et al (2015). Diagnostic and prognostic roles of serum osteopontin and osteopontin promoter polymorphisms in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*, **16**, 7211-7.
- Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, et al (2012). Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet Oncol*, **13**, e11-22.
- Dargel C, Stenberg B, Hasreiter J, et al (2015). T Cells engineered to express a T-cell receptor specific for Glypican-3 to recognize and kill Hepatoma cells in vitro and in mice. *Gastroenterol*, **149**, 1042-52.
- De Lope CR, Tremosini S, Forner A, Reig M, Bruix J (2012). Management of HCC. *J Hepato*, **56**, 75-87.
- Dong Q, Zhu X, Dai C, et al (2016). Osteopontin promotes epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma through regulating vimentin. *Oncotarget*, **7**, 12997-13012.
- Eagon P (2010). Alcoholic liver injury: Influence of gender and hormones. *World J Gastroenterol*, **16**, 1377-84.
- Elmashad N, Ibrahim WS, Mayah WW, et al (2015). Predictive value of serum insulin-like growth factor-1 in hepatocellular carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*, **16**, 613-9.
- El-Serag HB (2012). Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, **142**, 1264-73.
- European Association for the Study of the liver (2012). European organization for research and treatment of cancer.

- EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, **56**, 908-43.
- Fan SY, Eiser C, Ho MC (2010). Health-related quality of life in patients with hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol*, **8**, 559-64.
- Fátima LA, Papa PC (2010). Vascular endothelial growth factor (VEGF): transcriptional and postranscriptional regulation. *Rev Biol*, **4**, 22-7.
- Feng M, Ho M (2014). Glypican-3 antibodies: a new therapeutic target for liver cancer. *FEBS Lett*, **588**, 377-82.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*, **136**, 359-86.
- Fish JE, Srivastava D (2009). MicroRNAs: opening a new vein in angiogenesis research. *Sci Signal*, **2**, 1-7.
- Forner A, Llovet JM, Bruix J (2012). Hepatocellular carcinoma. *Lancet*, **379**, 1245-55.
- Forner A, Gilabert M, Bruix J, Raoul JL (2014). Treatment of intermediate-stage hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Clin Oncol*, **11**, 525-35.
- Ge YY, Shi Q, Zheng ZY, et al (2014). MicroRNA-100 promotes the autophagy of hepatocellular carcinoma cells by inhibiting the expression of mTOR and IGF-1R. *Oncotarget*, **5**, 6218-28.
- Gholz R, Engstrom C (2010). Managing Hepatocellular Carcinoma: The Nurse's Role. *Federal Practitioner Supplement*, **27**, 1-6.
- Gish RG, Lencioni R, Di Bisceglie AM, Raoul JL, Mazzaferro V (2012). Role of the multidisciplinary team in the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, **6**, 173-85.
- Gomes MA, Priolli DG, Tralhão JG, Botelho MF (2013). Hepatocellular carcinoma: epidemiology, biology, diagnosis, and therapies. *Rev Assoc Med Bras*, **59**, 514-24.
- Gramantieri L, Fornari F, Callegari E, et al (2008). MicroRNA involvement in hepatocellular carcinoma. *J Cell Mol Med*, **12**, 2189-204.
- Guy J, Peters M (2013). Liver disease in women: The influence of gender on epidemiology, natural history, and patient outcomes. *Gastroenterol Hepatol*, **9**, 633-9.
- Han K, Kim J, Ko G, Gwon D, Sung K (2016). Treatment of hepatocellular carcinoma with portal venous tumor thrombosis: A comprehensive review. *World J Gastroenterol*, **22**, 407-16.
- Haruyama Y, Yorita K, Yamaguchi T, et al (2015). High preoperative levels of serum glypican-3 containing N-terminal subunit are associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after partial hepatectomy. *Int J Cancer*, **137**, 1643-51.
- Haruyama Y, Kataoka H (2016). Glypican-3 is a prognostic factor and an immunotherapeutic target in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, **22**, 275-83.
- Hayes CN, Chayama K (2016). MicroRNAs as biomarkers for liver disease and hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Sci*, **17**, 280.
- Hoshida Y, Nijman SM, Kobayashi M, et al (2009). Integrative transcriptome analysis reveals common molecular subclasses of human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, **69**, 7385-92.
- Huang CS, Yu W, Cui H, et al (2015). Increased expression of miR-21 predicts poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, **8**, 7234-8.
- Jameson JL, Longo DL (2015). Precision medicine-personalized, problematic, and promising. *N Engl J Med*, **37**, 2229-34.
- Jelic S, Sotiropoulos GC (2010). ESMO guidelines working group. *Ann Oncol*, **21**, 59-64.
- Jemal A, Bray F, Center M, et al (2011). Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, **61**, 69-90.
- Jung HJ, Suh Y (2015). Regulation of IGF -1 signaling by microRNAs. *Front Genet*, **5**, 1-13.
- Kang TW, Rhim H (2015). Recent advances in tumor ablation for hepatocellular carcinoma. *Liver Cancer*, **4**, 176-87.
- Kedmi M, Ben-Chetrit N, Körner C, et al (2015). EGF induces microRNAs that target suppressors of cell migration: miR-15b targets MTSS1 in breast cancer. *Sci Signal*, **8**, 1-12.
- Kumar M, Panda D (2014). Role of supportive care for terminal stage hepatocellular carcinoma. *J Clin Exp Hepatol*, **4**, 130-9.
- Law PT, Ching AK, Chan AW, et al (2012). MiR-145 modulates multiple components of the insulin-like growth factor pathway in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*, **33**, 1134-41.
- Lencioni R (2012). Chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. *Liver Cancer*, **1**, 41-50.
- Li C, Deng M, Hu J, et al (2016). Chronic inflammation contributes to the development of hepatocellular carcinoma by decreasing miR-122 levels. *Oncotarget*, **7**, 17021-34.
- Li W, Wang J, Chen QD, et al (2013). Insulin promotes glucose consumption via regulation of miR-99a/mTOR/PKM2 pathway. *PLoS One*, **8**, 1-8.
- Liao SF, Yang HI, Lee MH, Chen CJ, Lee WC (2012). Fifteen-year population attributable fractions and causal pies of risk factors for newly developed hepatocellular carcinomas in 11,801 men in Taiwan. *PLoS One*, **7**, 1-7.
- Liese J, Peveling-Oberhag J, Doering C, et al (2016). A possible role of microRNAs as predictive markers for the recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Transpl Int*, **29**, 369-80.
- Liu M, Jiang L, Guan XY (2014). The genetic and epigenetic alterations in human hepatocellular carcinoma: a recent update. *Protein Cell*, **5**, 673-91.
- Liu YR, Tang RX, Huang WT (2015). Long noncoding RNAs in hepatocellular carcinoma: Novel insights into their mechanism. *World J Hepatol*, **7**, 2781-91.
- Liu Z, Wang J, Mao Y, Zou B, Fan X (2016). MicroRNA-101 suppresses migration and invasion via targeting vascular endothelial growth factor C in hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Lett*, **11**, 433-8.
- Lok AS, Sterling RK, Everhart JE, et al (2010). Des-gamma-carboxy prothrombin and alpha-fetoprotein as biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol*, **138**, 493-502.
- Maida M, Orlando E, Cammà C, Cabibbo G (2014). Staging systems of hepatocellular carcinoma: a review of literature. *World J Gastroenterol*, **20**, 4141-50.
- Mao Y, Yang H, Xu H, et al (2010). Golgi protein 73 (GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma. *Gut*, **59**, 1687-93.
- Marquardt J, Andersen J (2012). Next-generation sequencing: application in liver cancer past, present and future?. *Biology*, **1**, 383-94.
- Mazzanti R, Arena U, Tassi R (2016). Hepatocellular carcinoma: Where are we?. *World J Exp Med*, **6**, 21-36.
- McGlynn K, London WT (2011). The global epidemiology of hepatocellular carcinoma, present and future. *Clin Liver Dis*, **15**, 1-22.
- Merkenschlager M, Marçais A (2015). microRNAs calibrate T cell responses by regulating mTOR. *Oncotarget*, **33**, 34059-60.
- Michelotti GA, Machado MV, Diehl AM (2013). NAFLD, NASH and liver cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, **10**, 656-65.
- Mínguez B, Lachenmayer A (2011). Diagnostic and prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma. *Dis*

Nathalia Martinez Tunissiolli et al

- Markers*, **31**, 181-90.
- Mittal S, El-Serag HB (2013). Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population. *J Clin Gastroenterol*, **47**, 2-6.
- Moeini A, Cornella H, Villanueva A (2012). Emerging signaling pathways in hepatocellular carcinoma. *Liver Cancer*, **1**, 83-93.
- Moon WS, Rhyu KH, Kang MJ, et al (2003). Overexpression of VEGF and angiopoietin 2: a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma?. *Mod Pathol*, **16**, 552-7.
- Morimoto M, Numata K, Nozaki A, et al (2012). Novel Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein: a biomarker of hepatocellular carcinoma recurrence in patients with low alpha-fetoprotein concentrations. *Int J Clin Oncol*, **17**, 373-9.
- Okada H, Honda M, Campbell JS, et al (2015). Inhibition of microRNA-214 ameliorates hepatic fibrosis and tumor incidence in platelet-derived growth factor C transgenic mice. *Cancer Sci*, **106**, 1143-52.
- Orman ES, Odena G, Bataller R (2013). Alcoholic liver disease: pathogenesis, management, and novel targets for therapy. *J Gastroenterol Hepatol*, **28**, 77-84.
- Pimenta JR, Massabki OS (2010). Hepatocellular carcinoma: a clinical outlook. *Rev Bras Clin Med*, **8**, 59-67.
- Pocha C, Kolly P, Dufour JF (2015). Nonalcoholic fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma: A problem of growing magnitude. *Semin Liver Dis*, **35**, 304-17.
- Rahimi RS, Trotter JF (2015). Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: outcomes and treatment options for recurrence. *Ann Gastroenterol*, **28**, 323-30.
- Ryan MJ, Willatt J, Majdalany BS, et al (2016). Ablation techniques for primary and metastatic liver tumors. *World J Hepatol*, **8**, 191-9.
- Schlachterman A, Craft Jr WW, Hilgenfeldt E, et al (2015). Current and future treatments for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, **21**, 8478-91.
- Schütte K, Schulz C, Link A, Malfertheiner P (2015). Current biomarkers for hepatocellular carcinoma: Surveillance, diagnosis and prediction of prognosis. *World J Hepatol*, **7**, 139-49.
- Setshedi M, Wands JR, Monte SM (2010). Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxid Med Cell Longev*, **3**, 178-85.
- Shao Y, Hsu C, Huang C et al (2011). Use of plasma angiogenesis-related factors to investigate the association of interleukin 8 and interleukin 6 levels with efficacy of sorafenib-based antiangiogenic therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). *J Clin Oncol*, **29**, 199-203.
- Shih W, Chang H, Liaw Y, et al (2012). Influences of tobacco and alcohol use on hepatocellular carcinoma survival. *Int J Cancer*, **131**, 2612-21.
- Starley B, Calcagno C, Harrison S (2010). Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: A weighty connection. *Hepatology*, **51**, 1820-32.
- Su W, Lee K, Yeh Y et al (2010). Association of circulating insulin-like growth factor 1 with hepatocellular carcinoma: one cross-sectional correlation study. *J Clin Lab Anal*, **24**, 195-200.
- Sun VC, Sama L (2008). Symptom management in hepatocellular carcinoma. *Clin J Oncol Nurs*, **2**, 759-66.
- Thurnherr T, Mah WC, Lei Z, et al (2016). Differentially expressed miRNAs in hepatocellular carcinoma target genes in the genetic information processing and metabolism pathways. *Sci Rep*, **6**, 20065.
- Trichopoulos D, Bamia C, Lagiou P, et al (2011). Hepatocellular carcinoma risk factors and disease burden in a European cohort: a nested case-control study. *J Natl Cancer Inst*, **103**, 1686-95.
- Villanueva A, Minguez B, Forner A, Reig M, Llovet JM (2010). Hepatocellular carcinoma: novel molecular approaches for diagnosis, prognosis and therapy. *Annu Rev Med*, **61**, 317-28.
- Waisberg J, Saba G (2015). Wnt/ $\beta$ -catenin pathway signaling in human hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol*, **7**, 2631-35.
- Waller LP, Deshpande V, Pyrsopoulos N (2015). Hepatocellular carcinoma: A comprehensive review. *World J Hepatol*, **7**, 2648-63.
- Wang N, Wang Q, Shen D et al (2016). Downregulation of microRNA-122 promotes proliferation, migration, and invasion of human hepatocellular carcinoma cells by activating epithelial-mesenchymal transition. *Oncol Targets Ther*, **9**, 2035-47.
- Wen Y, Jeong S, Xia Q, Kong X (2016). Role of osteopontin in liver diseases. *Int J Biol Sci*, **12**, 1121-8.
- Xu Y, Huang J, Ma L, et al (2016). MicroRNA-122 confers sorafenib resistance to hepatocellular carcinoma cells by targeting IGF-1R to regulate RAS/RAF/ERK signaling pathways. *Cancer Lett*, **371**, 171-81.
- Yang JD, Roberts LR (2010). Hepatocellular carcinoma: A global view. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, **7**, 448-58.
- Zhang Y, Guo X, Xiong L, et al (2014). Comprehensive analysis of microRNA-regulated protein interaction network reveals the tumor suppressive role of microRNA-149 in human hepatocellular carcinoma via targeting AKT-mTOR pathway. *Mol Cancer*, **13**, 253.
- Zucman-Rossi J, Villanueva A, Nault JC, Llovet JM (2015). Genetic landscape and biomarkers of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, **149**, 1226-39.

### 3.2. ARTIGO CIENTÍFICO II

Aspectos clínicos, epidemiológicos e histopatológicos de pacientes com Carcinoma Hepatocelular submetidos a transplante hepático em um Centro de Referência

Clinical, epidemiological and histopathological aspects of patients with Hepatocellular Carcinoma undergoing liver transplantation at a Reference Center

Nathalia Martines Tunissioli, Márcia Maria Urbanin Castanhole-Nunes, Érika Cristina Pavarino, Renato Ferreira da Silva, Rita de Cássia Martins Alves da Silva, Eny Maria Goloni-Bertollo.

Corresponding author: Eny Maria Goloni-Bertollo. Av. Brigadeiro Faria Lima, nº 5416.

Vila São José. São José do Rio Preto - SP. Brazil. CEP: 15090-000. Telephone number: +55 17 3201 5720, e-mail: eny.goloni@famerp.br

## RESUMO

**Introdução:** O Carcinoma Hepatocelular (CHC) é o câncer primário do fígado com altas taxas de incidência e mortalidade devido ao seu diagnóstico tardio. Seu desenvolvimento resulta da interação entre fatores ambientais e genéticos. A Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA) tem apresentado crescimento importante tornando-se uma das principais etiologias para doença hepática, CHC e para transplante de fígado. O objetivo deste estudo foi avaliar os aspectos epidemiológicos, histopatológicos e clínicos de pacientes transplantados por CHC, com ênfase em na etiologia DHGNA. **Métodos:** Foram avaliados todos os pacientes com CHC submetidos ao transplante hepático no período de 2010 a 2016. As variáveis analisadas foram: idade, gênero, etilismo, tabagismo, as causas que levaram ao transplante de fígado, dosagem de alfafetoproteína (AFP), aspectos histológico, índice de recidiva e sobrevida. **Resultados:** De 60 pacientes incluídos neste estudo, 48 (80%) eram homens com média de idade de  $58,3 \pm 10,6$  anos. Todos os pacientes eram cirróticos. As causas que levaram ao transplante foram: 56,6% dos pacientes com Vírus Hepatite C (VHC), dos quais 20% associavam o vírus com o álcool, 20% apresentavam Vírus Hepatite B (VHB), 50,9% Doença Hepática Alcoólica (DHA) e 25% DHGNA. Destes, oito foram diagnosticados pré-transplante e sete eram portadores de DHGNA sem diagnóstico prévio. Apenas um (1,66%) paciente era portador de doença genética, a hemocromatose. **Conclusão:** Há predomínio de pacientes do gênero masculino, com idade média de  $58,3 \pm 10,6$  anos. A cirrose é predominante em pacientes transplantados com CHC, a DHA e o VHC são os agentes etiológicos mais comuns encontrados no estudo. A alta prevalência de DHGNA na amostra estudada corrobora com dados da literatura de que há um aumento desta etiologia no mundo.

**Palavras-chave:** Câncer de Fígado, Doença Hepática Gordurosa não Alcoólica, Transplante Hepático, Epidemiologia, Fatores de Risco.

## **INTRODUÇÃO**

O Carcinoma hepatocelular (CHC), é o câncer primário do fígado e o 5º tipo de câncer mais diagnosticado em homens no mundo [1,2]. Em 2012, ocorreram aproximadamente 782000 novos casos de câncer de fígado no mundo e 745000 mortes. As taxas mais elevadas de CHC são observadas na Ásia Oriental e África Subsariana [3].

A carcinogênese no CHC é decorrente da interação entre fatores ambientais, genéticos e de outros cofatores, dentre os quais estão a cirrose hepática, infecção pelo vírus da hepatite B (VHB) ou C (VHC), etilismo, ingestão de aflatoxinas por meio de alimentos contaminados e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) [4] (Figura 1, Tunissiolli et al., 2017). Está última tem sido uma das causas mais comuns de doença hepática e a terceira causa de indicação para transplante hepático nos Estados Unidos, sendo ultrapassada apenas pelo VHC e cirrose relacionada à Doença hepática alcoólica (DHA) [5].

A DHGNA é conhecida por ser a manifestação hepática da síndrome metabólica, sendo definida quando há três ou mais fatores: IMC  $\geq 25$  cm/m<sup>2</sup>, triglicerídeos >150 mg/dL, baixos níveis de colesterol HDL (<40mg/dL em homens e <50 mg/dL em mulheres), hipertensão arterial e diabetes [6, 7].

O diagnóstico precoce do CHC é importante para a sobrevida do paciente. No paciente cirrótico o diagnóstico é não invasivo, baseado em técnicas de imagem por ressonância magnética e tomografia computadorizada com contraste, quando os achados não são conclusivos, faz-se necessário o diagnóstico histopatológico (biópsia) [8]. A avaliação histopatológica caracteriza e diferencia as biópsias hepáticas em lesões malignas e benignas, dentre elas destaca-se a classificação de Edmondson-Steiner, que classifica o CHC de acordo com o grau de diferenciação celular, correspondendo aos graus I, II, III e IV [9, 10].

Atualmente existem diferentes tratamentos para CHC e sua escolha leva em conta o estadio do câncer, função hepática, comorbidades do paciente e os recursos disponíveis [11].

A classificação Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) categoriza os pacientes em fase precoce, inicial, intermediária, avançada e terminal. Nos estadios iniciais, o transplante hepático, ressecção e a ablação são considerados opções curativas para os pacientes. Para o estadio intermediário é indicado a quimioembolização, enquanto que pacientes em estágio avançado podem ser tratados com inibidores multiquinase, como o Sorafenib e Regorafenib. Pacientes em fase terminal são submetidos a cuidados paliativos para melhoria da qualidade de vida [11,12,14-16].

Em razão da alta prevalência de CHC em todo o mundo, o diagnóstico tardio, altas taxas de mortalidade e crescimento do número de fatores de risco, esse manuscrito teve como objetivo avaliar aspectos clínicos, epidemiológicos e histopatológicos de pacientes com Carcinoma Hepatocelular submetidos a transplante hepático. Considerando a crescente prevalência da DHGNA como causa da doença hepática crônica, esta etiologia foi enfatizada neste estudo.

## **MÉTODOS**

Realizou-se um estudo retrospectivo, descritivo e transversal, baseado em dados analisados de prontuários médicos eletrônico de pacientes com Carcinoma Hepatocelular submetidos a transplante hepático no período de 2010 a 2016, em um Centro Universitário de Referência e, portanto que engloba uma grande região do nosso país. Um formulário próprio foi previamente estabelecido do Serviço de Transplante de Fígado para coleta de dados clínicos, epidemiológicos e histopatológicos. Foram incluídos no estudo todos os pacientes com diagnóstico de CHC submetidos a transplante hepático consecutivamente nesta Instituição, no período de 2010 a 2016. Foram excluídos do estudo aqueles que não obedeceram à condição de CHC como diagnóstico.

Estudo aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, FAMERP, parecer nº 6228/2011 com dispensa do “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)”.

Foram analisados dados clínicos, epidemiológicos e histopatológicos de acordo com as variáveis: gênero, idade, etilismo, tabagismo, diabetes mellitus, presença de cirrose, e classificados quanto à etiologia da doença em: VHB, VHC, DHA, hepatite autoimune (HAI), portador de doença genética, índice de recidiva, sobrevida e DHGNA. Os pacientes diagnosticados com DHGNA obedeceram aos seguintes critérios: ausência ou consumo leve de álcool, ausência de exposições a potenciais hepatotoxinas ou medicamentos associados e síndrome metabólica (SM: níveis baixos de HDL colesterol, triglicerídeos >150mg/dL, hipertensos, diabéticos e pacientes com  $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) [17] (Tabela 3). Estes mesmos critérios foram procurados nos pacientes que não tinham diagnóstico de DHGNA para verificar a possibilidade de DHGNA não diagnosticada previamente uma vez que a cirrose criptogênica (CC) pode mascarar este diagnóstico [18, 19].

Não foi possível obter as medidas de circunferência abdominal por se tratar de um estudo retrospectivo e dificultar a coleta dessa característica, que não consta em todos os prontuários. A maioria dos sistemas de classificação de síndrome metabólica utiliza o tamanho da circunferência abdominal em seus critérios. Assim, optamos por incluir a definição da AACE (*American Association of Clinical Endocrinologists*) que utiliza o índice de massa corporal (IMC) em vez de circunferência abdominal [17].

Os dados dos prontuários foram analisados em planilha Microsoft Office Excel 2010, por meio de estatística descritiva, exposição de gráficos e tabelas contendo o cálculo dos percentuais das variáveis apresentadas.

O período da sobrevida foi calculado entre a intervenção cirúrgica e a data da última consulta ou óbito. Para o cálculo da sobrevida realizou-se o método estimativo de Kaplan-

Meier utilizando o programa Stats Direct Statistical Software version 2.0.0 (England: StatsDirect Ltd), valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## **RESULTADOS**

No período do estudo foram realizados 236 transplantes de fígado, 60 deles foram a pacientes com CHC (25,4%). Destes 48 homens (80%) e 12 mulheres (20%). A média geral de idade foi de 58,3 anos  $\pm 10,6$ . Nos homens a média de idade foi de 57,3 anos  $\pm 10,6$  enquanto nas mulheres a média foi de 62 anos  $\pm 10,5$ .

Com relação aos dados demográficos, os pacientes envolvidos neste estudo residem à maioria na Região Sudeste (85%) e o restante nas regiões Região Centro-Oeste (5%), Região Nordeste (5%) e Região Sul (5%) do Brasil. Para o cálculo do percentual de análise de cada variável, foram excluídos apenas os pacientes que não apresentavam todos os dados no seu prontuário, como na DHA (85%) e tabagismo (75%). A tabela 1 mostra as características clínicas e demográficas dos pacientes.

Inicialmente oito pacientes tinham diagnóstico de DHGNA. Com investigação detalhada sobre os fatores de risco da síndrome metabólica, foi possível classificar mais sete pacientes com a DHGNA, que estavam sem diagnóstico prévio. Estes pacientes apresentavam três ou mais critérios que indicam síndrome metabólica e podem ser classificados como DHGNA. Nos pacientes não portadores de DHGNA a média do IMC foi de 25,1 kg/m<sup>2</sup>, bem abaixo das médias apresentadas pelos pacientes notificados e subnotificados por DHGNA, com IMC de 29,3 kg/m<sup>2</sup> e 31,5 kg/m<sup>2</sup>, respectivamente.

O diagnóstico histopatológico foi descrito de acordo com a classificação de Edmondson-Steiner em 53 pacientes e em apenas sete amostras não foi possível obter a classificação, devido à característica extensamente necrótica do tumor, que inviabilizou a

mensuração do grau de diferenciação celular. Foram caracterizados como grau  $\leq$  II de Edmondson-Steiner 58,5% e grau  $\geq$  III 41,5% (Tabela 2).

Dos 42 pacientes para os quais foi realizada a dosagem de alfafetoproteína (AFP), 37 apresentaram níveis inferiores a 20 ng/mL (88,09%); dois tiveram níveis entre 20 ng/mL a 55 ng/mL (4,76%) e três apresentaram níveis de AFP maiores que 150 ng/mL (7,14%).

A taxa de recidiva de CHC pós-transplante foi observada em dois pacientes (3,3%), e, em ambos, o sítio de recorrência tumoral foi o fígado. A média entre o período da data do transplante e o diagnóstico da recidiva tumoral foi de 14,1 meses para um paciente e 9,5 meses para o outro, e ambos evoluíram a óbito.

Referente à sobrevida utilizou-se o método de Kaplan-Meier com a estimativa de sobrevida média de aproximadamente 12 meses e obtiveram-se os seguintes valores: 66% para pacientes com DHGNA e 69% para pacientes que não tinham a DHGNA com valor de  $p$  log-rank ( $p=0.712$ ). Estes resultados referentes à sobrevida não foram significantes entre as variáveis analisadas e, portanto, estas não influenciaram a sobrevida após os transplantes em pacientes com CHC.

## **DISCUSSÃO**

Identificamos entre os pacientes transplantados por CHC um perfil epidemiológico e clínico semelhante ao relatado na literatura. Os pacientes do gênero masculino foram mais frequentes (80%) corroborando com dados do Globocan [3]. Essa predominância em relação ao gênero masculino está provavelmente relacionada à maior exposição dos homens a fatores de risco, como etilismo, hepatites virais e fatores hormonais [20, 21]. Em centros no Brasil, Carrilho et al., (2010) realizaram estudo multicêntrico com 1405 pacientes e constataram que 78% eram do gênero masculino. Outro estudo, também realizado no Brasil, durante um período de 12 anos, encontraram que 84,2% dos pacientes com CHC eram homens [22]. Em

estudo recente realizado na Arábia Saudita, os homens eram aproximadamente 3/4 da amostra estudada de CHC (n=128; 77,3%) [23]. Dessa maneira, pode-se afirmar a predominância do gênero masculino entre pacientes com CHC.

A média de idade encontrada neste estudo foi de 58,3 anos (57,3 anos para homens e 54,2 anos para mulheres). Outros estudos epidemiológicos brasileiros relatam a média de idade de 57 anos e 59 anos [24,25]. Em estudo multicêntrico realizado na Turquia descreveram que média de idade dos indivíduos analisados com CHC foi de 62 anos [26]. A literatura tem mostrado que a incidência do CHC aumenta com a idade, no entanto a hepatocarcinogênese em regiões onde a prevalência do VHB é maior tem acometido faixas etárias entre 45-60 anos, em razão à epidemia de infecção pelo VHB, por meio de transmissão vertical, importante fator de risco para o desenvolvimento do CHC sem cirrose em indivíduos mais jovens [27, 28].

Estudos realizados no Ocidente têm apontado outros importantes fatores de risco para o desenvolvimento do CHC como a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), diabetes mellitus e síndrome metabólica [28]. A DHGNA afeta atualmente cerca de 1/3 da população adulta Norte Americana e em conjunto com outros co-fatores como obesidade, diabetes mellitus e esteatose, promove injúria nos hepatócitos progredindo em fibrose, cirrose e conseqüentemente CHC [ 29, 30]. A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é uma condição clínico-patológica de caráter espectral e progressivo na qual ocorre excessivo acúmulo de gordura nos hepatócitos, têm-se a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) que representa a forma inflamatória e fibrótica progredindo para cirrose [18, 7].

Entre os 236 pacientes transplantados no período do estudo, 60 pacientes foram transplantados com CHC e dentre eles oito tinham o diagnóstico de DHGNA como uma das causas que levaram ao transplante, enquanto sete tinham DHGNA não diagnosticada. Este resultado chama atenção para uma parcela crescente de pacientes com alterações metabólicas

peculiares e que necessitam de cuidados específicos a serem implantados, incluindo aspectos de políticas públicas de saúde. Chamamos atenção que o número de pacientes com DHGNA não diagnosticada aumentou de 13,3% para 25% o número total de pacientes com DHGNA nesta amostra de transplantados com CHC, apontando para o potencial de alterações metabólicas e suas consequências pré e pós-transplante, que poderia passar despercebidas sem este diagnóstico.

Somboon et al., (2014) em estudo realizado com 308 pacientes com CHC na Ásia encontraram uma taxa de 2,4% com DHGNA [31]. Outro estudo apresentou 3% de pacientes com essa etiologia para CHC [25]. Neste estudo, 25% dos pacientes apresentavam DHGNA, destacando o aumento do percentual desta etiologia nos últimos anos. Estudos em países desenvolvidos, como os EUA, por exemplo, tem justificado a epidemia de obesidade, síndrome metabólica e diabetes como fatores contribuintes a este aumento [12, 32]. Estudos mostram as modificações das causas que levam ao transplante de fígado e o aumento significativo da DHGNA, assim como entre os que apresentam CHC [5, 33].

A cirrose de qualquer etiologia é um importante fator de risco para a hepatocarcinogênese, estando associada a aproximadamente 80%-90% dos casos de CHC em todo o mundo [28,34,35]. Carrilho et al. (2010) encontraram cirrose em 98% dos casos, avaliando 1405 pacientes em várias regiões do Brasil. De acordo com Somboon et al., (2014) na Tailândia, de 125 pacientes com CHC estudados, 90% apresentavam cirrose [31]. Em nosso estudo, a cirrose estava presente em 100% dos pacientes, confirmando a alta incidência da cirrose como fator de risco.

A cirrose mascara as variáveis da síndrome metabólica e por isso o diagnóstico de DHGNA pré-transplante pode passar despercebido. Malik et al., (2009) encontraram um número significativo de pacientes com cirrose por DHGNA que tinham características de SM, estes foram significativamente mais obesos e apresentaram maior incidência de diabetes e

hipertensão pré-transplante, quando comparados ao controle [36]. A desnutrição mascara a obesidade assim como a dislipidemia e SM [37, 38]. A vasodilatação periférica na fase avançada da cirrose mascara a hipertensão arterial, inicialmente reduzindo a necessidade de anti-hipertensivos levando progressivamente a hipotensão [39].

As taxas da DHGNA são subestimadas devido à dificuldade de diagnóstico por ser uma doença assintomática sendo implicada como causa de cirrose, devido ao desaparecimento dos sinais histológicos e o diagnóstico realizado por achados clínico-laboratoriais em check-ups anuais e classificado apenas como síndrome metabólica [40- 42].

A síndrome metabólica é representada por uma associação de fatores de risco, relacionados à hipertensão arterial sistêmica, obesidade central, resistência à insulina e dislipidemia que são encontrados em 25,7% dos pacientes na amostra estudada. Com o aumento crescente da síndrome metabólica nos EUA foi realizado estudo com 3649 casos de CHC e 743 de Colangiocarcinoma intra-hepático a fim de avaliar a associação entre a síndrome metabólica e o desenvolvimento destes tipos de cânceres hepáticos. O estudo concluiu que a síndrome metabólica é um importante fator de risco para estes cânceres de fígado [43]. Dessa maneira, a notificação dos casos de DHGNA poderia contribuir para um tratamento mais efetivo quando está associado a outras causas de cirrose. Ressaltamos que há aumento desta etiologia no mundo e a necessidade do rastreamento dos sinais e sintomas pré-transplante é extremamente relevante.

A hiperinsulinemia e resistência insulínica são principais fatores causais da patogênese da síndrome metabólica e DHGNA [44, 45]. Estudos demonstraram que pacientes com pâncreas gorduroso apresentam maiores taxas de síndrome metabólica quando comparados aqueles sem esteatose pancreática [46, 47].

Dentre os fatores envolvidos com a síndrome metabólica, o diabetes tem sido encontrado em altas taxas em pacientes com DHGNA e estes têm uma maior mortalidade

secundária às doenças cardiovasculares quando comparado a pacientes com DHGNA não diabéticos [48, 6, 33]. Em relação à progressão da DHGNA, destaca-se a teoria dos múltiplos *hits*: como condição inicial tem-se desenvolvimento da esteatose hepática (*first hit*), seguida de uma sucessão de eventos como estresse oxidativo, produção de endotoxinas provenientes do intestino e inflamação (*multiple hits*). Assim, este fígado esteatótico se torna vulnerável aos *multiple hits*, resultando em lesões nos hepatócitos, inflamação, fibrose e consequentemente CHC [49, 50].

Além das condições metabólicas associadas à DHGNA, há também os fatores genético-metabólicos hereditários como doenças de depósito de glicogênio, lipodistrofias, tirosinemia, doença de Weber-Christian e doença de Wilson [42, 7]. Os metabólitos resultantes das drogas também são fatores de risco para o desenvolvimento da esteatose hepática, dentre as mais hepatotóxicas estão metotrexato, amiodarona e tamoxifeno [42, 6]. Alguns procedimentos cirúrgicos estão associados à DHGNA como, *bypass* jejunoileal, gastroplastias e nutrição parenteral total [45].

Em relação à etiologia da doença hepática, os metabólitos do álcool são responsáveis pela formação de adutos tóxicos aos hepatócitos, resultantes em defeitos na reparação do DNA e estresse oxidativo, tornando-se importante fator de risco para a cirrose e consequente desenvolvimento de CHC [51]. No presente estudo 69,3% dos indivíduos analisados eram etilistas (consumo  $\geq 80$ g de álcool/dia) e a doença hepática alcoólica (DHA) estava presente em 50,9% dos casos. Um estudo multicêntrico realizado na Espanha constatou que 30% dos indivíduos analisados eram etilistas [52]. Outro estudo epidemiológico de pesquisadores na Tailândia relatou que 26% dos pacientes tinham DHA como etiologia para o CHC [31]. Chama à atenção em nosso estudo às taxas de DHA encontradas foram maiores que o dobro quando comparado com os demais estudos. Na Inglaterra as taxas de transplante, admissões

hospitalares e mortalidade aumentaram, e a DHA têm tido contribuição importante nesta estatística [53, 54].

Outros fatores de risco importantes para o desenvolvimento da cirrose e CHC são as infecção crônicas pelos vírus VHC e VHB, na qual a prevalência varia de acordo com a região. As estimativas atribuídas às hepatites virais são de 60% VHC na Europa e Estados Unidos e 60% VHB na África e Ásia [55]. Um estudo realizado na Alemanha encontrou que 20,5% dos casos com CHC tinham VHC [56]. Estudo multicêntrico realizado na Turquia relatou que 21,3% dos pacientes tinham sorologia positiva para VHC, tornando-se etiologia precursora para o CHC nestes casos [26]. No presente estudo 56,6% dos indivíduos analisados apresentaram o VHC e 20% o VHB, corroborando com os dados obtidos por Carrilho et al., (2010), em que foram encontrados 54% e 16% para o VHC e VHB, respectivamente, evidenciando que no Brasil a doença viral mais frequente é a infecção por VHC [25].

Atualmente, existem variados marcadores sorológicos para a detecção e monitoramento do CHC, entre os mais utilizados está AFP, entretanto apresenta maior especificidade do que sensibilidade [57, 58]. No presente estudo 88,09% (n=37) apresentaram níveis normais de alfafetoproteína (< 20 ng/mL), 4,76% apresentaram taxas entre 20 e 55 ng/mL e 7,14% dos casos tinham valores de AFP > 150 ng/mL. De acordo com dados da literatura, 29,2% dos casos analisados de pacientes com CHC, apresentavam níveis normais de AFP (< 20 ng/mL), concluindo que este não seria um bom marcador diagnóstico [22]. Estudo realizado na Turquia com pacientes com CHC, verificou-se que 38,9% apresentaram níveis de AFP < 20 ng/mL e apenas 21,7% obtiveram níveis > 400 ng/mL, evidenciando também baixa sensibilidade do marcador na população turca com CHC [26]. O alto índice de normalidade de AFP do presente estudo reforça o dado que a AFP seja um marcador sorológico de baixa sensibilidade.

A Classificação de Edmondson Steiner mostrou que a maioria dos pacientes (58,5%, n=31) pertencia ao grau intermediário ( $\leq$  II). Para a análise histológica, a necrose e a hemorragia lesionam o tecido impossibilitando a classificação [9]. Boussouar et al., (2016) devido a necrose tumoral não conseguiram classificar quatro amostras de CHC de pacientes em lista de espera para transplante [27]. No presente estudo devido à área tumoral extensamente necrótica, foi inviável classificar sete amostras (11,7%) dos pacientes com CHC. O grau de diferenciação histológica do CHC tem implicações clínicas relacionadas ao maior potencial de gravidade e risco de recorrência do câncer [59, 60]. A recorrência do CHC pós-transplante, é relatada com taxas entre 10-20% sendo uma grande preocupação clínica [32]. Neste estudo encontramos que 3,33% (n=2) dos pacientes tiveram recidiva de CHC. Sabe-se que há relação entre a atividade celular proliferativa no fígado cirrótico pós-ressuscado e a ocorrência ou recorrência de CHC [61].

Por ser um dos tumores malignos com maior letalidade e com uma sobrevida curta, o CHC é considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) um importante problema de Saúde Pública [3]. Em estudo multicêntrico recente no Brasil, a AFP > 200 ng/mL e a não realização de quimioembolização foi associada a menor sobrevida [62]. No Brasil, França et al., (2004) encontraram uma sobrevida de 84 e 74% no 1º e 5º anos após o transplante hepático, respectivamente, dados iguais aos encontrados em estudo na Europa, onde após um seguimento de 31 meses, a sobrevivência dos pacientes foi de 84%,74% e 74% no 1º, 3º e 5º anos respectivamente [63, 64]. No presente estudo, os resultados referentes à sobrevida não foram significantes entre as variáveis analisadas.

Mesmo com os avanços científicos e implantação de ações para detecção precoce do CHC não houve melhora na taxa de sobrevida nas últimas três décadas, devido à maioria dos pacientes começar a apresentar sintomas somente em estágio avançado, tornando os tratamentos limitados [65]. Assim, estudos de câncer de fígado são importantes para o melhor

conhecimento e aprimoramento dos fatores de risco, das medidas preventivas e de métodos diagnósticos.

## **CONCLUSÃO**

A prevalência de CHC entre os transplantados é de 25,4%, com média de idade de 58,3 anos e com predomínio do gênero masculino. Os fatores de risco mais frequentes são cirrose hepática, VHC, DHA e DHGNA. A taxa de DHGNA entre os pacientes transplantados com CHC aumentou de 13,3% para 25% ao considerarmos o diagnóstico de DHGNA mascarado pela cirrose, este dado mostra que a DHGNA é subestimada quando da realização dos transplantes. Este resultado reforça que a DHGNA é considerada como a manifestação hepática da síndrome metabólica, portanto o monitoramento desses componentes (níveis de glicemia, triglicerídeos e colesterol HDL, obesidade e hipertensão arterial) é importante para o rastreamento precoce da DHGNA. Estudos prospectivos e multicêntricos são relevantes para encontrar novos métodos diagnósticos para a síndrome metabólica e DHGNA, primordiais para assegurar o progresso na longevidade dos transplantados de fígado.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Dr. André Rodrigueiro C. P. Oliveira pelas contribuições na pesquisa. Ao Dr. Dalísio de Santi Neto, médico chefe do setor de Patologia do Hospital de Base de São José do Rio Preto pelas valiosas análises, classificações histológicas, além de sua atenção e disponibilidade. À enfermeira Helen C.C. Felício pela colaboração na coleta dos dados e pelo acolhimento.

## REFERÊNCIAS

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61:69-90. doi: 10.3322/caac.20107
2. El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol* 2012;142:1264-1273. doi:10.1053/j.gastro.2011.12.061
3. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: 359-386. doi: 10.1002/ijc.29210
4. Gomaa AI, Khan SA, Toledano MB, Waked I, Taylor-Robinson SD. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, risk factors and pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2008; 14:4300-4308.
5. Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK, Dierkhising RA. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology* 2011;141:1249-1253. doi:10.1053/j.gastro.2011.06.061
6. Torres DM, Williams CD, Harrison SA. Features, diagnosis, and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:837-858. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2012.03.011>
7. Hassan K, Bhalla V, El Regal ME, HH AK. Nonalcoholic fatty liver disease: a comprehensive review of a growing epidemic. *World J Gastroenterol* 2014;20:12082-12101. doi: 10.3748/wjg.v20.i34.12082
8. European Association for the Study of the Liver. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56:908-943. doi: 10.1016/j.jhep.2011.12.001
9. Edmondson HA, Steiner PE. Primary carcinoma of the liver: a study of 100 cases among 48,900 necropsies. *Cancer* 1954; 7:462-503.
10. Gonzalez SA, Keeffe EB. Diagnosis of hepatocellular carcinoma: role of tumor markers and liver biopsy. *Clin Liver Dis* 2011; 15:297-306. doi:10.1016/j.cld.2011.03.012
11. Maida M, Orlando E, Camma C, Cabibbo G. Staging systems of hepatocellular carcinoma: a review of literature. *World J Gastroenterol* 2014; 20:414-4150. doi: 10.3748/wjg.v20.i15.4141
12. Yang JD, Roberts LR. Hepatocellular carcinoma: A global view. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010;7:448-458. doi: 10.1038/nrgastro.2010.100
13. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 2011;365:1118-27. doi: DOI: 10.1056/NEJMra1001683
14. Forner A, Gilibert M, Bruix J, Raoul JL. Treatment of intermediate-stage hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2014;11:525-535. doi: 10.1038/nrclinonc.2014.122

15. Mazzanti R, Arena U, Tassi R. Hepatocellular carcinoma: Where are we? *World J Exp Med* 2016; 6:21-36. doi: 10.5493/wjem.v6.i1.21
16. Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2017; 389:56-66. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/>
17. Garvey WT, Mechanick JI, Brett EM, Garber AJ, Hurley DL, Jastreboff AM, et al. American association of clinical endocrinologists and american college of endocrinology comprehensive clinical practice guidelines for medical care of patients with obesity. *Endocr Pract* 2016;22:1-203. doi: 10.4158/EP161365.GL
18. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:274-285. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x
19. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterol* 2012;142:1592-1609. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.001>
20. Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47:2-6. doi: 10.1097/MCG.0b013e3182872f29
21. Keng VW, Largaespada DA, Villanueva A. Why men are at higher risk for hepatocellular carcinoma? *J Hepatol* 2012;57:453-454. doi: 10.1016/j.jhep.2012.03.004.
22. Raphe R, Duca W, Arroyo P, Silva RC, Silva RF. Hepatocellular Carcinoma: Risk Factors, Diagnosis, Staging and Treatment in a Referral Centre. *Journal of Cancer Therapy* 2013;4:384-393. doi: <http://dx.doi.org/10.4236/jct.2013.42A046>
23. Qari YA, Mosli MH. Epidemiology and clinical features of patients with hepatocellular carcinoma at a tertiary hospital in Jeddah. *Niger J Clin Pract* 2017;20:43-47. doi: 10.4103/1119-3077.180062
24. Paranagua-Vezozzo DC, Ono SK, Alvarado-Mora MV, Farias AQ, Cunha-Silva M, Franca JI, et al. Epidemiology of HCC in Brazil: incidence and risk factors in a ten-year cohort. *Ann Hepatol* 2014;13:386-393.
25. Carrilho FJ, Kikuchi L, Branco F, Goncalves CS, Mattos AA. Clinical and epidemiological aspects of hepatocellular carcinoma in Brazil. *Clinics* 2010; 65:1285-1290. doi:10.1590/S1807-59322010001200010
26. Alacacioglu A, Somali I, Simsek I, Astarcioglu I, Ozkan M, Camci C, et al. Epidemiology and survival of hepatocellular carcinoma in Turkey: outcome of multicenter study. *Jpn J Clin Oncol* 2008; 38:683-688. doi:10.1093/jjco/hyn082
27. Boussouar S, Itti E, Lin SJ, Decaens T, Evangelista E, Chiaradia M, et al. Functional imaging of hepatocellular carcinoma using diffusion-weighted MRI and (18)F-FDG PET/CT in patients on waiting-list for liver transplantation. *Cancer Imaging* 2016;16:4. doi:

10.1186/s40644-016-0062-8

28. El-Serag HB, Kanwal F. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in the United States: where are we? Where do we go? *Hepatology* 2014;60:1767-1775. doi: 10.1002/hep.27222

29. Gao C, Yao SK. Diabetes mellitus: a "true" independent risk factor for hepatocellular carcinoma? *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8:465-73.

30. Tunissiolli NM, Castanhole-Nunes MMU, Biselli-Chicote PM, Pavarino EC, da Silva RF, da Silva RC, et al. Hepatocellular Carcinoma: a Comprehensive Review of Biomarkers, Clinical Aspects, and Therapy. *Asian Pac J Cancer Prev* 2017;18:863-872. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.4.863

31. Somboon K, Siramolpiwat S, Vilaichone RK. Epidemiology and survival of hepatocellular carcinoma in the central region of Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:3567-3570. doi: <http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.8.3567>

32. Waller LP, Deshpande V, Pysopoulos N. Hepatocellular carcinoma: A comprehensive review. *World J Hepatol* 2015;7:2648-2663. doi: 10.4254/wjh.v7.i26.2648

33. Wang X, Li J, Riaz DR, Shi G, Liu C, Dai Y. Outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12:394-402. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2013.09.023>

34. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology* 2004;127(5 Suppl 1):S35-50.

35. Balogh J, Victor D, 3rd, Asham EH, Burroughs SG, Bektour M, Saharia A, et al. Hepatocellular carcinoma: a review. *J Hepatocell Carcinoma* 2016; 3:41-53.doi: [dx.doi.org/10.2147/JHC.S61146](http://dx.doi.org/10.2147/JHC.S61146)

36. Malik SM, Gupte PA, de Vera ME, Ahmad J. Liver transplantation in patients with nonalcoholic steatohepatitis-related hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7:800-806. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02590.x

37. Bonin-Guillaume S, Herrmann FR, Boillat D, Szanto I, Michel JP, Rohner-Jeanrenaud F, et al. Insulinemia and leptinemia in geriatric patients: markers of the metabolic syndrome or of undernutrition? *Diabetes Metab* 2006; 32:236-243. doi:

38. Kim D, Kim WR, Kim HJ, Therneau TM. Association between noninvasive fibrosis markers and mortality among adults with nonalcoholic fatty liver disease in the United States. *Hepatology*. 2013;57(4):1357-65.

39. Henriksen JH, Moller S. Liver cirrhosis and arterial hypertension. *World J Gastroenterol* 2006; 12:678-685.

40. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002;123:134-40.

41. 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.

- Gastroenterol 2005; 129:113-121. doi:10.1053/j.gastro.2005.04.014
42. Sass DA, Chang P, Chopra KB. Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical review. *Dig Dis Sci* 2005; 50:171-180. doi: 10.1007/s10620-005-1267-z
43. Welzel TM, Graubard BI, Zeuzem S, El-Serag HB, Davila JA, McGlynn KA. Metabolic syndrome increases the risk of primary liver cancer in the United States: a study in the SEER-Medicare database. *Hepatology* 2011;54:463-471. doi: 10.1002/hep.24397.
44. Reisin E, Alpert MA. Definition of the metabolic syndrome: current proposals and controversies. *Am J Med Sci* 2005;330:269-272.
45. Paschos P, Paletas K. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia* 2009;13:9-19.
46. Lee JS, Kim SH, Jun DW, Han JH, Jang EC, Park JY, et al. Clinical implications of fatty pancreas: correlations between fatty pancreas and metabolic syndrome. *World J Gastroenterol* 2009; 15:1869-1875. doi: 10.3748/wjg.15.1869
47. Wu WC, Wang CY. Association between non-alcoholic fatty pancreatic disease (NAFPD) and the metabolic syndrome: case-control retrospective study. *Cardiovasc Diabetol* 2013;12:77. doi: 10.1186/1475-2840-12-77
48. Adams LA, Harmsen S, St Sauver JL, Charatchoenwittaya P, Enders FB, Therneau T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease increases risk of death among patients with diabetes: a community-based cohort study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:1567-1573. doi: 10.1038/ajg.2010.18.
49. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Multiple hits, including oxidative stress, as pathogenesis and treatment target in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci*. 2013;14:20704-20728. doi: 10.3390/ijms141020704
50. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD). *Metabolism* 2016;65:1038-1048.doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2015.12.012>
51. Testino G, Leone S, Borro P. Alcohol and hepatocellular carcinoma: a review and a point of view. *World J Gastroenterol* 2014; 20:15943-15954. doi: 10.3748/wjg.v20.i43.15943
52. Varela M, Reig M, de la Mata M, Matilla A, Bustamante J, Pascual S, et al. Treatment approach of hepatocellular carcinoma in Spain. Analysis of 705 patients from 62 centers. *Med Clin (Barc)* 2010;134:569-576. doi: 10.1016/j.medcli.2009.10.042
53. Thomson SJ, Westlake S, Rahman TM, Cowan ML, Majeed A, Maxwell JD, et al. Chronic liver disease--an increasing problem: a study of hospital admission and mortality rates in England, 1979-2005, with particular reference to alcoholic liver disease. *Alcohol* 2008;43:416-422. doi: 10.1093/alcalc/agn020
54. Green MA, Strong M, Conway L, Maheswaran R. Trends in alcohol-related admissions to hospital by age, sex and socioeconomic deprivation in England, 2002/03 to 2013/14. *BMC Public Health* 2017; 17:412. doi: 10.1186/s12889-017-4265-0

55. Fassio E, Diaz S, Santa C, Reig ME, Martinez Artola Y, Alves de Mattos A, et al. Etiology of hepatocellular carcinoma in Latin America: a prospective, multicenter, international study. *Ann Hepatol*. 2010;9(1):63-9.
56. Kirchner G, Kirovski G, Hebestreit A, Scholmerich J, Schlitt HJ, Stoeltzing O, et al. Epidemiology and survival of patients with hepatocellular carcinoma in Southern Germany. *Int J Clin Exp Med* 2010; 3:169-179.
57. Lok AS, Sterling RK, Everhart JE, Wright EC, Hoefs JC, Di Bisceglie AM, et al. Des-gamma-carboxy prothrombin and alpha-fetoprotein as biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2010;138:493-502. Doi : 10.1053/j.gastro.2009.10.031
58. Morimoto M, Numata K, Nozaki A, Kondo M, Moriya S, Taguri M, et al. Novel Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein: a biomarker of hepatocellular carcinoma recurrence in patients with low alpha-fetoprotein concentrations. *Int J Clin Oncol* 2012;17:373-379. doi: DOI 10.1007/s10147-011-0306-3
59. Tamura S, Kato T, Berho M, Misiakos EP, O'Brien C, Reddy KR, et al. Impact of histological grade of hepatocellular carcinoma on the outcome of liver transplantation. *Arch Surg* 2001;136: 25-30.
60. 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;239:150-159. doi: 10.1097/01.sla.0000109146.72827.76
61. Chiu JH, Wu LH, Kao HL, Chang HM, Tsay SH, Loong CC, et al. Can determination of the proliferative capacity of the nontumor portion predict the risk of tumor recurrence in the liver remnant after resection of human hepatocellular carcinoma? *Hepatology* 1993;18:96-102.
62. Bina Possatto M, de Ataíde EC, Fazzio Escanhoela CA, Seva-Pereira T, de Cassia Martins Alves da Silva R, Felício H, et al. Factors Related to Hepatocellular Carcinoma Recurrence After Liver Transplantation-A Brazilian Multicenter Study. *Transplant Proc* 2017; 49:863-866. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2017.01.055
63. Franca AV, Elias Junior J, Lima BL, Martinelli AL, Carrilho FJ. Diagnosis, staging and treatment of hepatocellular carcinoma. *Braz J Med Biol Res* 2004; 37:1689-1705.
64. Llovet JM, Bruix J, Fuster J, Castells A, Garcia-Valdecasas JC, Grande L, et al. Liver transplantation for small hepatocellular carcinoma: the tumor-node-metastasis classification does not have prognostic power. *Hepatology* 1998; 27:1572-1577. doi:10.1002/hep.510270616
65. Pappiordanou F, Ribeiro M, Saad W. Prevention of hepatocellular carcinoma. *Arq Bras Cir Dig* 2009;22 :115-119.

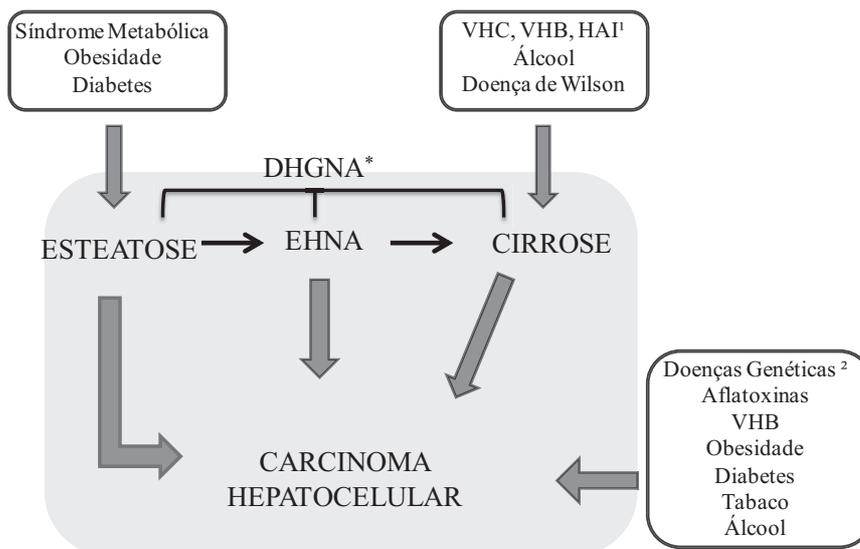


Figura1. Fatores de risco no desenvolvimento das etapas do Carcinoma Hepatocelular. Tunissioli et al. Hepatocellular Carcinoma: a Comprehensive Review of Biomarkers, Clinical Aspects, and Therapy, 2017. EHNA (Esteato-hepatite não alcoólica), VHC (Vírus Hepatite C), VHB (Vírus Hepatite B), <sup>1</sup>HAI (Hepatite Auto Imune), <sup>2</sup> Doenças Genéticas: Hemocromatose, Deficiência de alfa-1-antitripsina, tirosinemia e porfiria. \* O Spectrum DHGNA: Esteatose, EHNA e Cirrose.

### Curva de Sobrevida

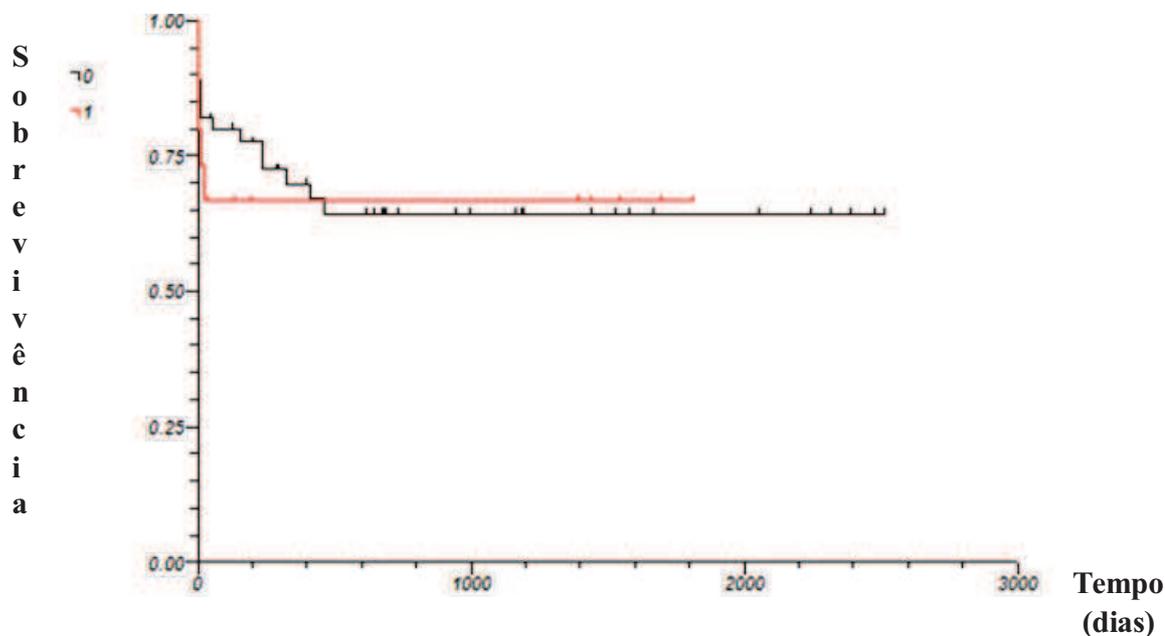


Figura 2. Sobrevida em pacientes submetidos a transplante de fígado por CHC, de acordo com a presença e ausência de DHGNA através do método de Kaplan-Meier. A sobrevida foi definida como o tempo desde o transplante até a data da última consulta ou óbito. São José do Rio Preto/ SP, 2010 a 2016.

Tabela 1. Distribuição dos pacientes de acordo com os aspectos clínicos e epidemiológicos (n= 60).

<b>Variáveis</b>		
<b>Gênero (n,%)</b>		
Homem	48	80%
Mulher	12	20%
<b>Idade (média, desvio padrão)</b>		
Homem	57,3	10,4
Mulher	62	10,6
<b>Tabagismo (n,%)</b>		
Sim	25	55,5%
Não	20	44,5%
<b>Etiologia da Doença Hepática Crônica (n,%)</b>		
VHB	12	20%
VHC	34	56,6%
DHA	26	50,9%
VHC+ DHA	12	20%
DHGNA	15	25%
HAI	1	1,6%
Hemocromatose	1	1,6%
<b>Comorbidade (n,%)</b>		
Diabetes	24	40%

Tabela 2. Distribuição dos pacientes de acordo com a diferenciação histológica e a classificação de Edmondson-Steiner (n=53).

<b>Classificação de Edmondson Steiner</b>	<b>(n)</b>	<b>total</b>	<b>(%)</b>
<b>Grau I</b>	1		
<b>Grau I/II</b>	5	31 ≤ II	58,50%
<b>Grau II</b>	25		
<b>Grau I,II,III</b>	2		
<b>Grau II/III</b>	17	22 ≥ III	41,50%
<b>Grau III</b>	2		
<b>Grau II/III/IV</b>	1		

Tabela 3. Componentes considerados para classificação de Síndrome Metabólica e utilizados no diagnóstico de DHGNA (Adaptado de Einhorn D et al, Position statement on the insulin resistance syndrome, 2003; EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease, 2016).

<b>Componentes</b>	<b>Níveis de Referência</b>	<b>Pacientes diagnosticados c/ DHGNA (n=8) Média ± DP</b>	<b>Pacientes sem diagnóstico prévio de DHGNA (n=7) Média ± DP</b>
<b>IMC</b>	≥ 25 kg/m <sup>2</sup>	29,3 ± 3,7	31,5 ± 3,8
<b>Triglicérides</b>	>150 mg/dL	76,7 ± 28,4	105,8 ± 53,5
<b>HDL Colesterol</b>		45,5 ± 13,8	47,5 ± 17,8
Homens	<40mg/dL		
Mulheres	<50 mg/dL		
<b>Pressão arterial</b>	≥130mmHg ou ≥85mmHg / tratamento para HAS	(-)	(-)
<b>Glicemia jejum</b>	>100mg/dL / tratamento para DM2	131,5 ± 72	128,2 ± 46,1

DHGNA (Doença hepática gordurosa não alcoólica), DM2 (Diabetes melitus tipo 2), DP (Desvio padrão), HAS (Hipertensão arterial sistêmica), HDL (High density lipoprotein), IMC (Índice de massa corporal).

## 4. CONCLUSÕES

#### 4. CONCLUSÕES

Na revisão de literatura conclui-se que:

- O Carcinoma hepatocelular (CHC) envolve multifatores de risco, como: cirrose, infecção pelo vírus da hepatite B e C (VHB e VHC), consumo excessivo de álcool, fatores genéticos, tabaco, síndrome metabólica, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), entre outros;
- Existem alguns tipos de tratamentos considerados curativos: ressecção cirúrgica, transplante e ablação e outros paliativos, tais como quimioembolização e Sorafenib;
- Novos biomarcadores com maior sensibilidade e especificidade estão sendo estudados em CHC, entre eles: GP73, GPC3, OPN e microRNAs;

No estudo retrospectivo, descritivo e transversal, conclui-se que:

- Quanto à etiologia e aspectos epidemiológicos: existe predomínio do gênero masculino e acometimento na 5ª década de vida. A maioria dos pacientes envolvidos no estudo reside na região Sudeste do Brasil;
- Quanto aos fatores de risco: a cirrose hepática está presente em todos os pacientes estudados. A infecção pelo VHC é a mais frequente, seguido pela doença hepática alcoólica (DHA) e DHGNA nos casos de CHC;
- Quanto ao diagnóstico: a dosagem dos níveis de alfa-fetoproteína não é eficaz. Em relação à classificação histológica de Edmondson-Steiner o grau  $\leq$  II é o mais frequente;
- Quanto à DHGNA: apresenta alta prevalência na amostra estudada, com diagnóstico subestimado pré-transplante, principalmente pelo fato de todos os pacientes apresentarem cirrose, mascarando os sinais de DHGNA.

## 5. REFERÊNCIAS

---

## 5. REFERÊNCIAS

- 1 - Conte VP. Hepatocellular carcinoma. Part 1. General considerations and diagnosis. *Arquivos de Gastroenterologia*. 2000;37(1):58-68.
- 2 - Venook AP, Papandreou C, Furuse J, Ladron de Guevara L. The Incidence and Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma: A Global and Regional Perspective. *Oncologist*. 2010;15:5-13.
- 3-Zhang Y-L, Zhang Y-C, Han W, Li Y-M, Wang G-N, Yuan S, et al. Effect of GP73 silencing on proliferation and apoptosis in hepatocellular cancer. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(32):11287-96.
- 4-Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, et al. Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology*. 2012;56(1):167-75.
- 5-Fassio E, Diaz S, Santa C, Reig ME, Martinez Artola Y, Alves de Mattos A, et al. Etiology of hepatocellular carcinoma in Latin America: a prospective, multicenter, international study. *Ann Hepatol*. 2010;9(1):63-9.
- 6- Beasley RP. Hepatitis-b virus as the etiologic agent in hepatocellular-carcinoma - epidemiologic considerations. *Hepatology*. 1982;2(2):S21-S6.
- 7- Kwon SY, Lee CH. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. *Korean J Hepatol*. 2011;17(2):87-95.
- 8-London WT. Primary hepatocellular-carcinoma - etiology, pathogenesis, and prevention. *Human Pathology*. 1981;12(12):1085-97.
- 9 - Yu MC, Yuan JM. Environmental factors and risk for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127(5):S72-S8.
- 10 -Yu D, Green B, Marrone A, Guo Y, Kadlubar S, Lin D, et al. Suppression of CYP2C9 by MicroRNA hsa-miR-128-3p in Human Liver Cells and Association with Hepatocellular Carcinoma. *Scientific Reports*. 2015;5.
- 11 - Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK, Dierkhising RA. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology*. 2011;141(4):1249-53.
- 12 -Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Qjm*. 2010;103(2):71-83.
- 13 -Paranagua-Vezozzo DC, Ono SK, Alvarado-Mora MV, Farias AQ, Cunha-Silva M, Franca JI, et al. Epidemiology of HCC in Brazil: incidence and risk factors in a ten-year cohort. *Ann Hepatol*. 2014;13(4):386-93.
- 14 - Bonin-Guillaume S, Herrmann FR, Boillat D, Szanto I, Michel JP, Rohner-Jeanrenaud F, et al. Insulinemia and leptinemia in geriatric patients: markers of the metabolic syndrome

- or of undernutrition? *Diabetes Metab.* 2006;32(3):236-43.
- 15- Malik SM, Gupte PA, de Vera ME, Ahmad J. Liver transplantation in patients with nonalcoholic steatohepatitis-related hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7(7):800-6.
- 16-Heyward WL, Bender TR, Kilkenny S, Kline KT, Lanier AP, McMahon BJ, et al. Early detection of primary hepatocellular-carcinoma by screening for alpha-fetoprotein in high-risk families - a case-report. *Lancet.* 1983;2(8360):1161-2.
- 17-Forner A, Reig M, Bruix J. Alpha-fetoprotein for hepatocellular carcinoma diagnosis: the demise of a brilliant star. *Gastroenterology.* 137. United States 2009. p. 26-9.
- 18-Morimoto M, Numata K, Nozaki A, Kondo M, Moriya S, Taguri M, et al. Novel Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein: a biomarker of hepatocellular carcinoma recurrence in patients with low alpha-fetoprotein concentrations. *Int J Clin Oncol.* 2012;17(4):373-9.
- 19-Lok AS, Sterling RK, Everhart JE, Wright EC, Hoefs JC, Di Bisceglie AM, et al. Des-gamma-carboxy prothrombin and alpha-fetoprotein as biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2010;138(2):493-502.
- 20-EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2012;56(4):908-43.
- 21-Edmondson HA, Steiner PE. Primary carcinoma of the liver: a study of 100 cases among 48,900 necropsies. *Cancer.* 1954;7(3):462-503.
- 22-Silva EA, Baptista SA. A morphologic and imunologic study of pathologic findings in hepatoceiular carcinoma. *Acta Med Port.* 1988;5:265-272.
- 23-Gonzalez SA, Keeffe EB. Diagnosis of hepatocellular carcinoma: role of tumor markers and liver biopsy. *Clin Liver Dis.* 2011;15(2):297-306, vii-x.
- 24-Sun H, Zhu MS, Wu WR, Shi XD, Xu LB. Role of anti-angiogenesis therapy in the management of hepatocellular carcinoma: The jury is still out. *World J Hepatol.* 2014;6(12):830-5.
- 25-Song H, Pan J, Liu Y, Wen H, Wang L, Cui J, et al. Increased ARPP-19 Expression Is Associated with Hepatocellular Carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences.* 2015;16(1):178-92.
- 26-Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2017;389(10064):56-66.
- 27-Maida M, Orlando E, Camma C, Cabibbo G. Staging systems of hepatocellular carcinoma: a review of literature. *World J Gastroenterol.* 2014;20(15):4141-50.
- 28-Mazzanti R, Arena U, Tassi R. Hepatocellular carcinoma: Where are we? *World J Exp Med.* 2016;6(1):21-36.

- 28-Yang JD, Roberts LR. Hepatocellular carcinoma: A global view. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010;7(8):448-58.
- 29-Kumar M, Panda D. Role of supportive care for terminal stage hepatocellular carcinoma. *J Clin Exp Hepatol.* 2014;4(Suppl 3):S130-9.
- 30 -Sherman M. Alphafetoprotein: an obituary. *J Hepatol.* 34. Netherlands2001. p. 603-5.
- 31- Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004;116(2):281-97.
- 32- Ba MC, Long H, Tang YQ, Cui SZ. GP73 expression and its significance in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a review. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012;5(9):874-81.
- 33-Feng M, Ho M. Glypican-3 antibodies: a new therapeutic target for liver cancer. *FEBS Lett.* 2014;588(2):377-82.

## 6. ANEXOS

## ANEXO A- Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

